

Title	多様な変異に対応可能なウイルス検出センサーの開発
Sub Title	Development of biosensors for viral detection capable of responding to various mutations
Author	松原, 輝彦(Matsubara, Teruhiko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2022
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>インフルエンザウイルス (IFV) やコロナウイルス (SARS-CoV-2) は、宿主細胞上の糖鎖に結合して感染することから、多様な糖鎖受容体を電極上に固定化することにより、ウイルスの変異に対応可能なバイオセンサーを開発することを目的とした。</p> <p>まず、IFVおよびSARS-CoV-2を対象とし、ウイルス感染に関わるタンパク質の遺伝子組換え体の発現を行った。さらに動物細胞での高効率発現を目指し、音響波を用いた新規な遺伝子導入法を検討した。またSARS-CoV-2の捕捉を行うため、ファージ提示法による新規の受容体分子の設計を行った。受容体分子を固定化した銀ナノ粒子を用いた複合電極を作成し、ウイルス検出の可能性があることを明らかにした。さらに、中分子量の硫酸化多糖フコイダンの類縁体を化学合成後、SARS-CoV-2のスパイク(S)タンパク質に対する結合活性を評価した。その結果、用いた類縁体1～13の中でも、類縁体10が最も高い結合活性を有することを見出した。さらに、類縁体10が3種類の変異株由来Sタンパク質に対しても高い結合活性を有することを見出し、SARS-CoV-2を検出するための新規糖鎖リガンド (受容体) の創製に成功した。一方、ホウ素濃度を系統的に変化させたダイヤモンド電極を作製し、構造と電気化学特性を評価した。また、これらの電極表面に、分子末端にアルキニル基を有する分子 (リンカー分子) の表面修飾条件を検討した。いずれの電極においても、リンカー分子は最密充填となる密度で修飾されていることを確認した。したがって、異なる電気化学活性をもち、かつウイルスを認識する糖鎖受容体を固定化できるダイヤモンド電極を作製できた。</p> <p>以上、概ね計画通りに進んでおり、次年度以降ではこれらの作製したタンパク質および電極を用いて、センサーの実装を図る。</p> <p>Influenza virus (IFV) and coronavirus (SARS-CoV-2) bind to sugar chains on host cells during the initial step in infection. The purpose of this project is the development of biosensor capable of responding to mutations using various glycan receptors on electrodes. First, we expressed recombinant spike proteins involved in infection in IFV and SARS-CoV-2 and then investigated a novel gene transfer method using acoustic waves to enhance the expression in animal cells. In addition, in order to capture SARS-CoV-2, we designed a novel peptidyl receptors by phage display technology. The peptidyl receptor-immobilized silver nanoparticle was used to make a composite electrode. A series of analogs of sulfated polysaccharide fucoidan were chemically synthesized, the binding ability of these analogs to spike (S) protein of SARS-CoV-2 virus was then investigated. An analog 10 showed the highest binding to S protein between 13 analogs, and furthermore, S protein from mutated virus was recognized by the analog 10. These results indicate that we successfully found a novel glycan ligand (receptor) for detecting SARS-CoV-2. On the other hand, diamond electrodes with various boron concentrations were systematically fabricated and structure and electrochemical properties were evaluated. Surface modification conditions of molecules bearing the terminal alkynyl group (linker molecules) on the diamond electrodes were also investigated. It was confirmed that the linker molecule was modified in a closely packed manner regardless of boron concentrations of the electrode. Therefore, diamond electrodes that have different electrochemical activities was able to fabricate, where glycans recognizing viruses can be immobilized by the click reaction. As mentioned above, this project almost progress as we planned. In the next fiscal year onward, the sensor will be mounted using these proteins and electrodes.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=202100004-20210019

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授	補助額	1,000 千円
	氏名	松原 輝彦	氏名（英語）	Teruhiko Matsubara		
研究課題（日本語）						
多様な変異に対応可能なウイルス検出センサーの開発						
研究課題（英訳）						
Development of biosensors for viral detection capable of responding to various mutations						
研究組織						
氏名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
松原 輝彦 (Teruhiko Matsubara)		理工学部・生命情報学科・准教授				
高橋大介 (Daisuke Takahashi)		理工学部・応用化学科・准教授				
山本崇史 (Takashi Yamamoto)		理工学部・化学科・専任講師				
1. 研究成果実績の概要						
<p>インフルエンザウイルス (IFV) やコロナウイルス (SARS-CoV-2) は、宿主細胞上の糖鎖に結合して感染することから、多様な糖鎖受容体を電極上に固定化することにより、ウイルスの変異に対応可能なバイオセンサーを開発することを目的とした。</p> <p>まず、IFV および SARS-CoV-2 を対象とし、ウイルス感染に関わるタンパク質の遺伝子組換え体の発現を行った。さらに動物細胞での高効率発現を目指し、音響波を用いた新規な遺伝子導入法を検討した。また SARS-CoV-2 の捕捉を行うため、ファージ提示法による新規の受容体分子の設計を行った。受容体分子を固定化した銀ナノ粒子を用いた複合電極を作成し、ウイルス検出の可能性のあることを明らかにした。さらに、中分子量の硫酸化多糖フコイダンの類縁体を化学合成後、SARS-CoV-2 のスパイク(S)タンパク質に対する結合活性を評価した。その結果、用いた類縁体 1~13 の中でも、類縁体 10 が最も高い結合活性を有することを見出した。さらに、類縁体 10 が 3 種類の変異株由来 S タンパク質に対しても高い結合活性を有することを見出し、SARS-CoV-2 を検出するための新規糖鎖リガンド (受容体) の創製に成功した。一方、ホウ素濃度を系統的に変化させたダイヤモンド電極を作製し、構造と電気化学特性を評価した。また、これらの電極表面に、分子末端にアルキニル基を有する分子 (リンカー分子) の表面修飾条件を検討した。いずれの電極においても、リンカー分子は最密充填となる密度で修飾されていることを確認した。したがって、異なる電気化学活性をもち、かつウイルスを認識する糖鎖受容体を固定化できるダイヤモンド電極を作製できた。</p> <p>以上、概ね計画通りに進んでおり、次年度以降ではこれらの作製したタンパク質および電極を用いて、センサーの実装を図る。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>Influenza virus (IFV) and coronavirus (SARS-CoV-2) bind to sugar chains on host cells during the initial step in infection. The purpose of this project is the development of biosensor capable of responding to mutations using various glycan receptors on electrodes. First, we expressed recombinant spike proteins involved in infection in IFV and SARS-CoV-2 and then investigated a novel gene transfer method using acoustic waves to enhance the expression in animal cells. In addition, in order to capture SARS-CoV-2, we designed a novel peptidyl receptors by phage display technology. The peptidyl receptor-immobilized silver nanoparticle was used to make a composite electrode. A series of analogs of sulfated polysaccharide fucoidan were chemically synthesized, the binding ability of these analogs to spike (S) protein of SARS-CoV-2 virus was then investigated. An analog 10 showed the highest binding to S protein between 13 analogs, and furthermore, S protein from mutated virus was recognized by the analog 10. These results indicate that we successfully found a novel glycan ligand (receptor) for detecting SARS-CoV-2. On the other hand, diamond electrodes with various boron concentrations were systematically fabricated and structure and electrochemical properties were evaluated. Surface modification conditions of molecules bearing the terminal alkynyl group (linker molecules) on the diamond electrodes were also investigated. It was confirmed that the linker molecule was modified in a closely packed manner regardless of boron concentrations of the electrode. Therefore, diamond electrodes that have different electrochemical activities was able to fabricate, where glycans recognizing viruses can be immobilized by the click reaction. As mentioned above, this project almost progress as we planned. In the next fiscal year onward, the sensor will be mounted using these proteins and electrodes.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
松原輝彦・佐藤智典	創薬研究者がこれだけは知っておきたい最新のウイルス学	技術情報協会	2021年8月			
S. Tanaka, T. Matsubara, K. Ito, T. Sato	Electrochemical detection of influenza virus using sialic acid-mimic peptide-modified electrode with Ag/Boron/Clay complex	The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021)	2021年12月[Virtual]			
N. Suzuki, T. Matsubara, T. Sato	Phage display selection of SARS-CoV-2 spike glycoprotein-binding peptides	The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021)	2021年12月[Virtual]			
T. Koike, A. Sugimoto, S. Kosono, S. Komaba, Y. Kanno, T. Kitamura, I. Anzai, T. Watanabe, D. Takahashi, K. Toshima	Synthesis of Low-Molecular Weight Fucoidan Derivatives and Their Binding Abilities to SARS-CoV-2 Spike Proteins	RSC Med. Chem.	2021年9月			

小池樹・杉本葵・小藺脩平・駒場澄香・菅野優子・北村貴士・安齋樹・渡辺登喜子・高橋大介・戸嶋一敦	フコイダン類縁体の合成と SARS-CoV-2 スパイクタンパク質に対する結合活性	第 40 回日本糖質学会年会	2021 年 10 月
T. Yamamoto, T. Saitoh, Y. Einaga, S. Nishiyama	Anodic Oxidation of Phenols: A Key Step for the Synthesis of Natural Products	Chem. Rec.	2021 年 9 月
山本崇史・栄長泰明	第 II 編: 合成手法・応用 第 23 章: ダイヤモンド電極を用いた有機電解合成、有機電解合成の新潮流	シーエムシー出版	2021 年 11 月
T. Yamamoto, T. Saitoh, Y. Einaga	Electrosynthesis Using Boron-Doped Diamond Electrode	The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021)	2021 年 12 月 [Virtual]