

アプタマーと抗体によるウイルスを光らせて直接見る技術の開発

(東京農工大院工) ○池袋 一典・浅野 竜太郎・三浦 大明・林 和佳奈

Development of the technology to visualize viruses by luminescence using antibody and aptamer (*Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology*)

○Kazunori Ikebukuro, Ryutaro Asano, Daimei Miura, Wakana Hayashi

Visualization of the viruses in our surroundings should greatly make it easy for us to control SARS-CoV-2 infection and identify its route of infection. However, such a method does not exist.

For visualization, we developed a detection method based on chemiluminescence using the antibody against SARS-CoV-2 (AbCoV) modified with Enzyme A and the aptamer against SARS-CoV-2 (ApCoV) fused with the aptamer which binds to Enzyme B and enhances its activity to generate chemiluminescence¹⁾. In the presence of SARS-CoV-2, both AbCoV and ApCoV bind to the surface of virus and Enzyme A and Enzyme B will be located in proximity in the range of several nanometers to several tens of nanometers when both of them are added to the sample solution. The substrate of Enzyme B is the product of the Enzyme A and therefore, by the addition of the substrate of Enzyme A, a series of reactions occurs and those result in chemiluminescence efficiently.

The detection of 10 dC (digital copies) of SARS-CoV-2 was achieved with the camera of the smartphone. This detection system enables us to perform on-site visualization of many kinds of viruses by exchanging antibody and aptamer against target virus since what we need is just adding the reagent to the viruses. We can expect its wide range of applications.

Keywords : Virus detection; Chemiluminescence; Antibody modified with Enzyme; Aptamer; Proximity

SARS-CoV-2 の感染対策において、ウイルスをその場で高感度検出できれば、感染対策は極めて容易になり、感染経路の同定も大変容易になる。特に感染対策に携わる人々の精神的ストレスは大きく軽減されるはずである。しかし、そのような手法は未だに存在しない。

そこで我々は、酵素 A で標識した抗ウイルス抗体と、酵素 B と結合した抗ウイルスアプタマー（核酸リガンド）とを、ウイルスに添加し、両方がウイルスに結合した場合だけ、化学発光が生じる試薬を開発した。酵素 A と酵素 B が数 nm から数十 nm 程度の距離で近接するので、酵素 A の触媒反応により生じた過酸化水素を、酵素 B がもう一つの基質と反応させる連続反応が効率よく起こり、化学発光が生じる。なお酵素 B は単独では弱い化学発光しか示さないが、アプタマーと結合した時だけ数百倍の発光を示すものを我々が見出して報告したものを用いた。

酵素 A 修飾抗ウイルス抗体、抗ウイルスアプタマー-酵素 B 活性増強アプタマー連結体の二つを、異なる濃度のウイルスを含んだ水溶液に添加し、室温で 15 分間インキュベートした後、両方の酵素の基質を含んだ試薬を添加すると、濃度依存的な化学発光を得ることができた。100 dC (digital copies)/mL から 500 dC/mL のウイルスを検

出することが可能であり、同じ濃度のインフルエンザウイルスに添加してもほとんど化学発光は観察されず、特異的な検出が可能であった。

添加するだけで検出できるので、分離等の作業なしでその場での高感度検出が可能であり、広範な応用が期待できる。

1) G-quadruplex-forming aptamer enhances the peroxidase activity of myoglobin against luminol.

K. Tsukakoshi, Y. Yamagishi, M. Kanazashi, K. Nakama, D. Oshikawa, N. Savory, A. Matsugami, F. Hayashi, J. Lee, T. Saito, K. Sode, K. Khunathai, H. Kuno, K. Ikebukuro, *Nucleic Acids Res.* **2021**, 49(11), 6069-6081.