

未来社会創造事業 探索加速型
「世界一の安全・安心社会の実現」領域
年次報告書(探索研究)

令和元年度 研究開発年次報告書

平成 30 年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：上田 宏]

[(国立大学法人) 東京工業大学科学技術創成研究院・教授]

[研究開発課題名：食中毒から生活者を解放する人工抗体提示細胞]

実施期間：平成 31 年 4 月 1 日～令和 2 年 3 月 31 日

§1. 研究開発実施体制

(1) 上田グループ(東京工業大学)

- ① 研究開発代表者: 上田 宏 (東京工業大学科学技術創成研究院、教授)
- ② 研究項目
 - ・モデル低分子認識パトロール酵母の構築
 - ・腸管出血性大腸菌認識パトロール酵母の構築

(2) 小林グループ(神戸薬科大学)

- ① 主たる共同研究者: 小林 典裕 (神戸薬科大学薬学部、教授)
- ② 研究項目
 - ・腸管出血性大腸菌認識抗体遺伝子のクローニング

(3) 三宅グループ(麻布大学)

- ① 主たる共同研究者: 三宅 司郎 (麻布大学 生命・環境科学部、教授)
- ② 研究項目
 - ・複数の腸管出血性大腸菌認識抗体産生細胞の調製
 - ・クローン化された一本鎖抗体タンパク質の性能確認

§2. 研究開発実施の概要

・ モデル低分子認識パトロール酵母の構築

研究計画に従い、モデル低分子抗原としてオステオカルシンペプチド認識抗体可変領域 (V_H/V_L) あるいはカフェイン認識 V_{HH} ナノ抗体を細胞膜に提示したカフェイン認識パトロール酵母を構築した。これらの酵母を抗原の有無の条件下で一晩培養した後、細胞を破碎しレポーター遺伝子 β ガラクシダーゼの発光基質を加えた結果、オステオカルシンペプチドあるいは飲料中に含まれる濃度域でのカフェイン依存的な信号上昇が得られた。特にカフェイン検出系では人工受容体構造を改良することで、応答の向上と、細胞破碎なしでの蛍光検出にも成功した。

・ 腸管出血性大腸菌認識パトロール酵母の構築

しばしば広域で重篤な食中毒事例が問題となる腸管出血性大腸菌の主要抗原 O157と特異的に反応するマウスモノクローナル抗体の遺伝子を、産生細胞からクローン化し一本鎖抗体とした。その結合能を ELISA により確認した後、パトロール酵母細胞膜に提示した。プロトプラスト化した後 O157 無毒変異株の有無の条件で2時間反応させた所、有意なレポーター活性の上昇が見られた。しかし、大腸菌数が多いと菌体由来の酵素活性も併せて観察されたこと、発光基質を用いた活性測定にあたって細胞破碎が必要であることから社会実装においてはレポーター酵素の変更が望ましいとも考えられた。

発表論文:

- 1) J. Su, H. Ueda, et al. *J. Biosci. Bioeng.* **2019**, *128*, 677-682.
- 2) J. Su, T. Kitaguchi, H. Ueda, et al. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 18189.
- 3) Y. Kanai, Y. Ohmuro-Matsuyama, T. Kitaguchi, H. Ueda, et al., *ACS Sens.* **2020**, *5*, 24-28.