

## COVID-19 の簡易診断の感度を劇的に向上させる濃縮・精製法の開発

配布日時：2021年8月5日14時  
 国立研究開発法人物質・材料研究機構

### 概要

1. 国立研究開発法人物質・材料研究機構（NIMS）は、エジプト肝臓病センター（ELRIAH）と共同で、COVID-19 の簡易診断の感度を劇的に向上させる材料（以下、Smart Cov）を開発し、COVID-19 の簡易抗原検査の感度を従来法に比べて約 10 倍に向上させることに成功しました。SmartCov を用いることで、これまでの簡易抗原検査では見逃していた抗原量の少ない陽性患者も迅速に検出できるようになるため、COVID-19 の早期収束への貢献が期待されます。
2. COVID-19 の検査には現在 PCR 法などの遺伝子検出法が行われていますが、感染してからの日数、採取の仕方、用いる検査薬などの違いによるばらつきも大きいいため偽陰性が出やすく、感度も 60-70%程度と低いのが現状です。また、PCR 検査用の装置が高価なため必ずしも途上国などで簡便に検査を行うことができません。一方、抗原検査は簡便かつ迅速（15-30 分）に検査結果がわかるため世界中どこでも誰でも利用可能ですが、特に鼻腔や咽頭の拭い液を用いる場合にはその低い抗原濃度（ng/mL 以下；ng=10 億分の 1g）ゆえの検出感度の低さが問題となっています。したがって、発生したクラスターの拡大を早期に収束させるためには迅速診断により偽陰性患者による感染拡大を最小限にとどめることが重要となります。

3. そこで今回開発したのが、低濃度の抗原を、目視の抗原検査で陽性が判断できるレベルまで濃縮・精製することができる手法です。用いたのはスマートポリマーと呼ばれる特殊な高分子材料で、温度にตอบสนองして水への溶解性が劇的に変化する性質を有しております。このスマートポリマーを SARS-CoV-2 の抗体に結合させた複合体（Smart Cov）を開発しました。Smart Cov は SARS-CoV-2 の抗原を捕捉した後、温めると水に不溶化して沈殿します。これによって誤診断の要因となる夾雑物質を取り除くと同時に抗原を濃縮することができます。この技術により、最低 50pg/mL 抗原濃度でも陽性ラインを目視できるレベルまで濃縮・精製することに成功しました。

4. 現在、共同研究機関である ELRIAH にて COVID-19 患者のサンプルを用いた Smart Cov 法の検証を計画しており、将来的には偽陰性患者を大幅に減らし感染拡大と重症化を未然に防ぐ新たな診断ツールとして実用化を目指していきます。

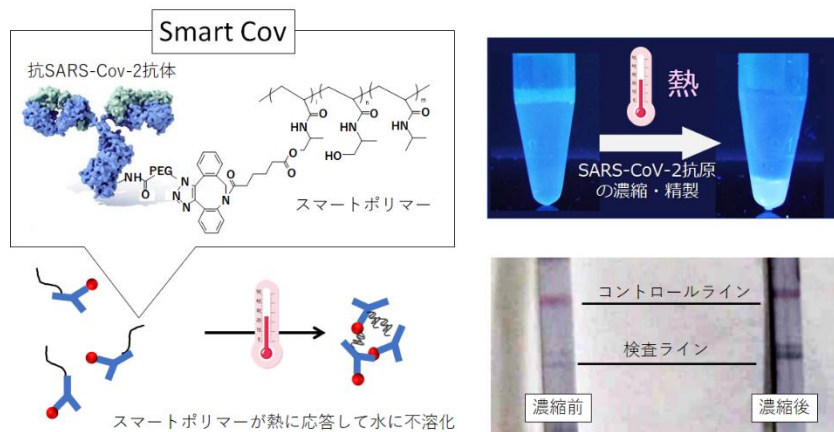


図1. スマートポリマーを用いてSARS-CoV-2の抗原を濃縮することで、COVID-19の簡易診断の感度を向上させる。

5. 本研究は、NIMS 機能性材料研究拠点スマートポリマーグループの荏原充宏（グループリーダー）、Ahmed Nabil（博士研究員）と、ELRIAH の Gamal Shiha（病院長）らの研究チームによって行われました。
6. 本研究成果は、Computational and Structural Biotechnology Journal 誌の 2021 年 6 月 14 日発行号（Vol. 19, Pages 3609-3617）にて掲載されました。また、特許出願済み（出願番号 2021-066984）です。

## 研究の背景

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、2019 年 12 月に確認されて以来世界的に感染拡大し、2020 年 3 月には世界保健機関 (WHO) によってパンデミックが表明されました。それ以来、各国で様々な感染拡大防止措置などの水際対策が進んでいますが、2021 年 6 月現在、感染者数は 1 億 7850 万人以上 (死者数 380 万人以上) と世界中で猛威を振り続けており、来る第 5 波への対応が求められています。特にわが国においては東京オリンピックの開催に伴う感染拡大が懸念されており、早いワクチン接種が望まれますが、発生したクラスターの拡大を早期に収束させるためには、ワクチン接種に加え、迅速な診断により感染者の増加スピードを可能な限り抑制し、重症化への移行や社会・経済へのダメージを最小限にとどめることが重要となります。COVID-19 の診断方法として、ポリマーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction : PCR) を用いた遺伝子検出法が行われていますが、感染したからの日数、採取の仕方、用いる検査薬などの違いによるばらつきも大きいと偽陰性が出やすく、感度も 60-70%程度と低いのが現状です。また、PCR に使用する装置が高価なため必ずしも途上国などで簡便に検査ができません。一方、抗原検査は簡便かつ迅速 (15-30 分) に検査結果がわかるため世界中どこでも誰でも利用可能ですが、特に鼻腔や咽頭の拭い液を用いる場合にはその低い抗原濃度 (<ng/mL) ゆえに検出感度の低さが問題となっております。こうした中、本研究では温度応答性ポリマーを用いることで SARS-CoV-2 の抗原を目視でも陽性が判断できるレベルまで濃縮・精製する技術の開発に成功しました。

## 研究内容と成果

本研究では、COVID-19 診断における偽陰性判定の頻度を大幅に下げることが目的とし、SARS-CoV-2 の抗原である N-protein を濃縮・精製する技術の開発を行いました。図 2 に従来通りの SARS-CoV-2 の簡易診断 (イムノクロマトグラフィ法) の結果を示します。抗原の濃度が 100pg/mL を下回ると、通常の方法では陽性・陰性を目視で判断するのが難しいことがわかります。そこで今回用いたのがスマートポリマーと呼ばれる特殊な高分子材料 (poly(N-isopropylacrylamide-co-2-hydroxyisopropylacrylamide-co-strained alkyne isopropylacrylamide)) で、温度にตอบสนองして水への溶解性 (親水性・疎水性) を劇的に変化させる性質があります。また特殊な官能基 (アルキン基) が導入されています。一方で SARS-CoV-2 の N-protein を補足する抗体には別の官能基 (アジド基) を導入しました。このアルキン基とアジド基はクリック反応と呼ばれる反応によって結合することが知られており、水中に他の夾雑物質が存在しても反応が進行するため生体分子の化学修飾には適した反応です。実際に合成したスマートポリマーを抗体と反応させたところ、尿中や唾液中、血清中、あるいは泥水中などでもちゃんと進行することが確認されました。この複合体を以下 Smart Cov と呼びます。この特殊なポリマーと、SARS-CoV-2 の抗原を補足する抗体に、異なる特殊な官能基 (原子団) をそれぞれ予め導入しておき、クリック反応と呼ばれる反応によって繋いで作った新しい抗体が Smart Cov です。クリック反応は他の夾雑物質に妨害されることなく反応が進行するため、生体分子の化学修飾には適した反応で、実際にスマートポリマーを抗体と反応させたところ、尿中や唾液中、血清中、あるいは泥水中などでも目的の Smart Cov が得られることが確認されました。この Smart Cov を用いて体温付近 (37°C) で 5 分間遠心分離を行い、偽陰性の原因となる夾雑物質の除去を行うと同時に、抗原

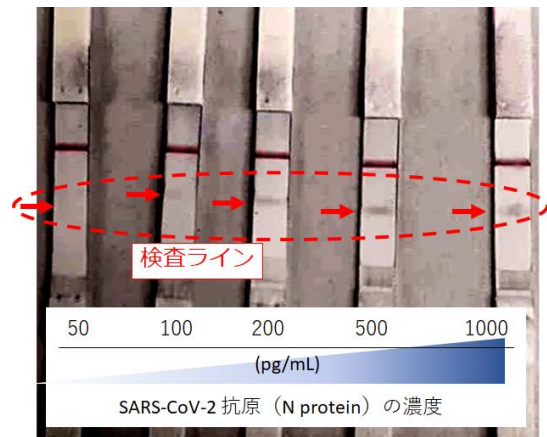


図2. SARS-Cov-2の抗原であるN proteinの濃度、100pg/mLを下回る濃度から検出が困難となる。

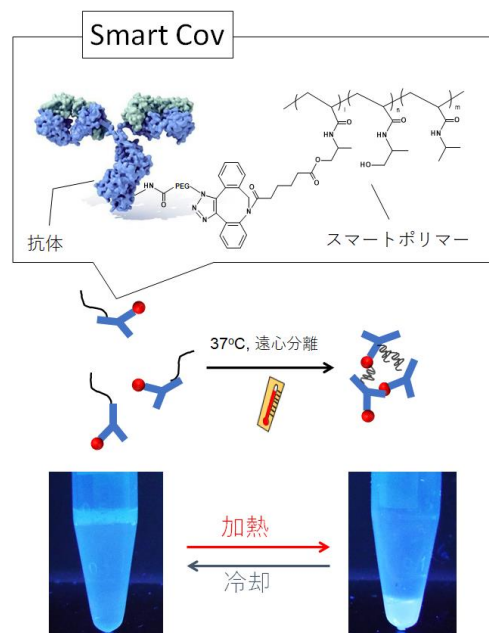


図3. スマートポリマーと SARS-Cov-2 抗原に対する抗体との複合体 (Smart Cov) を用いた熱沈殿。

を6倍程度に濃縮することに成功しました(図3)。この濃縮した抗原についてイムノクロマトグラフィー法を行ったところ、図4に示すように、目視では判断が難しい50pg/mL以下の抗原濃度でも陽性ラインを目視できるようになりました。一般的に、イムノクロマトグラフィー法を用いた抗原検査はPCR法に比べて感度が低く、特に抗原濃度が低い唾液検査には適しません。本研究で開発したSmartCovを用いることで、自宅で30分程度の検査で高感度でSARS-CoV-2の診断が可能となり、偽陰性患者による感染拡大を大幅に抑えることが期待できます。また、SmartCov法は抗原検査のみならず、PRC検査にも適応可能なため、検査薬の種類やサンプル採取法、手技などに依存した感度のばらつきを解消する手段として期待できます。

## 今後の展開

本発表論文では、エジプト肝臓病センター(ELRIAH)のGamal Shiha チームによってCOVID-19患者のレトロスペクティブスタディ(観察的研究)も報告しております。COVID-19が疑われる患者97名に対し、CT検査およびPRC検査(3つのターゲット: ORF-1ab, N, E genes)を実施したところ、14名が偽陰性であることが明らかとなりました。すなわち、ここまで大掛かりに検査を行ったとしても、偽陰性患者によるクラスターの拡大を抑えることが困難なことを示しております。現在、実際のCOVID-19患者のサンプルを用いたSmartCov法の検証を計画しており、自宅で30分程度の検査で高感度・低陰性でSARS-CoV-2の診断が可能なキットの実用化を目指します。

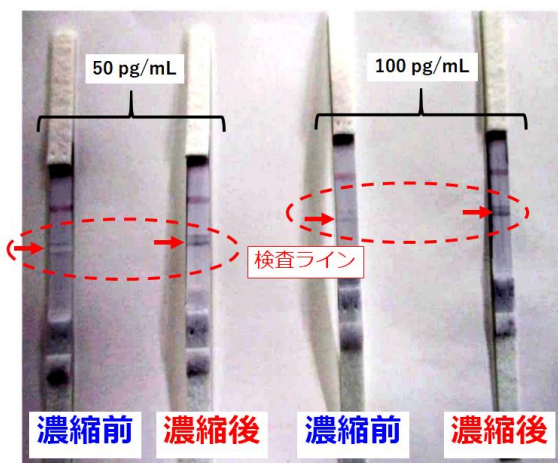


図4. SmartCovを用いてSARS-Cov-2抗原を熱沈殿させた前後の簡易診断(イムノクロマトグラフィー法)結果。

## 掲載論文

題目: Temperature Responsive Polymer for Enabling Affinity Separation and Enrichment of Current Coronavirus (SARS-CoV-2) to Improve its Diagnostic Sensitivity

著者: Ahmed Nabil, Erika Yoshihara, Keita Hironaka, Ayman A. Hassan, Gamal Shiha, Mitsuhiro Ebara

雑誌: Computational and Structural Biotechnology Journal

掲載日時: 2021年6月14日

## 用語解説

### (1) スマートポリマー

熱や光、pH、磁場など、様々な刺激に応答してその性質を変化させる高分子の総称。本研究では、温度応答性ポリマーを使用。

### (2) SARS-CoV-2

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の原因ウイルス(Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2)。

### (3) ヌクレオカプシドタンパク質

コロナウイルスを構成するタンパク質の一つで、遺伝子を包む殻。

### (4) PCR

ポリメラーゼ連鎖反応(Polymerase Chain Reaction)。ウイルスや微生物のDNAやRNAを抽出し特定の領域を大量に増やす方法。

### (5) イムノクロマトグラフィー法

簡易検査(抗原検査)に使われる方法で、妊娠検査などにも利用されている。セルロース膜上に被検体が毛細管現象によって流れ、セルロース膜状上にあらかじめ固定された抗体にトラップすることで検出する方法。

### (6) クリック反応

比較的シンプルな構造の化合物同士を高い反応性と選択性で合成する手法であり、“クリック”という言葉はあたかもシートベルトのバックルがカチッと音を立ててつながるように2つの分子が簡単につながる

ことに由来する。

(7) レトロスペクティブスタディ

疾病の要因と発症の関連を調べるための観察的研究の手法の一つである。後ろ向き研究、症例対照研究（ケース・コントロール・スタディ）ともいわれる。

**本件に関するお問い合わせ先**

（研究内容に関すること）

国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 スマートポリマーグループ  
グループリーダー 荻原充宏（えばらみつひろ）

E-mail: [EBARA.Mitsuhiko@nims.go.jp](mailto:EBARA.Mitsuhiko@nims.go.jp)

TEL: 029-860-4775

URL: <https://www.nims.go.jp/bmc/group/smartbiomaterials/index.html>

（報道・広報に関すること）

国立研究開発法人物質・材料研究機構 経営企画部門 広報室  
〒305-0047 茨城県つくば市千現 1-2-1

TEL: 029-859-2026, FAX: 029-859-2017

E-mail: [pressrelease@ml.nims.go.jp](mailto:pressrelease@ml.nims.go.jp)