

講演番号：3I06-11

質疑応答日時、会場：3月20日 13:00～ ミーティングルーム I

新型コロナウイルスを認識する DNA アプタマーの作製と迅速検出法の構築

Development of a rapid detection system for Covid-19 using DNA-aptamer raised against S-RBD.

○大坪 嘉行、永田 裕二（東北大院生命）

○Yoshiyuki Ohtsubo, Yuji Nagata (Tohoku Univ.)

新型コロナウイルスによって社会は大きな影響を受けた。もし2分程度で新型コロナウイルスを検出可能なシステムを構築できれば、社会的影響を大きく軽減できると期待される。本研究では、新型コロナウイルスを認識する DNA アプタマーの取得と、これを利用して高感度高精度検出系を構築することを目的とした。

コロナウイルス粒子の外側にはS-タンパク質が突き出しており、これにより標的細胞のレセプターに結合する。本研究ではS-タンパク質のレセプター結合ドメインにHis タグを付加したタンパク質をヒト細胞で発現させて精製したS-RBDを用いてアプタマーDNAの取得を行なった。

2つのprimer結合部位がN50よりなるランダム部位を挟み込む形となっているランダムDNAライブラリーを出発材料として、S-RBDを結合させた2種His タグアフィニティ担体を用いて、S-RBDに結合するDNA アプタマーの取得を目指した。結合画分の取得とPCR増幅のサイクルを繰り返したところ、わずかに結合を示すDNA プールを取得した。このDNA プールを用いて、2つのDNA分子をランダムに組み合わせたDNA プールを作製しサイクルを繰り返したところ、ゲルシフトアッセイによりはっきりと結合が確認できるDNA プールを得た。現在、アプタマーDNA分子を多数装荷した分子を作製している。このような分子は強い親和性で新型コロナウイルスと結合して凝集体を形成してコロナウイルス迅速検出系の基盤となることが期待される。

The objective of this study is to develop a rapid method that utilizes DNA aptamer and detects the new corona virus SARS-CoV-2 in two minutes. Starting from a random DNA pool each having a N50 region surrounded by two primer annealing sites, and using His-tagged S-RBD (receptor binding domain of the S-protein) expressed and purified from human 293 cells, we obtained a pool that showed weak binding affinity to S-RBD. By combining two random DNA molecules, and repeating the selection cycles, we obtained a DNA pool that binds to S-RBD. Now, molecules having multiple copies of the DNA aptamer are being constructed, which should strongly bind to DNA aptamer and forms aggregates upon binding to the new corona virus.

SARS-CoV-2, DNA aptamer, detection system

発表責任者：大坪嘉行 (yohtsubo@ige.tohoku.ac.jp)