

光触媒活性 TiO₂ 膜による 変異株を含む新型コロナウイルススパイクタンパク質不活化

[1] 組織

代表者：古泉 隆佑

(東北大学大学院工学研究科)

対応者：小笠原 康悦

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：成島 尚之(東北大学大学院工学研究科)

上田 恭介(東北大学大学院工学研究科)

研究費：物件費 20 万円，旅費 0 円

[2] 研究経過

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)は世界的なパンデミックを引き起こし、世界経済へも大きな影響を及ぼした。SARS-CoV-2 の感染経路として飛沫感染や接触感染が挙げられる。その中でも接触感染はウイルスを含んだ粒子が材料表面に付着し、付着部分を感受性者が触れることを介して感染する。金属やプラスチック等の表面では SARS-CoV-2 は最長 7 日間生存することが明らかとなっている。そのため、咳やくしゃみにより材料表面に SARS-CoV-2 が付着した場合、長期間の感染リスクに晒されることとなる。感染予防のためには、人々の生活の中で手に触れる部分(手すり、ドアノブ)に付着したウイルスを不活化し、感染力を無くす方法が有効である。

TiO₂ は紫外光(UV)照射下で光触媒活性を発現する物質であり、UV 照射下で細菌やエンベロープ型ウイルスを不活化させることが報告されている。TiO₂ の利用範囲拡大には可視光応答化が有力であり、その手法として TiO₂ 中への炭素や窒素の導入が報告されている。我々はこれまでに、チタン表面への炭素、窒素含有 TiO₂ コーティングの作製に成功し、この TiO₂ が可視光照射下で大腸菌に対して抗菌性を発現することを明らかにしてきた(成果資料(2) R. Koizumi et al.: Thin solid films, **780** (2023) 139944.)。

従来のウイルス不活化能の評価は、対象とするウイルスを直接用いたものであり、インフルエンザウイルス等を用いた手法は確立されている。一方、SARS-CoV-2 はバイオセーフティレベル(BSL)3 を有する施設でのみ扱えることから、SARS-CoV-2 を直接

用いたウイルス不活化評価は容易ではない。SARS-CoV-2 は、表面に存在するスパイクタンパク質の受容体結合部位(RBD)と宿主細胞の受容体(ACE2)が結合し、感染する(図 1)。すなわち、RBD を不活化すれば感染を予防できる。そのため、当グループでは、人工合成した RBD とマウス免疫グロブリン(Ig)G2a 定常領域(Fc)との融合タンパク質(RBD-Fc)を用いた抗ウイルス評価法の確立を行ってきた。RBD-FcはBSL1での取り扱いが可能であることから、簡便かつ安全に材料の抗ウイルス性を評価できる。

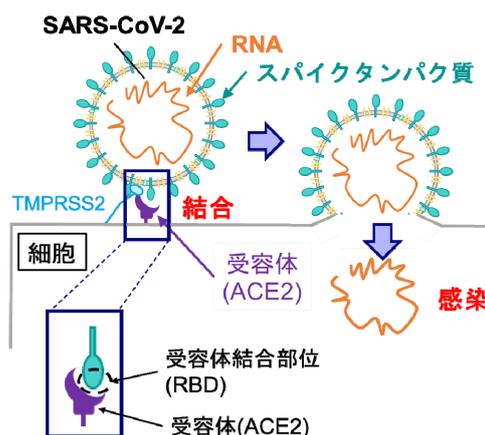


図 1 SARS-CoV-2 の宿主細胞への感染機構

2022 年度までに、RBD-Fc の合成手法は確立できた。加えて、ELISA を用いた溶液中の RBD-Fc 定量方法を確立することができた。一方、TiO₂ コーティング膜上での RBD-Fc 不活化評価に関しては、RBD-Fc の定量性が悪く、不活化能を評価することはできなかった。そこで 2023 年度は、TiO₂ コーティング膜上での安定した不活化定量方法の確立を検討した。

対応者である加齢医学研究所 小笠原教授は、RBD-Fc の人工合成を担当した。古泉、上田および成島は、可視光照射下において光触媒活性を発現する TiO₂ コーティング基板を作製した。TiO₂ コーティング上での RBD 不活化評価は、加齢医学研究所で古泉が実施した。本年度は、1 週間に 2 回程度の実験を遂行した。これに加えて、2 週間に 1 回程度打ち合わせを行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

SARS-CoV-2(武漢株)のRBDを人工遺伝子合成し、遺伝子組換えによりRBD-Fcを作製した。なお、この遺伝子組換え実験は文部科学大臣確認実験となるが、2020年6月に承認済みである。ELISA法を用いたRBD-Fcの定量方法は既に確立済みであるが、使用抗体を変更することでRBD-Fc定量感度および試験方法の簡便性を向上することができた。

TiO₂コーティング膜上でのRBD-Fcの定量においては、従来の試験方法に改良を加えることで、安定した試験方法を確立できた。菌を用いた光触媒活性TiO₂の抗菌性評価方法であるガラス密着法(JIS R 1702)を参考に、RBD-FcのTiO₂コーティング膜への固定、回収方法を検討した。TiO₂コーティング基板にRBD-Fc溶液を滴下し、基板とRBD-Fcを密着させるために、試料表面にカバーガラスを被せた。その後、試料に可視光を照射し、カバーガラスごと基板を回収溶液中に浸漬させた。回収溶液中のRBD-FcはELISA法により定量評価を行った。対照群として、可視光照射を行わず暗所静置した条件を用いた。播種するRBD-Fcの溶媒や濃度、滴下量などを検討し、最適条件を見出すことができた。加えて、可視光照射群では、暗所静置群に比べて有意にRBD-Fc量が減少しており、TiO₂の光触媒活性に由来したRBD-Fcの分解が生じたことを明らかにした。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究で作製した可視光応答性TiO₂コーティング膜は、蛍光灯等の微弱な光源においても抗ウイルス性を発現する期待できる。手摺りやドアノブ等の不特定多数が触るような部材に適用することで、コロナウイルスとの共存を余儀なくされる世界に対して、安心・安全な生活に貢献するものである。

本研究の成果は、現在知財化に向けた検討中であり、企業等との共同研究等への展開が期待される。

[4] 成果資料

- (1) 古泉隆佑, 井越翔太, 上田恭介, 伊藤甲雄, 小笠原康悦, 成島尚之: “新型コロナウイルススパイクタンパク質の不活化評価法の確立,” 日本金属学会2023年春期第172回講演大会, 講演番号123.
- (2) R. Koizumi, K. Ueda, K. Ito, K. Ogasawara, H. Kanetaka, T. Mokudai, T. Narushima: “Visible-light-induced antibacterial activity of carbon and nitrogen co-doped rutile TiO₂ films,” *Thin solid films*, **780** (2023) 139944.
- (3) R. Koizumi, K. Ueda, K. Ito, K. Ogasawara, T. Narushima: “Fabrication of carbon-doped TiO₂ layers via Ti oxidation and evaluation of their antibacterial activity,” *Proceedings of the 15th World Conference on Titanium*, (2023).
- (4) 上田恭介, 成島尚之, 古泉隆佑: “チタンへの抗菌性付与を目指した可視光応答型光触媒TiO₂膜の作製と評価,” *金属*, **94** (2024) 233–238.