

令和3年12月20日  
京都工芸繊維大学広報委員会

## ラマン分光法による新型コロナウイルス変異種同定法を 世界に先駆けて開発

### 1. 発表者：

Giuseppe Pezzotti (ジュゼッペ ペッツォッティ) (京都工芸繊維大学材料化学系 教授)

松田修 (京都府立医科大学大学院医学研究科免疫学 教授)

金村成智 (京都府立医科大学大学院医学研究科歯科口腔科学 病院教授)

### 2. 発表のポイント：

- ▶ 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)変異種およびウイルス株ごとに、驚くほど顕著にラマンスペクトル<sup>(註1)</sup>の相違が得られる最適な解析条件を見出した。さらに、これらのスペクトルをバーコード化し変異種を迅速にパターンニングする手法を確立した。
- ▶ ラマン分光法<sup>(註2)</sup>を用いた変異種のパターンニングは世界初の概念であり、遺伝子配列情報に基づいて同定するPCR法とは異なり、分子構造から直接的に変異種を僅か数分で同定することが可能である。
- ▶ 今後も出現が懸念される新規変異種に対し、効率的かつ迅速に変異種の分子構造を可視化・モデル化することが可能であり、各変異種の感染の分布状況の特定、さらには効果的なワクチンや治療薬開発の加速化に貢献することが期待される。
- ▶ 本成果は、ADVANCED SCIENCE NEWS (<https://www.advancedsciencenews.com/researchers-develop-raman-barcodes-to-keep-track-of-sars-cov-2-variants/>)にも取り上げられるなど注目が集まっている。

### 3. 発表概要：

京都工芸繊維大学の Giuseppe Pezzotti 教授らの研究グループは、京都府立医科大学松田修教授ら、金村成智病院教授らの研究グループと共同で「ラマン分光法による変異種同定法」を開発した。

「ラマン分光法による変異種同定法」は、遺伝子配列情報に基づいて同定する PCR 法とは異なり、ウイルスを構成するアミノ酸残基の情報および分子スケールでの非対称性情報に着目した手法であり、特にそれらの解析結果をバーコード化しパターンニングする方法はこれまでにない全く新しい概念である。

本研究グループは、すでに、新型コロナウイルス変異種の各々が固有で有する分子構造的な特性およびラマンスペクトル解析条件の存在を見出し、かつそれらをバーコード化しパターンニングすることに成功している。

本手法は、遺伝子情報による変異種同定法と比して、より効率的かつ迅速に変異種の分子構造を可視化・モデル化することが可能であり、各変異種の地理的・時間的な感染分布の状況解明、さらには効果的なワクチンや治療薬開発の加速化に貢献することができる。

#### 4. 発表内容：

##### 研究の背景

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の変異種は、スパイクタンパク質<sup>(註③)</sup>とヌクレオカプシドタンパク質<sup>(註④)</sup>の両方に構造上の違いがあることが知られている。これらの変異の機能的な関連性は現在研究が進められているところであるが、すでに、宿主の受容体との親和性、抗体耐性、診断感度に大きな影響を与えることが分かっている。現在のパンデミック下において、ウイルスの拡散を防ぐためには、ウイルス株を現場で迅速かつ正確にパターン化する技術が必要不可欠である。

##### 研究内容

国立感染症研究所から供与を受けた様々な変異種から得られたラマンスペクトル(図1)を、従来種のものと比較したところ、分子振動の様態<sup>(註⑤)</sup>に顕著な相違を示すこと、またこれらの相違は、(i) S-S結合による回転異性体<sup>(註⑥)</sup>、(ii) チロシンフェノール環の疎水性相互作用、(iii) RNA プリン塩基およびピリミジン塩基、(iv) タンパク質の二次構造などが関与していることを見出した。これらの分子レベルでの解析結果とその統計的な検証に基づき、ラマンスペクトルを組合せたバーコードに置換すること(図2)で、簡易かつ迅速に変異種を同定する手法を樹立した。また、本「ラマンバーコード」により、ユーザー(医師や患者等)が迅速かつ容易にアクセス可能な電子情報として管理できる点も強調したい。

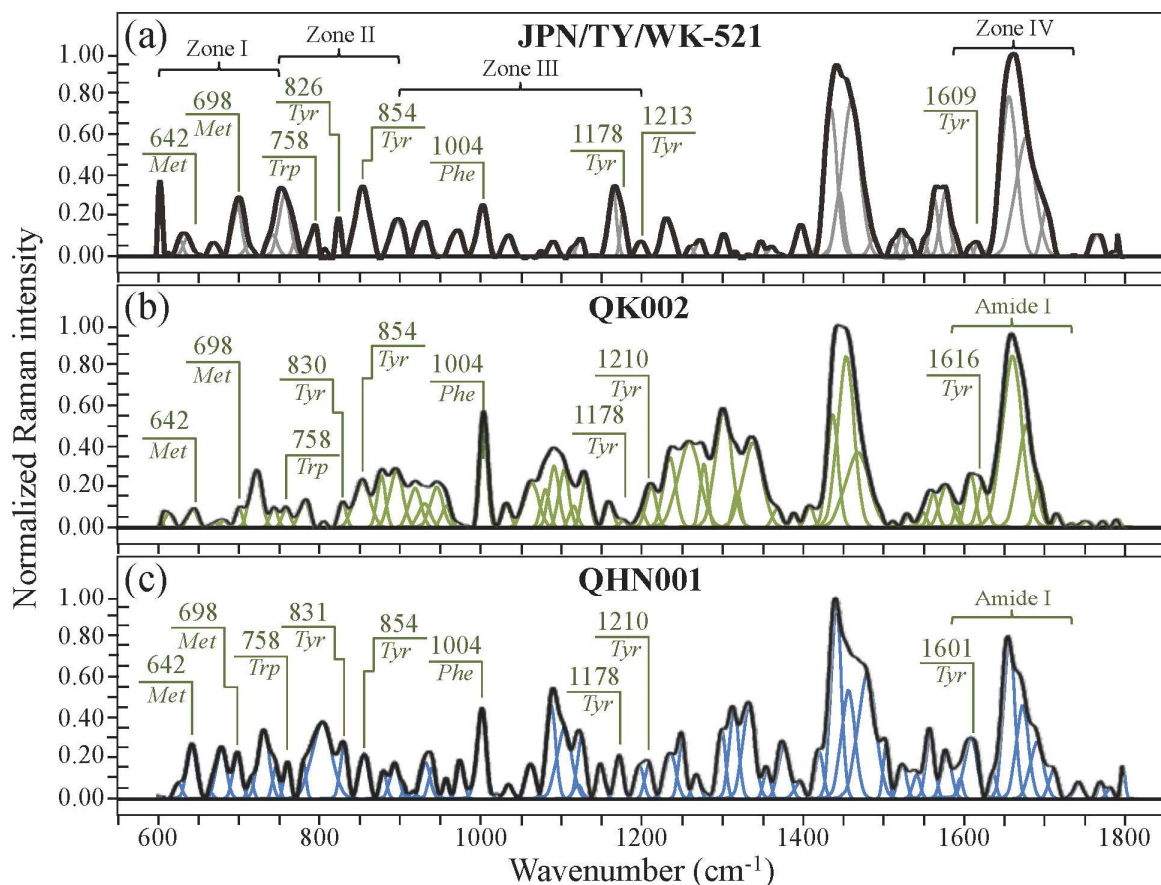


図1. 変異種によるラマンスペクトルの違い

(a) JPN/TY/WK-521 (従来株)、(b) QK002 (α株)、(c) QHN001 (α株)

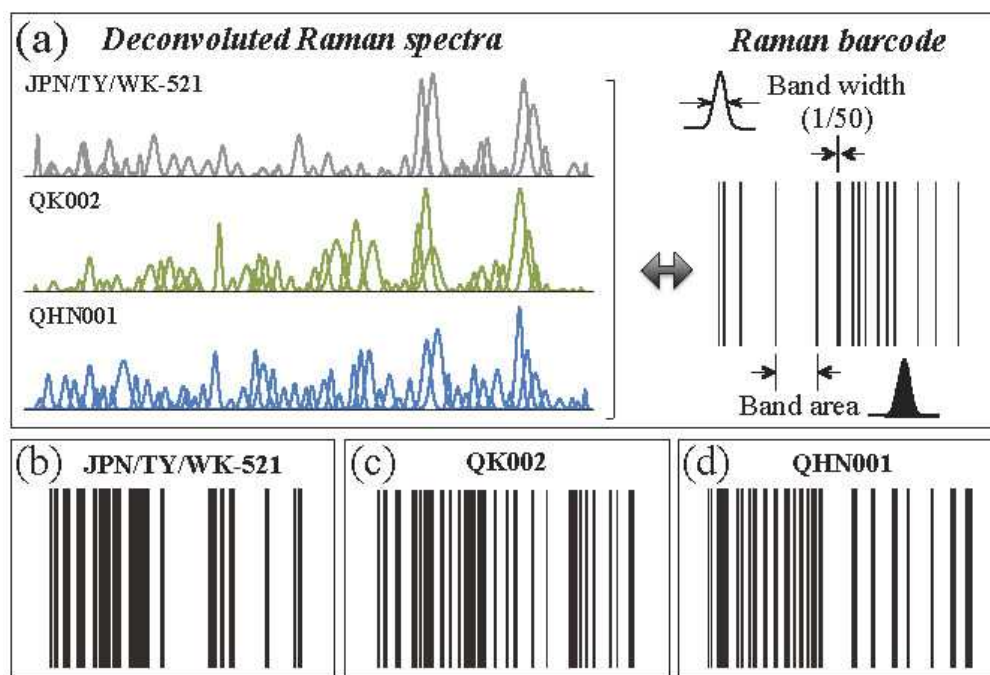


図 2. ラマン分光からバーコードへの変換アルゴリズム

### 今後の展開

ラマン分光法は、ウイルス構造を分子スケールで明確に示すことが可能であり、新型コロナウイルス変異種に関する洞察的情報を迅速に提供することができる。本手法はウイルスが有する分子構造上の特性を高感度かつ迅速に検出するものであり、将来的に臨床サンプルからウイルスを濃縮精製する技術が向上すれば、これまでのPCR検査では実現できなかった「その場で数分以内」での変異種の同定が実現できる可能性がある。

さらに、京都工芸繊維大学のGiuseppe Pezzotti教授らの研究グループが、京都府立医科大学松田修教授ら、金村成智病院教授らの研究グループと特定したラマンスペクトルの解析条件により、変異種が有する分子レベルでの様々な詳細情報（ウイルスタンパク質の異性構造、ウイルス表面のプロトン化条件、タンパク質の二次構造など）を入手することができる。これらの情報は、変異種が部位特異的に示す分子構造上の相互作用に直接関連していることから、ウイルスの形態形成経路を解き明かすと共に、新しいワクチンや医薬品の開発に貢献することが大いに期待される。

### 5. 発表雑誌：

雑誌名：Advanced Science

論文タイトル：Raman molecular fingerprints of SARS-CoV-2 British variant and the concept of *Raman barcode*

著者：G. Pezzotti, F. Boschetto, E. Ohgitani, Y. Fujita, M. Shin-Ya, T. Adachi, T. Yamamoto, N. Kanamura, E. Marin, W. Zhu, I. Nishimura, O. Mazda

DOI 番号： <https://doi.org/10.1002/advs.202103287>

アブストラクト URL： <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202103287>

## **6. 用語解説：**

### **(注1) ラマンスペクトル**

光を照射された物質から、光と物質の相互作用によって入射光とは異なる波長のラマン散乱光が射出する。横軸を波長（波数）、縦軸をシグナル強度として、このシグナルを表現したものがラマンスペクトルである。

### **(注2) ラマン分光法**

ラマン散乱光を計測して、物質の化学結合、分子構造、配向・結晶性、応力・ひずみ、温度、電気特性などを解析評価する分光法。

### **(注3) スパイクタンパク質**

新型コロナウイルスのエンベロープ表面に発現するタンパク質であり、細胞への感染に重要な役割を演じる。スパイクタンパク質に変異が起こると感染力が増強したり中和抗体の効果が減少する可能性がある。

### **(注4) ヌクレオカプシドタンパク質**

ウイルスのゲノム核酸と結合するタンパク質であり、ヌクレオカプシド（タンパク質とウイルスゲノム核酸の複合体）の形成に関わる。新型コロナウイルスではNタンパクがヌクレオカプシドタンパク質である。

### **(注5) 分子振動**

分子の重心は動かさずに各原子が相対的に周期的に行う振動。ラマン散乱は分子振動のエネルギー変化に依存する。

### **(注6) 回転異性体**

立体配座が異なる異性体。配座異性体とも呼ばれる。

## **8. 謝辞**

ウイルス株を御供与下さった国立感染症研究所に謝意を表します。