

V 溝バイオセンサーを用いたノロウイルス様粒子の検出

Detection of Norovirus Virus-Like Particles Using a V-Trench Biosensor

○杉山 勇輝¹, 黒田 千愛¹, 大木 義路^{1,2}, 芦葉 裕樹³, 王 曉民³, 藤巻 真³

(1. 早大先進理工, 2. 早大材研, 3. 産総研)

○Yuki Sugiyama¹, Chiaki Kuroda¹, Yoshimichi Ohki^{1,2},

Hiroki Ashiba³, Xiaomin Wang³, Makoto Fujimaki³

(1. GSASE, Waseda Univ., 2. RIMST, Waseda Univ., 3. AIST)

E-mail: m-fujimakii@aist.go.jp

【はじめに】我々は、表面プラズモン共鳴 (SPR) 励起蛍光増強を手軽かつ安価に使用できる、V 字型断面の検出用マイクロ流路を持つ「V 溝バイオセンサー」を開発してきた^{[1][2]}。今回は、ストークスシフトが大きく、その為励起光の除去が容易で、高い蛍光信号が期待できる量子ドットを蛍光標識として用い、ノロウイルス様粒子 (NoV VLPs) の検出を試みた。

【実験】図 1 にセンサーの測定系を示す。転送行列法により SPR の電場増強度を計算し、励起光を 390 nm とした V 溝バイオセンサーの設計を行った結果、SPR 励起層は、厚さは 19.1 nm のアルミニウム (Al) が最適であることが分かった^[2]。そこで、Al 層表面には自然酸化膜ができることを考慮した上で、Al 層が 19.1 nm となるようスパッタリング法を用いて V 溝が形成されたポリスチレン基板上に Al 膜を堆積した。V 溝の頂角は 52.9° とした。Al 酸化膜上に、ホスホン酸自己組織化単分子膜 (SAM) を修飾し、その上にモノクローナル一次抗体、NoV VLPs、ビオチン化ポリクローナル二次抗体、量子ドット (Qdot® 605 streptavidin conjugate, Life Technologies) を順に反応させ、390 nm の励起光を照射して、605 nm の蛍光の強度を測定した。濃度条件の比較には Welch の t 検定を用いた (有意水準 $p < 0.05$)。

【結果】図 2 に示すように、NoV VLPs 濃度 0–100 ng/ml については、濃度が上がると、蛍光強度が強くなる。とくに、10 ng/ml 以上では 0 ng/ml と比較して蛍光強度は有意に大きく ($p < 0.05$)、NoV VLPs が検出できている。今後は、表面修飾工程を簡略化し、高感度検出を目指す。

【謝辞】一次抗体を提供してくださった藤田保健衛生大学谷口孝喜、守口匡子、NoV VLPs および二次抗体を提供してくださった国立感染症研究所染谷雄一、白土東子の各先生に謝意を表する。本研究は科研費 26246008 の助成を受けた。

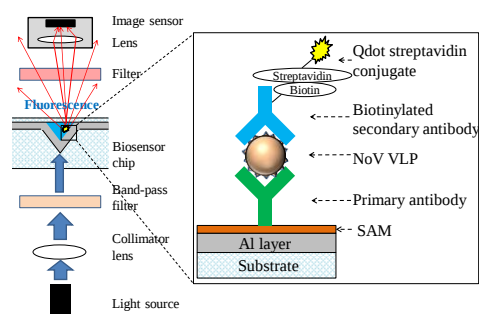


Fig. 1. Detection system of NoV VLPs using a V-trench biosensor.

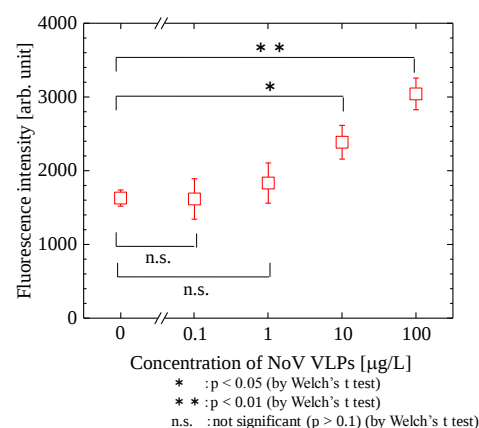


Fig. 2. Fluorescence intensity of the Qdot as a function of concentration of NoV VLPs, measured by the detection system. Error bars show the standard deviation of each data group.