

化学蛍光法によるインフルエンザウイルスの 光ファイバ型免疫測定に関する研究

Fiber-optic chemifluorescent immunoassay for influenza virus

○岸川 知里¹、鈴木 友梨香¹、齋藤 真奈²、宮島 久美子³

當麻 浩司⁴、荒川 貴博⁴、下村 弘治²、三林 浩二^{1,4}

(1. 医科歯科大院、2. 文京学院大、3. 日本学術振興会、4. 医科歯科大生材研)

°Chisato Kishikawa¹, Yurika Suzuki¹, Mana Saito², Kumiko Miyajima³

Koji Toma⁴, Takahiro Arakawa⁴, Hiroji Shimomura², Kohji Mitsubayasi^{1,4}

1. Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental Univ.

2. Bunkyo Gakuin Univ., 3. Japan Society for the Promotion of Science

4. Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental Univ.

E-mail: m.bdi@tmd.ac.jp

【はじめに】

インフルエンザはウイルス感染により発症する急性の呼吸器感染症で、日本では毎年数十～数百万人が罹患している。感染では罹患患者よりウイルスが咳やくしゃみにより大気中に放出され、長時間空気中を浮遊するため、感染予防には浮遊ウイルスを簡便かつ高感度に on-site モニタリングし、その曝露を回避することが有効と考えられる。このウイルス計測では、「浮遊ウイルスの捕集機能」と「捕集されたウイルスの測定機能」が必要であり、本研究では後者について、A 型インフルエンザウイルス H1N1 型の表面タンパク質である「ヘマグルチニン(H1N1-HA)」を対象に、免疫化学蛍光法を用いた測定系の開発を行った。

【実験方法】

本免疫測定法では、検出抗体の標識酵素に西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) を使い、10-acetyl-3,7-dihydroxy-phenoxazine (ADHP) を基質とした際の反応生成物である resorufin (ex: 570 nm, fl: 585 nm) を蛍光検出する (Fig.1a)。構築した光ファイバ型蛍光検出系では、発光ダイオード (LED, 530 nm) からの励起光をバンドパスフィルタ (BPF, 570±10 nm) 及び光ファイバを介して試料溶液に照射し、resorufin からの蛍光を蛍光用 BPF (600 nm±10 nm) を介して、光電子増倍管にて検出した (Fig.1b)。本測定系の H1N1-HA に対する有用性を評価するため、まず捕捉抗体を測定セルに固定化し、抗原 H1N1-HA、HRP 標識検出抗体、蛍光基質 ADHP の順に反応させ、生成物 resorufin を蛍光測定した。また、異なる亜型ウイルス由来の HA を用いて、抗原選択性を調べた。

【結果及び考察】

構築した蛍光検出系を用い H1N1-HA 測定を行なった結果、既存の enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法 (定量範囲: 55-3120 pg/ml) に比して、より高感度な定量 (7.1-780 pg/ml) が可能であった。さらに、異なる亜型ウイルス由来の H3N2-HA からは蛍光出力がほとんど検出されず、抗原抗体反応の特異性に基づく高い選択性が確認できた。今後は、更なる高感度化を図り、浮遊ウイルスの捕集系と組み合わせることで、浮遊ウイルスモニタリングシステムの開発を進める。

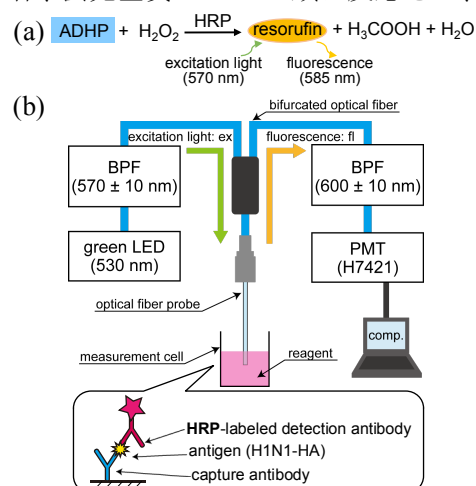


Fig. 1 (a) HRP-mediated enzymatic reaction and (b) a schematic of the fiber-optic chemifluorescent immunosensor.