

外力支援蛍光バイオセンサによるインフルエンザウイルス検出

Detection of influenza virus using an external force-assisted fluorescent biosensor

産総研¹ °安浦 雅人¹, 藤巻 真¹

AIST¹, °M. Yasuura¹, M. Fujimaki¹

E-mail: yasuura-masato@aist.go.jp

筆者らは、磁性粒子と光信号用マーカーで検出対象をサンドイッチすることで「動く光点」を作り出し検出する外力支援型バイオアッセイ技術(external force-assisted bioassay; EFA bioassay)を開発し、照明に近接場を用いる外力支援近接場照明バイオセンサ(EFA-NI biosensor)を発表した^[1]。これまでに、ノロウイルスのウイルス様粒子やインフルエンザウイルスを対象として、1 mL 中に数個～数百個しか含まれない極低濃度でのウイルス検出を実現している。

EFA-NI biosensor では、光信号用マーカーからの散乱光を観測するため、磁性粒子は散乱光が観測できない程度に小さい粒径である。しかし、小粒径の磁性粒子は磁場印加した際の駆動力が弱く、タンパク質などの1粒子に1つの磁性粒子しか付かない検出対象の場合、動かすために強力な磁場印加を必要とした。本研究では、EFA bioassay 技術に蛍光信号を導入し、粒径の大きい磁性粒子を使用可能にすることを試みた。光信号用マーカーに蛍光体を用いることで、粒径の大きい磁性粒子からの散乱光と光信号用マーカーからの光を区別することが可能になる。これを外力支援蛍光バイオセンサ(external force-assisted fluorescent biosensor; EFA-Fluor biosensor)と名付けた。

本研究では、EFA-Fluor biosensor の原理実証としてインフルエンザ A ウイルス(IAV)の核タンパク質(NP)を標的とした清浄環境サンプルでの IAV 検出を行った。検出用試薬として、それぞれ異なる種類の抗 IAV NP 抗体を修飾した粒径 50 nm の磁性ビーズ及び粒径 400 nm の蛍光ビーズを用いた。IAV を含むサンプルをデタージェント入りのバッファーで希釈し、検出用試薬とサンプルを 1:1 で混合、混合液 30 μ l を測定した。ネガティブコントロール(NC)には、ウイルス溶液希釈に使用したバッファーを用いた。サンプル各濃度における 3 回測定の結果、図 1 のように NC では 0.33 ± 0.58 となり、NC の値に 3.29σ を足すことによって検出限界(Limit of detection; LoD)の閾値を求めると、2.23 となった。1 fg/mL で 2.67、10 fg/mL で 3.67、100 fg/mL で 3.67 となっており、1 fg/mL 以上の濃度で EFA-Fluor biosensor による IAV の検出に成功した。

[1] M. Yasuura and M. Fujimaki, *Scientific Reports* **6**:39241 1-7 (2016)

センサチップは、信越化学工業(株)様より提供を受けた。本研究の一部は、JSPS 科研費 17H01048 及び 18H01803 による支援を受けて行った。

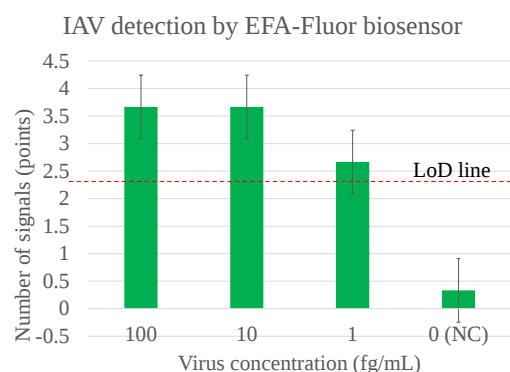


Fig. 1. Number of signals in IAV detection by an EFA-Fluor biosensor. .