

外力支援バイオセンサによる無細胞合成タンパク質検出

Detection of Cell-Free-Synthesized Proteins Using External Force-Assisted Biosensor

産総研¹, 理研², 東大³, [○]芦葉 裕樹¹, 仲屋 友喜¹, 佐藤 洋隆², 岩崎 信太郎^{2,3},

間 陽子^{2,3}, 藤巻 真¹

AIST¹, RIKEN², Univ. of Tokyo³, [○]Hiroki Ashiba¹, Yuki Nakaya¹, Hirotaka Sato², Shintaro Iwasaki^{2,3},

Yoko Aida^{2,3}, Makoto Fujimaki¹ E-mail: h.ashiba@aist.go.jp

ウイルス感染症の脅威を防ぐため、環境中感染性ウイルスの迅速検出技術の確立が重要である。従来、バイオセンサはウイルス粒子の全量は評価できるが、その中の感染性を有するウイルスだけを検知することは不可能であり、感染性ウイルスの評価には数日以上時間を要する細胞感染試験を行う必要があった。そこで我々は、感染性ウイルスを迅速検出できるバイオセンサの研究開発に取り組んだ。ウイルスが「感染可能」であるためには、感染対象の細胞に結合可能であること、細胞内で自己複製させるための酵素およびゲノムを保有することが必要である。本研究ではその中で、ウイルス中の自己複製可能なゲノムを検出・評価することを目指し、ゲノムにコードされたタンパク質を合成できる無細胞合成系と、極めて高感度なバイオセンサである外力支援近接場照明 (EFA-NI) バイオセンサ[1]を用いた検出システムを開発した。ターゲットゲノムを無細胞合成系に導入し、合成されたタンパク質を EFA-NI センサで検出することで、タンパク質合成能を有するゲノムのみを検知することが可能と考えられる。EFA-NI センサのシステム概要図を **Fig. 1** に示す。本研究ではまず、モデル試料として緑色蛍光タンパク質 (GFP) の DNA を用い、抗 GFP 抗体を固定したビーズを用いて合成 GFP を検出した。散乱体ビーズは直径 60 nm の金ナノ粒子、磁気ビーズは直径 50 nm の粒子を、それぞれ濃度 10^6 particles/mL で用いた。無細胞合成系は PUREfrex (ジーンフロンティア社) を用いた。濃度 10^3 molecules/mL の合成 GFP の EFA-NI 検出の様子を **Fig. 2** に示す。散乱体ビーズ-合成 GFP-磁気ビーズの結合体が「移動光点」として検出された。2.3 mm×1.4 mm の観察範囲内の移動光点数は濃度 10^3 molecules/mL の合成 GFP 試料で 6 counts、DNA 導入無しの陰性対照試料で 2 counts であった。合成 GFP 試料で陰性対照試料に対するシグナル増加が観測され、無細胞合成タンパク質の EFA-NI 検出が確認された。

[1] M. Yasuura and M. Fujimaki, Sci. Rep. 6, 29241 (2016).

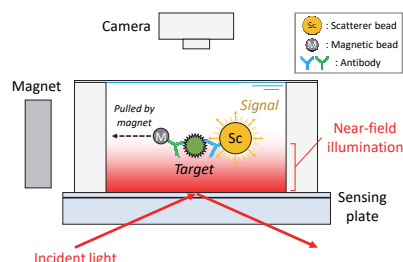


Fig. 1. Schematic diagram of a detection system of EFA-NI biosensor.

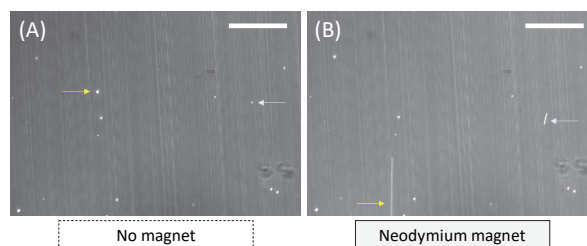


Fig. 2. Observed images of GFP detection. (A) Before and (B) after magnetic force application. Yellow and white arrows indicate moved signals. Scale bar: 100 μ m.