

機械学習と分子認識ナノポアを用いた 1 ウイルス識別

Single-virus identification using biorecognition nanopore

阪大 ○筒井真楠, 有馬彰秀, 吉田剛, 横田一道, 殿村渉, 谷口正輝, 鷺尾隆, 川合知二

東工大 イルファハルリサ, 田中祐圭, 大河内美奈,

Osaka Univ. ○Makusu Tsutsui, Akihide Arima, Takeshi Yoshida, Kazumichi Yokota, Wataru

Tomomura, Masateru Taniguchi, Takashi Washio, Tomoji Kawai

Tokyo Inst. Tech. Ilva Hanun Harlisa, Masayoshi Tanaka, Mina Okochi,

E-mail: tsutsui@sanken.osaka-u.ac.jp

我々の研究グループでは、低アスペクト比ナノポアを用いた 1 粒子解析技術の開発を行ってきている[1-3]。ナノポアセンサは、微細加工技術によって極薄固体メンブレン中に空けられた 1 個の細孔で構成されるものであり、この細孔を 1 個の粒子が通過するたび、当該細孔を通るイオン電流は一時的にブロックされる。この時、イオン電流計測を通して観測されるブロック電流の時間応答波形には、細孔を通過した個々の粒子のサイズ、形状や表面電荷密度といった複数の物理パラメータが反映される。これまでに我々は、機械学習によるパターン解析を応用し、当該電流波形の差異から 1 個のインフルエンザウイルスの型を判定する技術を開発してきた。今回は、新たに固体ナノポアの内壁に特定の細菌ウイルスの表面タンパクと強く相互作用するペプチドプローブを修飾した分子認識ナノポアを開発し、これを用いたインフルエンザウイルスの識別に成功したので、その内容を報告する[4-5]。

シリコンウエハ上に作製した厚さ 40nm の Si_3N_4 メンブレン中に、直径 300nm の 1 個のナノポアを貫通させ、さらにその後、ナノポアの周囲にリング状の Au 薄膜を蒸着させた。このデバイスを、ペプチドプローブを含んだ緩衝液に浸すことで、Au 表面にペプチド分子を修飾させた。このペプチド修飾ナノポアを用いて、インフルエンザウイルスの 1 粒子検出を実施した。

インフルエンザウイルスのヘマグルチニンに対して、より強く吸着するペプチド分子を用いた場合、ウイルス通過時に観測される電流パルス信号のパルス幅がより増大する傾向がみられた。これは、ウイルスがナノポアを通過する過程で、その表面がナノポア壁面のペプチドと一時的に接触・吸着し、その分だけウイルスのポア通過時間が長くなったことを示唆している。講演では、機械学習によるパターン解析を応用したインフルエンザの型判定精度の結果についても報告する。

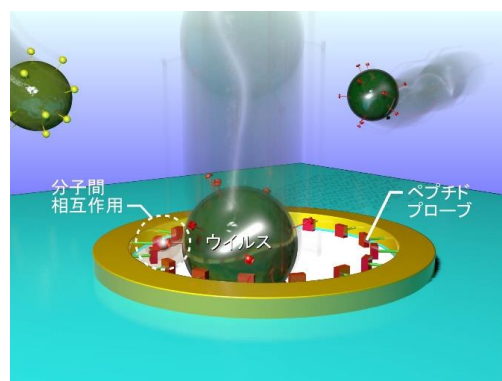


図 1. 分子認識ナノポアの模式図。 Si_3N_4 メンブレン中に Au ナノポアがあり、その表面には、特定のウイルス表面タンパク分子に対して比較的強く吸着するペプチドプローブが、チオール基を介して化学的に修飾されている。ウイルスがこのナノポアを通過する際、壁面のペプチドと接触する場合は、ペプチドとの相互作用の強弱に応じて、ウイルスの通過時間が長くなる。

参考文献：[1] M. Tsutsui et al., ACS Nano 10, 803 (2016); [2] M. Tsutsui et al., ACS Sens. 3, 2693 (2018); A. Arima et al., Sci. Rep. 8, 16305 (2018); [4] M. Tsutsui et al., Anal. Chem. 90, 1511 (2018); [5] A. Arima et al., J. Am. Chem. Soc. 140, 16834 (2018).