

SARS-CoV-2 由来 RNA の高感度検出に向けたプラズモニックバイオセンサ**Plasmonic biosensor for highly sensitive detection of RNA from SARS-CoV-2**徳島大学ポスト LED フォトニクス研究所¹, 徳島大学医歯薬学研究部²○加治佐平¹, 矢野隆章¹, 大塚 邦紘¹, 九十九伸一^{1,2}, 坂根亜由子^{1,2}, 駒貴明², 野間口雅子²,
安友康二^{1,2}, 佐々木卓也², 安井武史¹Inst. Post-LED photonics, Tokushima Univ.¹, Grad. Sch. Medicine, Tokushima Univ.²

E-mail: kajisa.taira@tokushima-u.ac.jp

【緒言】 COVID-19 に代表される新興ウイルス感染症に対応するためには、正確でかつ高感度の検出法を用いて、診断を確定させることが重要である。また、新興ウイルスの発生、および変異に対して、即時に対応できるような検出プラットフォームがあれば、ウイルス感染診断法を早期に普及させることができ、新興ウイルス感染の拡大を防ぐことに貢献できると思われる。現在、新興ウイルス感染の診断には、PCR 法、あるいは抗原抗体法が用いられているが、どの医療施設でも簡便に利用できるまで簡便化しているとは言えない。以上の背景から、新興ウイルス感染に対しても即時にかつ簡便に対応できる高感度検出プラットフォームの確立を目指し、表面プラズモン共鳴(SPR)を主とするプラズモニック技術を用いて、SARS-CoV-2 由来 RNA を非標識かつ高感度に検出することを目的とした。

【方法】 予備実験として、エクソソーム中マイクロ RNA(miRNA)である miR21 配列の相補鎖 DNA(22 bp)を、スパッタした金基板上に固定化した。次に、SARS-CoV-2 由来 RNA 配列に相補な一本鎖 DNA プローブ(20~60 塩基)を固定化した。DNA プローブは、SARS-CoV-2 ゲノム配列より、5'-UTR 領域に特異的配列を設計した。SPR 測定は、DNA 固定化金基板上に、アンチセンス鎖を 1 fM~1 μ M まで溶解した緩衝液を注入し、基板に 1550 nm 近赤外光を照射し、反射強度を測定することで行った。また、金ナノ粒子を懸濁した(平均粒径 30 nm)緩衝液中でも同様の実験を行った。

【結果および考察】 予備実験として miRNA 検出は、10 pM 程度の添加から反射光強度が上昇した。これは、DNA プローブに RNA がハイブリダイズした現象を、エバネッセント場における屈折率変化として観察したものと推察された。一方で、溶液中に金ナノ粒子懸濁緩衝液を用いて測定したところ、1 fM より明確な反射光強度の上昇が観察され、金基板への光照射による SPR に加え、金基板と金ナノ粒子間に生じたギャップモードプラズモンにより、さらなる光増強電場によって、より低濃度の RNA が検出されたと考えられた。最後に、SARS-CoV-2 由来 RNA の検出を行ったところ、20 bp 一本鎖 DNA 固定化金基板において、10 fM より反射光強度変化を確認した。このことから、SPR と金ナノ粒子による光増強効果を用いたプラズモニックバイオセンサにより、SARS-CoV-2 由来 RNA を PCR 鋳型濃度に迫る低濃度領域において、直接かつ短時間に検出できる可能性が示唆された。