テラヘルツ波ケミカル顕微鏡を用いたアプタマーによる SARS-CoV-2 検出技術の開発

Development of SARS-CoV-2 detection technology by aptamers using a terahertz chemical microscope

岡山大学　○辻 紗也佳，丁 雪，村上 真菜，井上 博文，王 璡，堺 健司，紀和 利彦

Okayama Univ. °Sayaka Tsuji, Xue Ding, Mana Murakami, Hirofumi Inoue, Jin Wang, Kenji Sakai, Toshihiko Kiwa

E-mail: proc9afb@s.okayama-u.ac.jp

1.　研究背景

近年，世界中で COVID-19 の感染が広がり，ワクチン接種や行動制限などの感染予防対策が講じられたにも関わらず，その感染力の強さや新種株の出現などにより，感染が収束しない．感染確認には，PCR 検査や抗原検査が用いられている．PCR 検査では高精度の検査が可能だが，遺伝子を増殖させるため検査に数時間かかる．抗原検査は迅速で簡便であるが，PCR 検査に比べて精度が劣る．そのため，高精度かつ迅速・簡便な検査技術の開発が求められる．そこで本研究では，テラヘルツ波ケミカル顕微鏡（TCM）による，SARS-CoV-2 の検出を試みたので報告する．

2.　実験方法

本研究で用いた測定装置の TCM について説明する．TCM では，サファイア基板上の Si 薄膜と SiO_2 薄膜で構成されるセンシングプレートと呼ぶ検出プレートにより SARS-CoV-2 ヌクレオカプシドタンパク質（N タンパク質）の検出を行う．センシングプレートのサファイア基板側へのフェムト秒レーザ照射により Si 薄膜内部でテラヘルツ波が発生し，サファイア基板側から放射される．センシングプレート上に固定した抗体が抗原と反応すると SiO_2 薄膜の表面電位が変化し，これに依存したテラヘルツ波強度が変化する．

本研究では，抗体の代わりにビオチン標識されたアプタマーを用いた．センシングプレートの SiO_2 薄膜表面をビススルホスクシンイミジルスベラート（BS3）で処理し，アビジンを固定した後，アビジン-ビオチン反応を利用してビオチン標識のアプタマーを 5，50，500 μg/ml の濃度で固定した．N タンパク質の反応前のデータとして，アプタマー固定後のテラヘルツ波強度を TCM で測定した．次に，濃度 100 ng/ml の N タンパク質をアプタマーと反応させて，未反応の N タンパク質を除去するために 10 回洗浄した後，反応後のデータとして，TCM でテラヘルツ波強度を測定した．反応前後のテラヘルツ波強度の変化から N タンパク質が検出できる．

この測定の後，100 ng/ml の N タンパク質と最も効率的に反応するアプタマーの濃度で，N タンパク質の濃度を 0, 10 ,20, 50, 80, 100 ng/ml に設定し，それらのアプタマー依存性を調べた．検出方法は，上記と同様．

3.　実験結果

Fig.1 はアプタマーの濃度を 5 から 500 μg/ml に変化させたときの，100 ng/ml の N タンパク質と反応したときのテラヘルツ波強度の変化を示している．エラーバーは 3 回の測定から算出した．濃度が 50 と 500 μg/ml でグラフにほとんど変化がないことから，濃度 100 ng/ml の N タンパク質は濃度 50 μg/ml で最も効率的に反応することが示された．

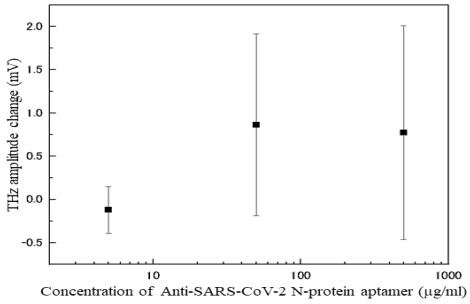

Fig.1: THz amplitude by changing the aptamer concentration when SARS-CoV-2 N-protein was 100 ng/ml.

Fig.2 はアプタマーの濃度を 50 μg/ml としたとき，N タンパク質の濃度を 0 から 100 ng/ml に変化させたときのテラヘルツ波強度の変化を示している．エラーバーは 4 回の測定から算出した．N タンパク質の濃度の増加に伴うテラヘルツ波強度の変化が示された．N タンパク質の増加に伴いテラヘルツ波強度が減少しているのは，センシングプレートの性質によるものである．

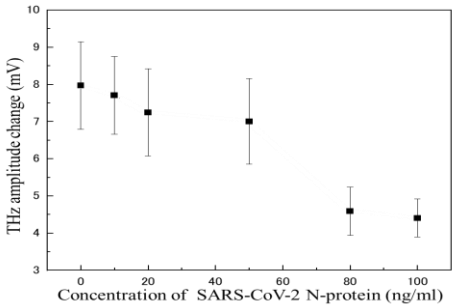

Fig.2: THz amplitude by changing the SARS-CoV-2 N-protein when the aptamer was 50 μg/ml.

4.　まとめ

本研究では，TCM 用いてアプタマーによる SARS-CoV-2 N タンパク質の検出を検証した．一定量の N タンパク質に対して最適なアプタマー濃度が示され，また，TCM で N タンパク質の検出が可能であることが示唆できた．これにより，SARS-CoV-2 の検出に TCM が役立つことが期待できる．今後，一度使用したセンシングプレートが再利用可能か検証していく．