

微細加工を利用したウイルスセンシング Virus Sensing Utilizing Microfabrication Technologies

産総研 ○芦葉 裕樹

AIST, °Hiroki Ashiba E-mail: h.ashiba@aist.go.jp

コロナ禍を契機に、ウイルスセンシングの重要性は広く一般にも認知されるようになった。イムノクロマトグラフィの原理に基づく簡易検査キットによる抗原検査、およびポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法による核酸検査は、標準的なウイルス検査手法として実施されている。一方、これらの手法に対してより迅速に、より高感度にウイルス検出を行うための検出法の研究開発が世界中で行われている。本講演では微細加工を利用したウイルスセンシングに注目し、コロナ禍以前も含めた研究開発動向、および筆者らのグループで開発したデジタル検出法につき紹介する。

微細加工を用いたウイルスセンシングとしては、2000年代には微小機械振動子の極めて高い質量検出感度を利用し、ウイルス粒子1個の吸着による質量増加を検知した例が報告されている[1]。質量変化や表面応力変化（変位）などを用いた機械式の検出原理では、ウイルス粒子やウイルスタンパク質の吸着に対する感度は検出デバイス（振動子など）の微細化によって高められるが、実検体中には多量に含まれる夾雑物の吸着によるノイズ信号も大きくなることに注意を要する。また、デバイス微細化によるウイルスとの衝突頻度の低下や、振動特性変化や微小変位の効率的な計測方法も考慮される必要がある。

本講演で述べるデジタル検出法は、微細加工と光学式の検出原理を用いた検出法である。デジタル検出法では検体を多数（ $10^4 \sim 10^5$ 個程度）の微小反応容器（容積 fL ~ pL 程度）に封入し、個々の反応容器におけるウイルス検出反応に起因した光信号の発生をカメラで検知し、検出反応を生じた容器の数を計数することでウイルスを定量検出する。微小反応容器として、基板上に開口寸法が μm オーダーの微小ウェルをアレイ状に形成したものを用いる。微小反応容器に封入することで光信号のコントラストを高め、1 個のウイルスに由来する光信号を検知可能としている。更に、磁性ビーズを用いて検体中のウイルスを捕捉し、そのビーズを微小ウェルアレイに格納することで、検体の全体積（ μL オーダー）からウイルスを捕集して検出することができる。筆者らは、シリコン基板上に $10 \mu\text{m}$ 角、深さ $5 \mu\text{m}$ の微小ウェルを加工した検出基板を用い、ウイルスを捕捉した磁性ビーズを 1 個の微小ウェルに数十～数百個格納する「多粒子格納型デジタルイムノアッセイ（multiparticle-concentrated digital immunoassay: MCDIA）」を開発した。本手法を用いたインフルエンザウイルス検出で、PCR 法より 1 桁高いウイルス検出感度となる 100 コピー/mL の検出下限濃度を達成した[2]。

〔謝辞〕本講演で紹介する研究成果の一部は、NEDO（JPNP19005）の支援、ならびに産総研の安浦 雅人、福田 隆史、藤巻 真、小林 健、岡本 有貴、牧本 なつみ 各氏、埼玉大学の幡野 健 准教授の協力により得られたものです。ここに感謝申し上げます。

[1] B. Ilic et al., Appl. Phys. Lett. **85**, 2604 (2004). [2] H. Ashiba et al., Anal. Chim. Acta **1213**, 339926 (2022).