

感染症サーベイランスを目指した新規なインフルエンザウイルス検出法を開発

ヘマグルチニン結合性ペプチドを固定したダイヤモンド電極によるインフルエンザウイルスの電気化学的検出

(慶應大理工) 氏江美智子、赤堀未来、松原輝彦、山本崇史、栄長泰明、○佐藤智典

[2Pf094]

(TEL: 045-566-1771 (佐藤) 045-566-1704 (栄長))

【背景】

慶應義塾大学理工学部の佐藤と栄長の共同研究により新規なインフルエンザウイルスの検出法を開発し、高感度な検出に成功しました。実験は主に、学部4年生の氏江（現在は大学院生）が行ないました。近年、新型のインフルエンザウイルスの出現によりパンデミックの危険性が高まってきています。本格的なパンデミックが起きる前に我々が行っておくべき対策のひとつは、サーベイランスとしてのウイルスの検出技術の開発です。インフルエンザウイルスを簡便に検出するセンシングデバイスの開発は、感染拡大を防止する上で急務と考えられています。ワクチンや治療薬の開発には企業の目が向けられていますが、危機管理のための研究開発は遅れているのが現状です。そこで、我々は、感染症サーベイランスに貢献する環境整備のために、新たなウイルス検出法の開発を行なっています。

【従来法】

現在、インフルエンザウイルスの検出にはいくつかの方法が行なわれています。診断ではイムノクロマト法が普及していますが、感度が低い事から感染後の時間経過によりウイルス量が増えることで陽性の判断を行なう事が可能になります。そこで、感染後の早い段階での診断を行なうために、感度を高めた診断キットも開発されるようになってきました。イムノクロマトでは、ウイルス粒子は抗体を用いて検出されます。それ以外の方法として、ウイルス粒子を検出するのではなく、ウイルス内の遺伝子を分析する手法の研究開発も行なわれています。

【今回の新技術の概要】

我々は、従来と異なった方法でインフルエンザウイルスの検出に成功しました。新たなシステムの要素としては、インフルエンザウイルスを認識する分子を抗体からペプチドに変えたことと、ウイルスを検出するためのセンサーとしてダイヤモンド電極を採用したことです。

【技術要素1 ペプチド】

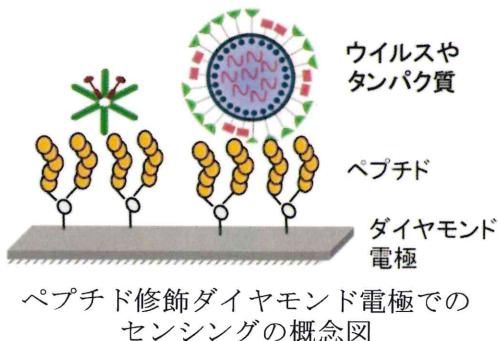
インフルエンザウイルスを認識する分子として採用したペプチドは、佐藤と松原がインフルエンザウイルスの感染阻害剤として開発してきたものです。このペプチドは、インフルエンザウイルスの外殻タンパク質であるヘマグルチニンと相互作用することができる性能を有しています。ウイルスのヘマグルチニンにペプチドが結合することで、細胞への感染能力を失わせることに成功していました。今回の発表では、そのような性能を有したペプチドをウ

イルスの検出に利用しました。



【技術要素2 ダイヤモンド電極】

栄長と山本は、ホウ素ドープダイヤモンド(BDD)電極を用いた電気化学センサーの開発を行ってきました。BDDは広い電位窓や高い吸着耐性を持つことから、従来の電極材料を用いた場合では検出することが困難であった物質も高感度に検出できることを見出しています。BDDに表面修飾を施すことによって、目的・用途に応じた表面状態を作り分けられ、さらには、極少量の試料をも高感度に検出できることを示していました。



【融合技術により達成されたこと】

上記の技術要素1と2を融合して、ペプチド修飾BDD電極の作成法を確立して、電気化学的な測定によりタンパク質やウイルスを高感度に検出できるようになりました。特に、電気化学的インピーダンス測定法によるインフルエンザウイルス(H1型)の検出では20 pfu(プラーク形成単位)という少ないウイルス量での検出が可能であることが示されました。一般的なイムノクロマトを用いた診断キットの感度が1000 pfuと言われているので、大幅な感度の向上が達成されることになります。一般的なイムノクロマトを用いた診断では、発症翌日の陽性率が40~80%と言われています。今回開発したBDD電極を用いることで、発症6時間以内でも高い陽性率が期待されます。他の一般的な電極ではBDDと同程度の高感度な検出はできなかったことから、BDD電極の特徴が反映された結果となりました。

【今後の課題】

季節性あるいは高病原性のインフルエンザウイルスでの検出について検討していきます。さらに、ウイルスの検出を目指して装置の改良を行なうことで、感染症サーベイランスとして利用可能な分析装置の開発を目指して行きたいと考えています。

【適応分野】

ウイルスの検出・監視・診断