

インフルエンザウイルス粒子の高感度迅速 検出機器の開発

育成研究：JSTイノベーションサテライト滋賀 平成21年度採択課題
「防疫に利用できる一粒子検出による感染症診断機器の開発」



代表研究者：長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部
バイオサイエンス学科 准教授 長谷川 慎

■ 研究概要

新興・再興感染症の拡散を防ぐための診断手法を可能とする病原体検出機器を開発した。本試作装置は、蛍光分子の溶液内での動きを非常に細いレーザー光で観察することにより、蛍光物質を吸着させたウイルスやバクテリア、また蛋白質性毒素の凝集塊といった病原性粒子を計数する。

研究内容、研究成果

本研究開発事業では、ウイルスやバクテリアといった病原性微粒子を高感度・迅速に検出する機器を開発した。蛍光標識分子の溶液内での動きを非常に細いレーザー光で観察することにより、蛍光抗体を吸着させたウイルスやバクテリア、また蛋白質性毒素の凝集塊といった溶液内微粒子を計数することができる。今回開発した検出機器は、蛍光相関分光法の応用研究から開発された。蛍光相関分光法は、共焦点レーザー光学系を利用したフェムトリットルレベルまで絞り込まれた観察領域により、個々の分子の蛍光特性を一分子レベルで計測し、その分子量変化を測定する分析技術である。そこから派生した病原性微粒子検出に特化した手法を、われわれは「一粒子蛍光検出法」と名付けた。この技術は、直径100ナノメートル以上の粒子に最適化された光学系を利用して、蛍光標識抗体と複合体を形成した病原性微粒子を検出する。このような複合体微粒子は、溶液中の移動速度が一般の生体分子よりも遅いため、観察領域を通過時に表面に吸着させた蛍光物質のシグナルが検出器に特有の変動を与える。これを計数することで蛍光標識抗体の結合したウイルス粒子を分離濃縮過程なしに高感度迅速検出することができる。このような「一粒子蛍光検出法」に基づく開発装置をインフルエンザウイルスの高感度・迅速検出に応用した。

今後の展開、将来の展望

本技術は、高感度・迅速性・定量性について優位性を持っている。研究支援機器として、感染症治療薬の開発のためのスクリーニング系に適用可能である。創薬研究では開発の迅速性と精度の高い測定法の確保が求められることから、感度・定量性を高めた高性能型機器を提供する。また、防疫・公衆衛生機関に新型インフルエンザの拡大阻止に対するツールとして、あるいは家禽への高病原性トリインフルエンザウイルスの侵入を迅速に検知確定するための装置として普及すれば、多大な経済的損失を未然に防ぐために貢献できる。また、インフルエンザウイルスだけではなく、異なる特異性を持つ蛍光標識抗体や結合性分子を利用することで、他のウイルス・細菌・蛋白質複合体の検出に応用することができる。このような特徴は、ユーザー（研究者）のさまざまなニーズに対応できるであろう。その販売にあたっては、(株)ライフテックの製造のもと、販売をバイオ試薬・器具メーカーに委託する予定である。



図1 試作装置の外観
蛍光標識した抗体でウイルス・細菌を検出
検出感度 $10^3 \sim 10^4$ 個/ml (20~200 粒子)

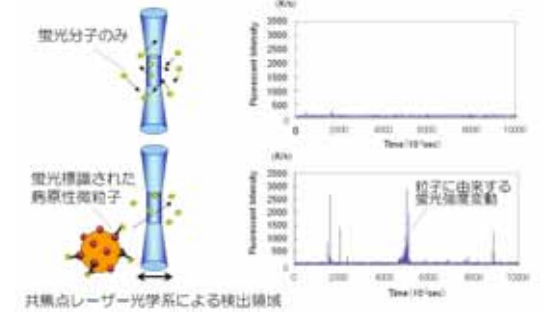


図2 蛍光一粒子検出法の原理
蛍光分子およびそれと結合したウイルスなどの粒子の溶液内での動きを非常に細いレーザー光で観察



図3 臨床検体（鼻腔・咽頭ぬぐい液）からのインフルエンザウイルスの検出結果と既存技術との比較

■ 研究体制

- ◆ **代表研究者**
長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部 准教授 長谷川 慎
- ◆ **研究者**
伊藤正恵、三輪正直（長浜バイオ大学）、白井伸明、岡田俊樹（滋賀県工業技術総合センター）
和田昭裕、上村春樹（長崎大学）、武居修（(株)ライフテック）
- ◆ **共同研究機関**
長浜バイオ大学、滋賀県工業技術総合センター、長崎大学、(株)ライフテック

■ 研究期間

平成21年4月 ~ 平成24年3月