

プログラム名：進化を超える極微量物質の超迅速多項目センシングシステム

PM名：宮田 令子

プロジェクト名：細菌・ウイルス

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平成29年度

研究開発課題名：

ナノ・マイクロポアを用いた InSECT システムの開発

研究開発機関名：

大阪大学

研究開発責任者

川合 知二

I 当該年度における計画と成果

1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

本年度では、ナノポア計測技術と機械学習による波形解析技術を応用し、細菌およびウイルスの1粒子識別を実証することを目的とし、以下の6項目の達成を目標とした。

- ・ 非修飾固体ナノポアセンシング技術とパターン認識技術を用いて、イオン電流波形解析による細菌及びウイルスの表面電荷量識別を実証する。
- ・ 認識分子で内壁を修飾した分子修飾型ナノポアを用いたインフルエンザウイルスの識別精度向上に資するナノポア設計と認識分子設計を明らかにする。
- ・ ナノポアを用いた唾液および鼻腔液中におけるインフルエンザウイルスの検出を実証する。
- ・ 濃縮用流路を用いた細菌・ウイルスの1,000倍濃縮を実証する。
- ・ 「プロトタイプ試作3」の試作を行い、これを用いて1,000,000粒子/mLのウイルス検出感度を達成する。
- ・ パターン認識技術に関して、複数の微量な有害低分子ないしそれらの混合が添加された空気を項目センシングして得られた出力信号から、空気中に含有される有害低分子の種類やそれらの組合せ、濃度推定が高精度に可能であることを実証する。

2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

2-1 進捗状況

- ・ 非修飾ナノポアセンシング技術とパターン認識技術を用いて、イオン電流波形の特徴量別精度から、ウイルスの表面電荷密度による1粒子識別を実証した。
- ・ 認識分子で内壁を修飾した分子修飾型ナノポアを用いたインフルエンザウイルスの識別精度向上に資するナノポア設計と認識分子設計を明らかにした。
- ・ 非修飾固体ナノポアセンシング技術とパターン認識技術を用いて、唾液中におけるインフルエンザウイルスの1粒子識別を実証した。
- ・ 濃縮流路集積ナノポアデバイスを開発した。

- ・ 「プロトタイプ試作 3」の試作を行い、これを用いて 1,000 粒子/mL の細菌検出感度を達成した。

2-2 成果

- ・ 非修飾ナノポアセンシング技術とパターン認識技術を用いて、イオン電流波形の特徴量別精度から、インフルエンザウイルスの表面電荷密度による 1 粒子識別を実証した。
- ・ オリゴペプチドで内壁を修飾した分子修飾型ナノポアを用いて、インフルエンザの 1 粒子識別を実施し、ウイルスの表面タンパク質と比較的強く相互作用するアミノ酸配列を有したペプチド分子において高い精度でウイルス識別が可能なことを明らかにした。一方、ナノポア設計では、ポア直径が 300 nm より小さくなると、ポアがウイルスによって閉塞される頻度が著しく向上することが分かり、直径 300 nm がインフルエンザウイルス検出にとって最適な設計であることが確認された。
- ・ 非修飾固体ナノポアセンシング技術とパターン認識技術を用いて、唾液中におけるインフルエンザウイルスの 1 ウイルス粒子識別精度を A 型 vs B 型で 79%、A 型 vs A 亜型で 74%を達成した。
- ・ 粒子捕集と溶液排出の機能を備えた段差流路で構成される濃縮流路デバイスを用いて、大腸菌の 1000 倍濃縮を達成した。
- ・ 「プロトタイプ試作 3」を開発し、これを用いて 1,000 粒子/mL の大腸菌濃度条件下でポア計測による検出効率 8 粒子/分を達成した。

2-3 新たな課題など

- ・ 従来のナノポアチップを設計改良し、ナノポア計測におけるノイズ低減及び時間分解能の向上を達成すると共に、材料標準物質ナノ粒子(NMIJ CRM, 国立研究開発法人産業技術総合研究所計量標準総合センター)を用いた性能評価を実施した。その結果、これまで広く用いられてきている光散乱法による粒径分布測定に比して、当該ナノポア技術の粒径識別性能が十分に優れているものであることを確認した。
- ・ 粒子検出の高効率化に向けたマルチポアの開発では、2 個のポアを集積したマルチポアデバイスを用いてナノポア計測を実施し、インフルエンザウイルスの 1 ウイルス粒子検出に成功した。

- ・ 濃縮流路を用いた細菌・ウイルスの濃縮・検出では、生体粒子の非特異的吸着抑制や流路素材の剛性・親水性維持が課題として考えられる。そこで従来用いてきたシリコーン樹脂素材に代えて、より剛性が高いシクロオレフィンポリマー（COP）素材を選定し、微小流路の試作及び粒子濃縮の動作実証を行う。
- ・ 実用シーンでは、インフルエンザウイルス以外のウイルスがナノポア計測にかかる可能性が想定される。この課題に対して、唾液や鼻腔液中に含有される可能性があり、インフルエンザウイルスに粒子径が近いウイルスを数種類選定し、これらの感染性ウイルス試料を培養法によって調製した。現在、これらのウイルスを対象としたナノポア計測を進行中である。

3. アウトリーチ活動報告

- ・ **Nano tech Japan 2018**にて、**InSECT** システムの研究開発の活動報告を行った。
- ・ 大阪大学いちょう祭で、一般に向けて **InSECT** システムの研究開発の活動報告を行った。