

2024年度 災害治療学研究所研究助成 報告書

COVID-19をはじめとする病原性ウイルス感染症は、人類の生存にとって最大の脅威の一つである。これら病原性ウイルスに対する治療薬の開発とともに、より迅速かつ高感度、低価格でウイルスを検出できるシステムの開発は、現在蔓延している COVID-19 の変異株や、毎年流行を繰り返す季節性インフルエンザウイルスの検出に有用であるのみならず、将来的にパンデミックを引き起こすウイルスの早期発見、早期治療に必要不可欠であり、短時間で検出感度が高く、ターゲットとするウイルス特異性の高い検査方法の開発が、強く望まれている。

本研究では、東北大学大学院環境科学研究科において複合材料設計を専門とする成田史生教授との共同研究を通じて、ウイルス特異的抗体を複合材料に固相化し、タンパク質間相互作用による電気信号を検出するシステムの開発を念頭に研究を進めている。特に本研究ではインフルエンザウイルスに着目し、既存のウイルス検出システムよりも短時間でより高感度かつ特異性の高いマイクロデバイスの開発を目指している。

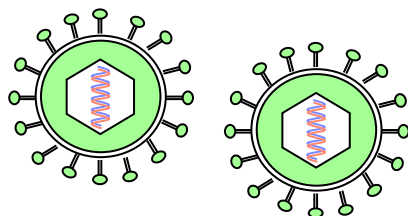
マイクロデバイス開発に先立ち、当研究室では比較対象となる Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) システムの確立を行った。まず、マウスに感染する代表的な A 型インフルエンザウイルス (Influenza A H1N1 (A/Puerto Rico/8/1934)) をオートクレーブし、タンパク質を定量することでウイルス抗原を調整した。次に、市販の抗 Influenza virus A Hemagglutinin 抗体をプレートにコーティングし、作製したウイルス抗原を用いたサンドイッチ ELISA システムの開発を試みた。しかしながら、抗原量や特異性の問題で、本実験で用いたウイルス抗原では再現の良いシステムの構築が困難であった。そこで、市販の純化された Influenza A H1N1 (A/Puerto Rico/8/1934) の Hemagglutinin タンパク質を入手し、同サンドイッチ ELISA システムの確立を試みた。その結果、本システムでは再現よく、250 pg/mL の Hemagglutinin タンパク質の検出が可能であった。また、この標準液となる Hemagglutinin タンパク質溶液を希釈し、本 ELISA システムの検出限界を確認したところ、125 pg/mL の濃度のタンパク質量まで検出可能であることが明らかとなった。以上の結果から、当研究室で確立した ELISA 実験系では、A 型インフルエンザウイルスの Hemagglutinin タンパク質は pg オーダーのレベルまで検出が可能であることが明らかとなった。

本実験結果を基に、Influenza A H1N1 (A/Puerto Rico/8/1934) の Hemagglutinin 抗原および抗 Influenza virus A Hemagglutinin 抗体を成田教授に送付し、マイクロデバイスでの開発を試みた。抗 Influenza virus A Hemagglutinin 抗体をマイクロデバイスセンサーに塗布し、144 ng/mL の Hemagglutinin タンパク質を滴下したところ、本デバイスでは検出が困難であることが分かった。現在、ELISA システムよりも優位性を持たせるために、本デバイスの検出感度を上げることを念頭に改良を行っている。

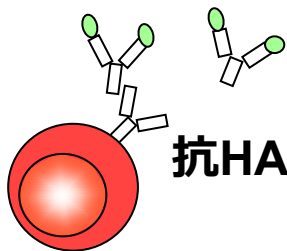
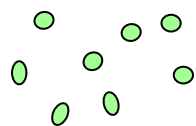
新規ウイルス検出システムの開発

ELISAシステムの確立

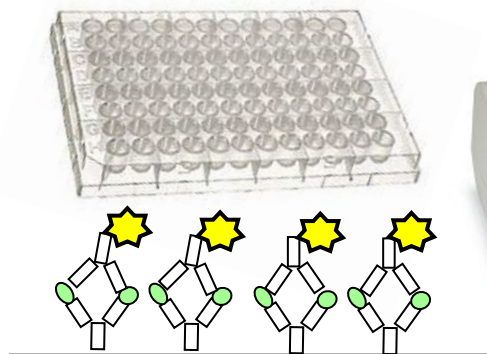
Influenza A H1N1
(A/Puerto Rico/8/1934)



Hemagglutinin
(HA)



抗HA抗体

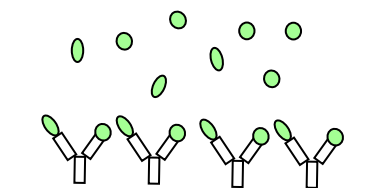


HA抗原検出限界価

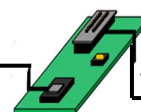
125 pg/mL

新規ウイルス検出システムの開発

HA抗原



基盤センサー



HA抗原検出限界価

144 ng/mL

改良の余地有り