

ナノ粒子間相互作用による光学的・電気化学的応答
を用いた感染性ウイルスの高感度検出技術の開発

メタデータ	言語: ja 出版者: 静岡大学 公開日: 2021-06-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 竹村, 謙信 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00028239

(課程博士・様式7) (Doctoral qualification by coursework, Form 7)

学位論文要旨

Abstract of Doctoral Thesis

専攻：バイオサイエンス専攻

氏名：竹村 謙信

Course : Bioscience

Name : Kenshin Takemura

論文題目：ナノ粒子間相互作用による光学的・電気化学的応答を用いた感染性ウイルスの高感度検出技術の開発

Title of Thesis : Development of highly sensitive detection method for infectious viruses using optical and electrochemical responses from nanoparticle interactions

論文要旨：種々の感染症原因ウイルスは、依然世界的に猛威を振るっており、社会的な脅威である。この感染症被害を最小限に食い止めるためには、感染初期患者から速やかにウイルスを検出し、感染拡大を防止する対策を講じる必要がある。正確性、簡便性及び迅速性を兼ね備えたウイルス検出技術の開発は、安全・安心な社会の実現のための喫緊の課題である。昨今ナノ粒子による様々な分野においての技術革新が著しいものがある。特に、金ナノ粒子 (AuNP) の構造、光学、電気および触媒的な特徴的性質により、ナノ領域でのナノ粒子間の光学応答や電子移動を生じる。これらの現象はバイオセンサーのシグナル変換に用いられ、様々な検体から極微量の標的物質の検出を可能にする。そこで、本研究ではナノ粒子の諸性質を基盤とした新規ウイルス検出系を開発した。

第一章では、ウイルス感染症とウイルス検出技術に関する既存の技術の紹介と課題点を解説した。特に、ナノ素材がウイルス検出技術の発展に関する研究背景をまとめた。更に、AuNP が有する近傍の蛍光物質 (量子ドット、QD) の蛍光強度を距離依存的に増強或いは消光する現象、局所プラズモン共鳴効果 (LSPR) について解説を行った。また、AuNP の電気化学的性質に着目し AuNP 表面における高い電子伝達効率と電気化学を基盤とするバイオセンサーへの適応可能性及び QD と AuNP との相互作用により AuNP の多機能・高機能化に関わる特徴について言及し、本研究の目的について記述した。

第二章では、LSPR による蛍光増強作用に着目し、QD-標的ウイルス-AuNP サンドイッチ構造の形成の際 AuNP の表面修飾リンカー化合物の探索し、ナノ界面における粒子間相互作用を安定化した。最適化したリンカー修飾 AuNP を用いて蛍光応答を最大にすることが可能で、ジカウイルス NS1 タンパク質を高感度で検出した。なお、本検体は多量の夾雑物が含まれるヒト血清中における蛍光増強効果を検討し、本検出系の有用性を確認した。

第三章では、偽陰性・偽陽性の可能性を最小化するため、AuNP を磁性ナノ粒子と結合

させ、夾雑物から標的ウイルスを磁気分離し、LSPRによる蛍光増強効果を誘起可能にする AuNP—磁気ナノ粒子複合体(AuNP-MNP)を合成し、感染性胃腸炎の原因ウイルスである ノロウイルスの検出に適応した。夾雑物から標的ウイルスを簡便に磁気分離することで、LSPR 蛍光増強効果への影響を最小限に抑えることができた。この検出法をノロウイルス感染者の糞便サンプルに適用したところ、糞便溶液に含まれる不純物の影響を受けずに検出限界 84 RNA コピー/ml という高感度でノロウイルスを検出した。磁気分離との組み合わせにより、臨床検体のオンサイト検出が可能であることを示した。

第四章では、AuNP をグラフェン量子ドット (GQD) に結合させ、ポリアニリンナノワイヤー (PAni) と複合体 (GQD-AuPAni) を作製した。導電性の低いカーボン含有シリコンゴム(CSR)に効率的に GQD-AuPAni をコーティングし、電極間で誤差の少ない Ab-GQD-AuPAni@CSR を作製し、クルマエビの白斑病ウイルス(WSSV)の高感度・迅速検出に応用した。

第五章ではこれまでの研究で得られた AuNP の光学的・物理的性質を基に、1つの基板上で電気化学的・光学的に標的ウイルスを検出することができる 2 信号型ウイルス検出系を構築し、インフルエンザウイルス A 型の検出に適応した。高い導電性を有する抗体修飾 AuNP-MNP-カーボンナノチューブ (AuNP-MNP-CNT) 複合体を合成し、ウイルスの磁気分離かつ LSPR を誘導した。更に、インフルエンザウイルス A (H1N1) に特異的な抗体を修飾した QD を調製し、蛍光の測定と電気化学的シグナルの計測により光学的・電気化学的な応答から高感度でインフルエンザウイルスの検出が可能な検出系の構築に成功した。

第六章では、本研究で得られた成果を要約し、AuNP が有する光学的・電気化学的性質のウイルス検出技術への高い応用可能性について言及した。更に本研究を通して目的としてきたオンサイト検出への適応可能性について課題点と現在までの進捗を評価し、今後のウイルス検出技術について展望を述べた。