

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		表面プラズモン共鳴による水中病原ウイルスセンサの開発			
研究テーマ (欧文) AZ		Development of a Surface Plasmon Resonance sensor for a pathogenic virus in aquatic samples			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)サトウ	名)ヒサシ	研究期間 B	2011～ 2012年
	漢字 CB	佐藤	久	報告年度 YR	2013年
	ローマ字 CZ	Satoh	Hisashi	研究機関名	北海道大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		北海道大学大学院工学研究院 環境創生工学部門 准教授			
<p>概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)</p> <p>世界では約11億人が安全な飲料水を利用できず、年間約40億の下痢発生件数のうちの88%が衛生学的に安全でない飲料水の利用に起因し、下痢で年間180万人が死亡している。この状況を改善するには、水系感染症を引き起こす病原微生物をオンサイトでモニタリングすることが不可欠となる。近年、抗原抗体反応を定量的に分析できる表面プラズモン共鳴(Surface plasmon resonance; SPR)バイオセンサを用いて病原微生物を検出する研究が活発に行われている。本研究ではノロウイルス用 SPR バイオセンサを開発することを試みた。</p> <p>センサチップは、金蒸着高屈折率ガラスに、10-Carboxy-1-decanethiol を介して抗ノロウイルス GII.4 モノクローナル抗体を固定することで作製した。センサチップにポリジメチルシロキサン(PDMS)流路を重ね、フローセル型センサとした。これを光導波路分光装置に固定し、マイクロシリンジポンプを用いてセンサにサンプル溶液を供給した。サンプル溶液にはノロウイルスのウイルス様粒子(NoVLP)を加えた。ノロウイルス高感度検出のためのサンドイッチ法のシグナル増幅プローブとして、ウイルス吸着タンパク質(Virus-Binding Protein: VBP)を作製して使用した。</p> <p>ノロウイルス用 SPR センサチップに NoVLP を含まない PBS を供給した。29分後にセンシング信号が安定したため、NoVLP 濃度 10^7 個/mL の PBS を供給した。34分に最大共鳴波長が 687.2nm で定常となった。その後 PBS で洗浄した後も最大共鳴波長はほとんど変化しなかった。44分に、センシング信号である波長シフト幅を増幅させるためのプローブとして VBP を供給した。すぐに最大共鳴波長は増大し、53分に 688.7nm で定常となった。その後 PBS で洗浄したところ、688.1nm で定常となった。この結果から、一次抗体のみの SPR センサでは、波長シフト幅は約 0.3nm であるのに対し、サンドイッチ法により波長シフト幅を 1.2nm(4倍)に増幅できることが明らかとなった。</p> <p>本研究の結果から、SPR バイオセンサは、病原微生物の迅速なスクリーニングに極めて有効な技術であることが明らかとなった。</p>					
キーワード FA	抗原抗体反応	迅速スクリーニング	水系感染症		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 ^{EZ}

Norovirus (NoV) is one of the significant contributors to water-borne and food-borne illness in human with an infectious dose of 10^3 NoV genomes. While some techniques (e. g. , polymerase chain reaction (PCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)) exist for the identification of NoV, the lack of a reliable cell culture system, NoV genetic variability, and time-consuming sample preparation steps required to isolate the virus (or its genome) prior to molecular based methods has hindered rapid virus detection. To better protect the public from virus-contaminated water or food and enable better detection in clinical and environmental samples, rapid and sensitive methods with simple sample preparation are needed.

In recent years, biosensors based on surface plasmon resonance (SPR) have received much attention. A SPR biosensor has been developed for the measurement of antigens, which bound to antibody molecules immobilized on the SPR sensor chip. Because of its various advantages, such as rapidity, selectivity, sensitivity and unnecessary of labeling, the disadvantages of the existing techniques can be in part amended. The objective of this study is to develop a SPR biosensor for rapid detection of Norovirus in liquid samples.

After incubation in PBS, 10^5 NoVLP/mL of the PBS was injected into the sensor at 8 min, flowed for 9 min and washed with PBS for 6 min. No change in the resonant wavelength was observed. Then, 10^6 NoVLP/mL of the PBS was injected into the sensor at 23 min, flowed for 19 min and washed with PBS for 7 min. This produced a slight response in the sensor (0.20 nm). Furthermore, 10^7 NoVLP/mL of the PBS was injected into the sensor at 49 min, flowed for 29 min and washed with PBS. The sensor showed strong response (1.76 nm). From these results, the detection limit of the sensor in which the antibody was immobilized via Protein G on the chip was estimated to be 10^6 NoVLP/mL while that of the direct assay was 10^7 NoVLP/mL, indicating improvement of detection limit by oriented immobilization of antibody onto the chip. In the future study, sensitivity and selectivity of the sensor should be investigated.