



室蘭工業大学

学術資源アーカイブ

Muroran Institute of Technology Academic Resources Archive



インフルエンザウイルスのサブタイプ判定に用いる 局所励起表面プラズモンセンサーの開発に関する研 究

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2013-11-15 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 寧, 君 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.15118/00005106

氏名	ニン ジュン 寧 君
学位論文題目	Development of a localized surface Plasmon sensor for the detection of influenza viruses with specific subtypes (インフルエンザウイルスのサブタイプ判定に用いる局所励起表面プラズモンセンサーの開発に関する研究)
論文審査委員	主査 准教授 加野 裕 教授 酒井 彰 教授 宮永 滋己

論文内容の要旨

インフルエンザウイルスが引き起こす感染症に関する研究を進める研究機関において、インフルエンザウイルスのサブタイプの迅速な判定は、先導的な研究を進める上で重要である。本論文では、これに資する技術として、金属表面において光の回折限界領域に励起される局所励起表面プラズモンを用いてインフルエンザウイルスのサブタイプ判定を行うセンシング手法の提案を行う。これは、生体医学と臨床医学における価値ある挑戦である。提案する手法では、インフルエンザウイルスと、金属表面に固定されたモノクローナル抗体の相互作用に起因する屈折率変化の測定に、局所励起表面プラズモンを応用する。この方法では、従来のプリズム結合型表面プラズモンセンサーの長所を維持しながら、センシング領域の容積を ~ 6 alまで縮小することができる。インフルエンザウイルスの直径は ~ 100 nmであるため、このような極微小センシング領域を有するセンサーは、ウイルス検出における感度を高めるのに適している。

本論文では、提案の有効性を示すため、インフルエンザウイルスのサブタイプを判定する実証実験を行っている。この実験では、測定面に固定されたインフルエンザウイルス A/H1N1 のモノクローナル抗体とインフルエンザウイルスとの抗原抗体反応が、屈折率増大として測定され、ウイルスの検出に成功している。また、インフルエンザウイルス A/H3N2 を参照試料として用いた実験により、特定のサブタイプに限った検出が可能であることを確認している。抗原抗体の反応を実時間測定可能であることから、提案した方法は感染症研究の加速に貢献可能である。

また、本論文では、実際の臨床検査で用いられる、鼻腔拭き取り検体への適用性

を評価している。実験の結果、A/H1N1による変化は、鼻腔拭き取り検体を測定面に導入することによる屈折率変化に比べおよそ6倍であり、インフルエンザウイルスが鼻腔拭き取り検体に含まれているときには、その検出が可能であることが分かった。

さらに、検証実験において単体のウイルスを検出可能であることが示唆されたことから、今後、微量検体に含まれるインフルエンザウイルスの多種同時判定が期待される。

ABSTRACT

Rapid detection of influenza viruses with specific subtype is vital to precede the research on infectious disease in biomedical institutes. In this thesis, I propose a bio-sensing method to determine the subtype of the influenza virus employing localized surface plasmons excited in the optical diffraction limit on a flat metal surface. This is a valuable challenge as a biomedical and a clinic application of optical engineering instrumentation. In my proposal, localized surface plasmons is applied to measure the refractive index variation arisen from interactions between influenza viruses and its monoclonal antibodies immobilized on the metal surface. This technique maintains the positive characteristics of the conventional prism-coupled surface plasmon sensor, while it reduces the sensing volume to ~ 6 al. Since the diameter of influenza viruses is ~ 100 nm, the sensor with such ultra small sensing volume is suitable for increasing the sensitivity in the virus detection.

In order to show efficacy of my proposal, determination of the subtype of influenza virus is demonstrated. In this demonstration, the monoclonal antibodies of A/H1N1 are immobilized on the sensing surface. The antigen-antibody reaction between influenza viruses of A/H1N1 and the antibodies is detected as increase of refractive index on the sensing surface. Specific detection against A/H1N1 is also confirmed by employing A/H3N2 as a control sample. Since the response of the antigen-antibody interaction can be measured at real-time, the proposed method is able to accelerate research of infectious disease.

Furthermore, applicability to diagnosis of virus subtype used in the real world is also evaluated, especially against a specimen prepared by the nasal swab. In this evaluation, refractive index variation for A/H1N1 is a factor of 6 compared with the one for nasal swab specimen. If nasal swab specimen contains influenza viruses, it can be detected by the proposed method.

I also suggest that the method has a potential to detect single virus that leads to detection of multiple subtypes of influenza virus in a sample with ultra small volume.

論文審査結果の要旨

高病原性インフルエンザウイルスへの感染流行が社会的に心配されているが、これに対処する感染症研究機関においては、ウイルスのサブタイプを即時に判定する手法の確立が、感染爆発の初期段階における対処に重要であると考えられている。本研究では、微量な検体に含まれるウイルスのサブタイプを即時に決定する新規手法の提案を行い、その装置化を議論している。

提案手法では、基板の表面に固定したモノクローナル抗体とインフルエンザウイルスの相互作用がもたらす屈折率変化を、微小な流域に局在させた表面プラズモンを測定プローブとして測定する。本論文では、まず、基板表面に励起される表面プラズモンの局在特性を数値計算で明らかにし、表面プラズモンは、ウイルス数個程度が占める領域に局在することを示している。また、装置化においては、数個のウイルスによって生じる屈折率変化の測定に十分な屈折率機能と精度が得られるように、光学系の安定化、検体の送液機構の改良を行い、これに成功している。試験装置を用いた検証実験では、A/H1N1 と A/H3N2 のインフルエンザウイルスと A/H1N1 ウイルスのモノクローナル抗体を用いて、A/H1N1 のみが有意な屈折率変化を示すことを示している。さらに、スワブによってヒトから採取される検体に対する適用性について議論を行い、スワブ検体に混入している異物を起因とする屈折率変化はインフルエンザウイルスに比べ十分に小さい事を示している。

本論文において提案された手法は、基板表面に固定するモノクローナル抗体の種類を増加されることにより、多種のサブタイプを一度に測定することができるが、その際、1種類のウイルスを判定するのに必要な面積が数マイクロメートル平方と極めて微小であるため、極めて微量な検体でサブタイプ判定を行える可能性がある。以上の結果は、ウイルスのサブタイプ判定において新規性、発展性があり、かつ工学的技術として価値ある内容である。よって、著者は博士（工学）の学位を授与される資格があるものと認められる。