



抗体検査を現場で 20 分以内に完了する技術を開発

～鳥インフルエンザウイルスで実証。新型コロナウイルス等への応用へ期待～

ポイント

- ・ポータブル蛍光偏光測定装置を開発し、鳥インフルエンザウイルス抗体の検出に成功。
- ・簡単なピペット操作のみで 20 分以内に抗体を検出できる上、多サンプルの同時測定も可能。
- ・新型コロナウイルス抗体など、様々な種類の抗体・病原体への応用拡大に期待。

概要

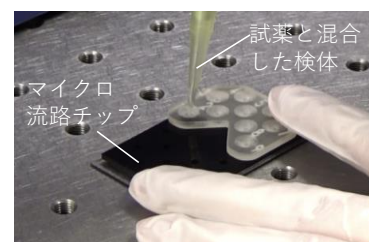
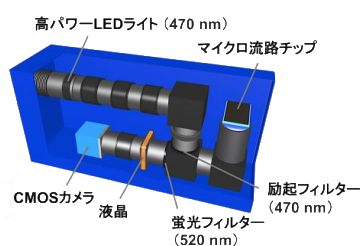
北海道大学大学院総合化学院博士後期課程・日本学術振興会特別研究員の西山慶音氏，同大学院工学研究院の渡慶次学教授，帯広畜産大学畜産学部の小川晴子教授，東北大学多元物質科学研究所の火原彰秀教授，Tianma Japan 株式会社らの研究グループは，抗体検査のようなバイオ検査を現場で迅速に実施できる検査装置を開発しました。その応用例として，鳥インフルエンザウイルス抗体を 20 分以内に検出できることを実証しました。

鳥インフルエンザウイルスのような伝播性が高い病原体の感染防御には，感染が疑われた鳥を直ちに検査することが必要です。一般的には，ウイルスの遺伝子を検出するポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法^{*1}が用いられますが，検査室のみで実施可能で，手間と時間がかかる欠点がありました。このほか，感染した動物の体内で産生される抗体を検出する抗体検査も用いられますが，現場で利用できる反面，判定誤差が生じやすい問題がありました。

研究グループは，これらの問題を解決すべく現場で簡便に高精度な検査ができる装置とそれに必要となる特殊な試薬を開発しました。同装置は，従来からある蛍光偏光免疫分析法（FPIA）^{*2}を原理としながら，液晶素子，イメージセンサー，マイクロ流路チップからなる独自の機構を組み込むことで小型化とポータブル化に成功しました。また，多数の検体を同時に測定することが可能で，検体量もわずか 2 μ L と大幅に低減しました。

同装置は，現在世界的に流行している新型コロナウイルス感染者の抗体検査にも応用できる上に持ち運びも可能なため，検査現場での有力な技術になると期待されます。

なお，本研究成果は，2020 年 4 月 21 日（火）公開の *Sensors and Actuators B: Chemical* 誌に掲載されました。



今回開発したポータブル蛍光偏光測定装置

【背景】

鳥インフルエンザは、A型インフルエンザウイルスによる感染症であり、通常は鳥類に対して感染性を示します。特に、H5亜型鳥インフルエンザウイルス（H5-AIV）の中には、非常に高い病原性を示す株が存在し、それらによる疾患は高病原性鳥インフルエンザとして家畜伝染病（法定伝染病）に指定されています。過去には家禽からヒトへの感染も報告されており、H5N1亜型がヒトへ感染した場合の死亡率は50%を超えます。これらの高病原性ウイルスの被害を最小限に食い止めるため、鳥インフルエンザ発生時に迅速な亜型判定が求められています。

しかし、現在主流のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法による亜型判定は、正確ですが解析に長時間かかることと、その場での測定ができないことが問題でした。また、簡易診断でしばしば用いられるイムノクロマト法^{*3}は、測定の正確さに欠け、定量的な評価ができない欠点が存在するため、現場で簡便・迅速・大量に測定できる検査技術が強く求められていました。

【研究手法・研究成果】

研究グループは、抗H5-AIV抗体を蛍光偏光免疫分析法（FPIA）で検出することで、H5-AIVの感染履歴を判定する技術を開発しました。測定装置については、通過する光の偏光方向を制御する性質をもつ液晶とイメージセンサーを組み合わせることで、蛍光偏光イメージングシステムを構築しました。また、現場での迅速な検査を実現するため、持ち運び可能なサイズになるよう新たな測定機構を設計したことで重さ5.5 kgのポータブル蛍光偏光測定装置を実現しました。また、マイクロ流体デバイス^{*4}内に作製した何本もの微細な流路を測定容器として用いることで、少量サンプルで多検体を同時測定することが可能となりました。

研究グループは、この検出装置とともに測定に使用する試薬の開発も行いました。そのためにまず、H5-AIV表面に発現しているヘマグルチニンタンパク質の断片を遺伝子組換えにより作製し、そのタンパク質断片に蛍光分子を結合（標識）させました。この蛍光標識タンパク質（測定試薬）は、抗H5-AIV抗体とだけ結合します。実際の測定では、鳥から採取した血清と測定試薬を混合し15分放置した後、混合液をマイクロ流体デバイスに導入し、ポータブル蛍光偏光装置にセットして偏光度を測定します。抗体と結合した測定試薬は、結合していないものと比較して溶液中での分子運動が小さくなります。分子運動の差異は偏光度の差異となって表れるため、ポータブル蛍光偏光装置で偏光度を測定することで、抗体を検出できます（図1）。

本手法により、わずか2 μ Lの血清量で20分以内に抗H5-AIV抗体を検出できるようになりました。また、抗H5亜型AIV血清は他亜型AIVの抗血清よりも有意に大きな偏光度を示しました。

【今後への期待】

測定試薬の開発により、様々なターゲットへの展開が期待されます。研究グループは既に、本手法を用いたカビ毒や薬剤の検出に成功しており、今後は他の抗体やウイルス検出への応用を検討しています。新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）を例にとると、ウイルス表面のスパイクタンパク質の断片を遺伝子組換えで作製することで、抗SARS-CoV-2抗体の検出へ応用できると期待されます。

論文情報

論文名 Rapid detection of anti-H5 avian influenza virus antibody by fluorescence polarization immunoassay using a portable fluorescence polarization analyzer (ポータブル蛍光偏光測定装置を用いた FPIA 法による抗 H5 鳥インフルエンザウイルス抗体の迅速な検出)

著者名 西山慶音¹, 武田洋平², 真栄城正寿³, 石田晃彦³, 谷 博文³, 重村幸治⁴, 火原彰秀⁵, 米澤 豊⁶, 今井邦俊⁶, 小川晴子⁶, 渡慶次学³ (1北海道大学大学院総合化学院, 2帯広畜産大学グローバルアグロメディシン研究センター, 3北海道大学大学院工学研究院, 4Tianma Japan 株式会社, 5東北大学多元物質科学研究所, 6帯広畜産大学畜産学部)

雑誌名 *Sensors and Actuators B: Chemical* (化学センサーの専門誌)

D O I 10.1016/j.snb.2020.128160

公表日 2020年4月21日(火)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院工学研究院 教授 渡慶次学 (とけしまなぶ)
T E L 011-706-6744 F A X 011-706-6745 メール tokeshi@eng.hokudai.ac.jp
U R L https://labs.eng.hokudai.ac.jp/labo/tokeshi_lab/

帯広畜産大学獣医学研究部門 教授 小川晴子 (おがわはるこ)
T E L 0155-49-5893 F A X 0155-49-5893 メール hogawa@obihiro.ac.jp

東北大学多元物質科学研究所 教授 火原彰秀 (ひばらあきひで)
T E L 022-217-5616 メール hibara@tohoku.ac.jp

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 北海道札幌市北区北8条西5丁目)
T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimu.hokudai.ac.jp

帯広畜産大学総務課基金・広報戦略室 (〒080-8555 北海道帯広市稲田町西2線11番地)
T E L 0155-49-5995 F A X 0155-49-5229 メール kouhou@obihiro.ac.jp

東北大学多元物質科学研究所 広報情報室 (〒980-0812 宮城県仙台市青葉区片平2-1-1)
T E L 022-217-5198 メール press.tagen@grp.tohoku.ac.jp

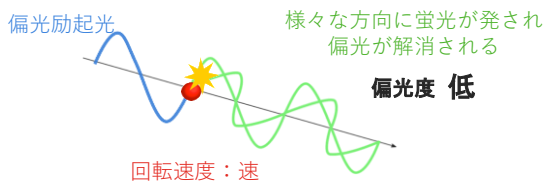
Tianma Japan 株式会社 (〒212-0058 神奈川県川崎市幸区鹿島田1-1-2)
T E L 050-3823-9001 メール m-kiso@tianma-jp.com (経営管理本部広報担当 木曾正志)

【用語解説】

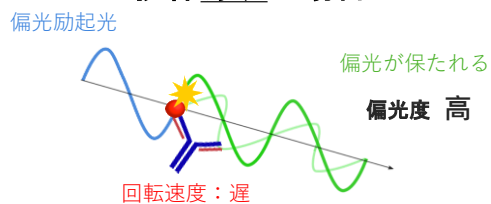
- *1 ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法 … DNA ポリメラーゼと温度変化を利用して目的の DNA を増幅する手法。
- *2 蛍光偏光免疫分析法 (FPIA) … 抗原抗体反応を用いる免疫分析法の一種。蛍光標識した抗原に抗体が結合すると、偏光度が変化することを利用した測定法。試薬を混合するのみで反応が完結するため、迅速な測定に適している。
- *3 イムノクロマト法 … 免疫分析とクロマトグラフィーの原理を組み合わせた測定法。特殊な機器を必要とせず、短時間で測定が可能。
- *4 マイクロ流体デバイス … 流路幅が数 μm ~ 数百 μm という微小な流路をもつデバイス。

【参考図】

抗体なしの場合



抗体ありの場合



蛍光標識タンパク質



抗H5-AIV抗体 (測定対象)

抗体量の増加に応じて偏光度が上昇

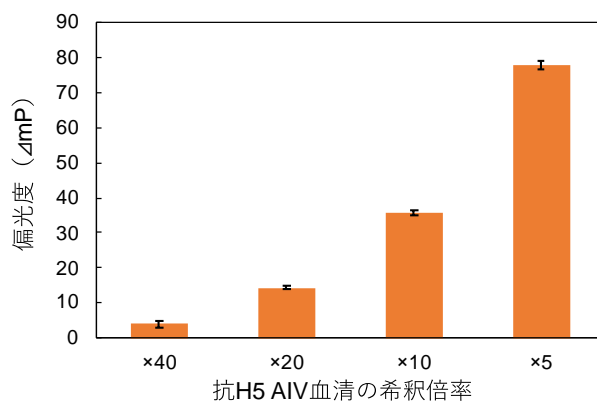


図 1. FPIA の測定原理。蛍光標識タンパク質は偏光励起光が照射されると、様々な方向に蛍光を発する（偏光度：低）。一方で、抗体の結合した蛍光標識タンパク質は、より偏った方向へ蛍光を発する（偏光度：高）。そのため、抗体量の増加に伴い、多くの蛍光標識タンパク質-抗体複合体が形成され、偏光度が増加する。