

ウイルスの高感度検査技術

High Sensitive Diagnosis of Viruses

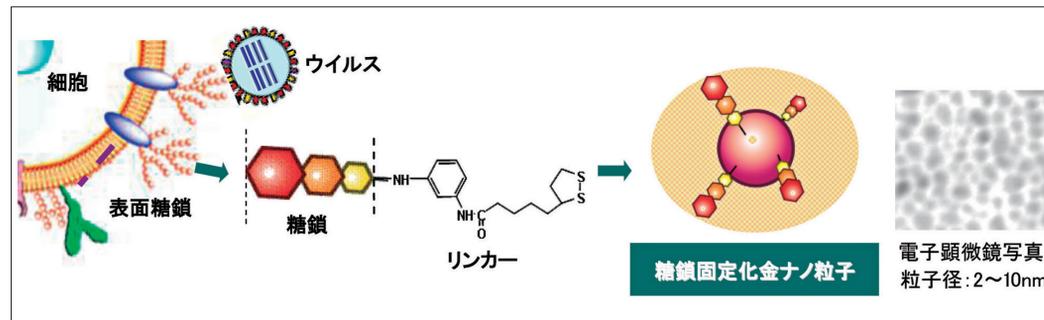
糖鎖固定化ナノ粒子とqPCRを用いるウイルスの高感度検出法の開発
 Development of High Sensitive Detection Method of Viruses using Sugar-chain Immobilized Nanoparticle and qPCR

研究者 ▶ 隅田 泰生
所属・役職 ▶ 鹿児島大学 大学院理工学研究科・教授(兼業)
問い合わせ先 ▶ 株式会社スティックスバイオテック
 鹿児島研究所 隅田 泰生
 鹿児島市郡元1-21-40 鹿児島大学VBL内
TEL 099-800-1892
E-mail ysuda@sudxbiotech.jp

開発目的

◆ ウイルス結合糖鎖固定化金ナノ粒子

糖鎖は生体内で多彩な機能を示し、生命現象に不可欠な役割を演じる。一方で、細胞表面の糖鎖はウイルスには低親和性レセプターとして使用され、その感染を仲介する。我々はウイルスのレセプターとして使用される細胞表面の糖鎖を独自のリンカー化合物と結合させ金へ固定化した「糖鎖固定化金ナノ粒子(SGNP)」を開発し、それを用いたウイルス濃縮技術を確立した。



◆ ニーズ

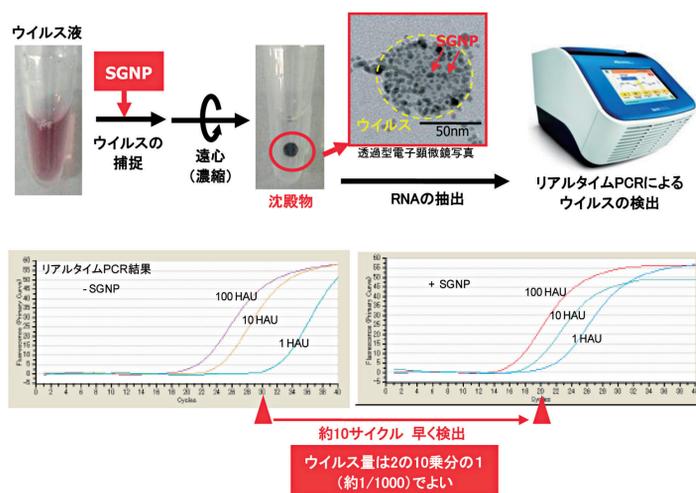
現在の医療現場では、ウイルスの検出・同定にPCR法などが用いられているが、夾雑物の影響を受けるためにウイルスが極低濃度の場合には検出できないなど感度に限界があった。我々は、ウイルス結合性の

SGNPとリアルタイムPCR法を組み合わせ、検体中の極低濃度のウイルスを濃縮し、罹患の超早期に検出・診断可能な技術を開発した。

装置・技術の特徴

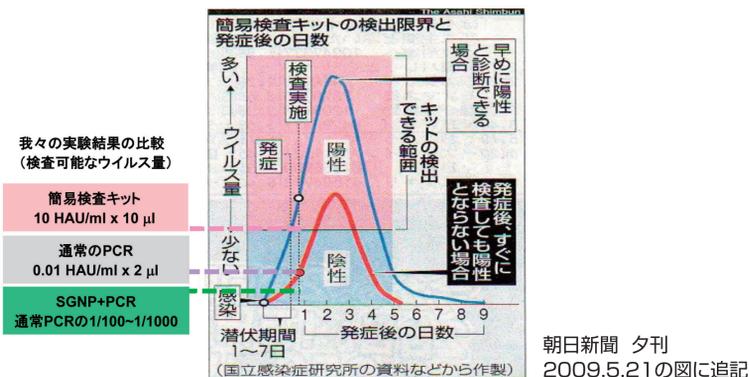
◆ インフルエンザウイルスの超高感度検査

インフルエンザウイルスと結合する糖鎖を固定化したSGNPを調製し、インフルエンザウイルスと混合し、遠心分離によって沈殿を得る。それを、少量の水に再分散し、加熱によってウイルス粒子を破壊してRNAを抽出し、リアルタイムRT-PCRを用いてウイルス遺伝子を検出した。高濃度(100HAU, 10HAU)のサンプルの場合は約4サイクル早く検出できる程度だったが、低濃度(1HAU)の場合、約10サイクル早く検出できた。つまり、元のウイルス遺伝子を2の10乗倍に濃縮、従来の方法よりも1000倍にウイルスの検出感度を上昇させることができた。



◆ 従来技術との違い

磁性粒子とカオトロピック効果を持つ溶媒を用いた核酸の精製法がウイルス遺伝子の濃縮に応用されているが、ウイルスが微量の時には、夾雑の遺伝子が多くなり、精度に問題が生じて感度を高めることができない。我々の技術はウイルスの糖鎖結合性を利用し、ウイルスに特異的に結合する糖鎖を固定化したナノ粒子でウイルス粒子を捕捉・濃縮し、その粒子中のウイルス遺伝子を調べるものであり、感染性を保っている可能性のあるウイルスの量を、それが極微量であっても濃縮し、同時に精製することによって、ウイルス遺伝子を精度高く測定できる。この技術によるインフルエンザウイルス超高感度検査は、一般の医院で行っているイムノクロマトを用いた簡易検査の50万倍以上の感度があり、唾を検査することによって、症状が出ていない患者、いわゆる不顕性感染者の同定にも成功している。



製品化・実用化の状況

現在、インフルエンザウイルス超高感度検査の受託を開始しており、他にも、鯉ヘルペス、ヒトヘルペス、コクサッキーウイルスについて高感度検査を実施している。さらに、エイズ、C型肝炎、ヒトT細胞白血病、口蹄疫ウイルスなどについても技術開発を進めている。また、臨床現場で使用できる自動濃縮装置を(株)コーネット社と協同開発し、SGNPとPCRプライマーをセットにしたウイルス高感度検査キットも販売している。



ウイルス自動濃縮装置



ウイルス高感度検査キット