

等温核酸増幅法による検出を指向したウイルス膜破壊法の開発

(慶應大理工¹) 高見 佳代¹・奥田 真由¹・佐藤 智典¹・松原 輝彦¹

Development of a virus membrane disruption method suitable for virus detection via isothermal nucleic acid amplification (¹*Faculty of Science and Engineering, Keio University*)

○Kayo Takami¹, Mayu Okuda¹, Toshinori Sato¹, Teruhiko Matsubara¹

The purpose of this study is to develop a simple and rapid virus detection technique using an isothermal nucleic acid amplification method. In this study, we treated virus-containing droplets using acoustic levitation, which allows non-contact handling of viral solutions, and then perform nucleic acid amplification via hybridization chain reaction (HCR) and fluorescent detection. First, we investigated the condition for disrupting the viral lipid bilayer, and it was found that ethanol and sodium hypochlorite destroy the lipid bilayer. Second, the synthetic viral gene was amplified via HCR in the presence of ethanol.

Keywords : *hybridization chain reaction; acoustic levitation; virus; isothermal nucleic acid amplification; fluorescence detection*

インフルエンザサーベイランスなどで用いられている PCR 法は温度変化が必要なため、専用の試薬や装置を要し手軽に行うことができない。等温核酸増幅法の一つである hybridization chain reaction (HCR) 法は室温で進行するため、PCR 法と比較して操作が簡便である。そこで本研究では、非接触で物質を扱うことができる音響浮揚装置によってウイルスを含む液滴を捕捉し、ウイルス膜の破壊と HCR 法による核酸増幅を行って、浮揚液滴中でウイルス検出を完結させることを計画した。

まず、ウイルス膜破壊法の検討を行った。エタノールなどを含む溶液とインフルエンザウイルスを混合して粒子径測定を行ったところ、粒子径の増大が見られ、ウイルス膜の内容物が凝集したことが示唆された。次に、HCR 法によるオリゴ DNA の連結反応を行った。反応産物の長さや標的 DNA 濃度との間に相関関係が見られ、エタノール暴露した溶液で HCR が進行することが示された。

