

Title	粒子崩壊を誘起する電極界面を活用したウイルス検出法の開発
Sub Title	Development of virus detection on electrodes that induces particle disruption
Author	松原, 輝彦(Matsubara, Teruhiko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2025
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2024.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究では、これまで開発してきた電極によるウイルスの結合による検出技術をベースに、ウイルスゲノムから亜型や変異体を識別するバイオセンサー開発に着手した。初年度（2024年度）では、ウイルス粒子を崩壊させて内部のゲノムを露出させる方法を主に検討した。電極を想定した固体表面にインフルエンザA型ウイルス（IAV）受容体を固定化し、ウイルスを表面に誘引した。ランミュアトラフを用いて受容体分子を平面に並べ、原子間力顕微鏡（AFM）観察を行うためにマイカ表面に吸着させた。受容体と誘引されたIAVが結合している様子がAFMによって観察された。ここでpHを酸性側に变化させることで、ウイルスが崩壊することを観察できた。ウイルス感染の過程において、ウイルスが細胞内に侵入する過程は、エンドサイトーシスで取り込まれた後に膜融合を行って粒子内部のゲノムが放出されるとされている。この過程を固体表面で模倣することに成功した。また、ウイルス崩壊の後に観察されたヒモ状の分子は、その形状からRNA-核タンパク質複合体（RNP）である可能性があった。そこで抗RNP抗体を用いて可視化したところ、RNPであることを明らかにできた。受容体を用いたIAVウイルス粒子を崩壊する系を構築することができた。この仕組みをSARS-CoV-2や他のウイルスにも適用するため、ファージ提示法で得られるペプチドをベースとした人工分子の設計、さらに化学合成に着手した。一方、栄長・山本はそれぞれ異なるアプローチでダイヤモンド電極の機能開拓・特性評価を行った。栄長は新たにリンドーパダイヤモンド電極を作製し、従来のホウ素ドーパダイヤモンド電極（BDD）と遜色のない電気化学特性を示すことを明らかとした。山本は様々な処理を施したBDD電極の表面官能基を詳細に評価し、修飾分子の構造多様性を与える知見を得た。以上、順調に研究が進行したことから、継続して研究を続ける計画を立てている。 We have begun to develop a novel type of biosensor that identifies subtypes and mutants from the virus genome. In the first year (2024), we investigated a method to collapse virus particles to expose the internal genome. Influenza A virus (IAV) receptors were immobilized on a solid surface of electrode, and the virus was interacted to the surface. The binding of the receptor was observed by atomic force microscope (AFM). The disruption of IAV was observed by changing the pH of the solution to acidic values, and the RNA-nucleoprotein complexes (RNPs) were also identified by anti-RNP antibody. These results indicate that the surface receptor destroys the virus particles. In addition, the functions and evaluate the characteristics of diamond electrodes were explored with different approaches. A new type of electrode, phosphorus-doped diamond electrode, was prepared and demonstrated that it exhibits electrochemical properties comparable to those of conventional boron-doped diamond electrodes (BDD). Furthermore, the surface functional groups of BDD electrodes was evaluated and the structural diversity of modified molecules was investigated.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2024000002-20240014

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2024年度 学事振興資金（共同研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授	補助額	1,000千円
	氏名	松原 輝彦	氏名（英語）	Teruhiko Matsubara		
研究課題（日本語）						
粒子崩壊を誘起する電極界面を活用したウイルス検出法の開発						
研究課題（英訳）						
Development of virus detection on electrodes that induces particle disruption						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
松原 輝彦（Teruhiko Matsubara）		理工学部・生命情報学科・准教授				
栄長 泰明（Yasuaki Einaga）		理工学部・化学科・教授				
山本 崇史（Takashi Yamamoto）		理工学部・化学科・准教授				
1. 研究成果実績の概要						
本研究では、これまで開発してきた電極によるウイルスの結合による検出技術をベースに、ウイルスゲノムから亜型や変異体を識別するバイオセンサー開発に着手した。初年度（2024年度）では、ウイルス粒子を崩壊させて内部のゲノムを露出させる方法を主に検討した。電極を想定した固体表面にインフルエンザA型ウイルス（IAV）受容体を固定化し、ウイルスを表面に誘引した。ランミュアトラフを用いて受容体分子を平面に並べ、原子間力顕微鏡（AFM）観察を行うためにマイカ表面に吸着させた。受容体と誘引されたIAVが結合している様子がAFMによって観察された。ここでpHを酸性側に変化させることで、ウイルスが崩壊することを観察できた。ウイルス感染の過程において、ウイルスが細胞内に侵入する過程は、エンドサイトーシスで取り込まれた後に膜融合を行って粒子内部のゲノムが放出されるとされている。この過程を固体表面で模倣することに成功した。また、ウイルス崩壊の後に観察されたヒモ状の分子は、その形状からRNA-核タンパク質複合体（RNP）である可能性があった。そこで抗RNP抗体を用いて可視化したところ、RNPであることを明らかにできた。受容体を用いたIAVウイルス粒子を崩壊する系を構築することができた。この仕組みをSARS-CoV-2や他のウイルスにも適用するため、ファージ提示法で得られるペプチドをベースとした人工分子の設計、さらに化学合成に着手した。一方、栄長・山本はそれぞれ異なるアプローチでダイヤモンド電極の機能開拓・特性評価を行った。栄長は新たにリンドーブダイヤモンド電極を作製し、従来のホウ素ドーブダイヤモンド電極（BDD）と遜色のない電気化学特性を示すことを明らかとした。山本は様々な処理を施したBDD電極の表面官能基を詳細に評価し、修飾分子の構造多様性を与える知見を得た。以上、順調に研究が進行したことから、継続して研究を続ける計画を立てている。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
We have begun to develop a novel type of biosensor that identifies subtypes and mutants from the virus genome. In the first year (2024), we investigated a method to collapse virus particles to expose the internal genome. Influenza A virus (IAV) receptors were immobilized on a solid surface of electrode, and the virus was interacted to the surface. The binding of the receptor was observed by atomic force microscope (AFM). The disruption of IAV was observed by changing the pH of the solution to acidic values, and the RNA-nucleoprotein complexes (RNPs) were also identified by anti-RNP antibody. These results indicate that the surface receptor destroys the virus particles. In addition, the functions and evaluate the characteristics of diamond electrodes were explored with different approaches. A new type of electrode, phosphorus-doped diamond electrode, was prepared and demonstrated that it exhibits electrochemical properties comparable to those of conventional boron-doped diamond electrodes (BDD). Furthermore, the surface functional groups of BDD electrodes was evaluated and the structural diversity of modified molecules was investigated.						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 （著者・講演者）		発表課題名 （著書名・演題）		発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行 年月 （著書発行 年月・講演 年月）	
森村和花葉、松原輝彦		人工ペプチドを修飾したシリカ微粒子によるSARS-CoV-2の検出		第4回ヘルスステック・デバイスフォーラム（IHI）	2024年8月	
松原輝彦		ガングリオシドが誘起するAβ集合体形成と人工ペプチド阻害剤の設計		バイオサイエンスとインダストリー（B&I）（バイオインダストリー協会）	2025年1月	

Tomokiyo Moriguchi, Mai Tomisaki, Susumu Sato, Jin Nakamura, Hideaki Yamada, Yasuaki Einaga	Fabrication of polycrystalline phosphorus-doped diamond electrodes from red phosphorus	Phys. Chem. Chem. Phys.	2024年5月
山本崇史、津田裕紀、栄長泰明	酸化／還元処理をしたダイヤモンド電極表面の評価	第48回有機電子移動化学討論会	2024年6月