

様式2

平成29年度 生体医歯工学共同研究実施報告書

受理年月日	
受理番号	2070

平成 30 年 3 月 12 日

生体医歯工学共同研究拠点 研究所長会議 議長 殿

共同研究代表者  
 所属機関 琉球大学  
 職 名 准教授  
 氏 名 作道 章一 印  
 勤務先所在地 〒903-0215 沖縄県中頭郡西原町  
 上原207番地  
 電話番号 (098)895-1252  
 FAX番号 (098)895-1252  
 E-mailアドレス sakudo@med.u-ryukyu.ac.jp

下記により、共同研究の実施報告を致します。

記

研究題目	(和)テラヘルツスペクトルを指標にしたウイルス感染診断技術の開発 (英)Development of terahertz spectroscopy system for detection of viral infection		
研究領域	1. 生体材料に関する基礎・応用研究 2. 生体工学に関する基礎・応用研究 3. 生体機能分子に関する基礎・応用研究 4. 化学・電気・機械・材料工学の生体応用研究		
研究期間	平成 29 年 6 月 1 日 ~ 平成 30 年 3 月 31 日		
研究組織			
氏名	所属機関・部局等	職名	役割分担
作道 章一	琉球大学・医学部	准教授	ウイルス感染サンプルの調整と解析
佐々木 哲朗	静岡大学・電子工学研究所	特任教授	テラヘルツ(THz)分光解析
山城 梨沙	琉球大学・医学部	修士1年生	実験の補助
生体医歯工学共同研究拠点内対応教員	(共同研究をした教員名を記載) 佐々木 哲朗		

## 研究成果

病原体の検知法の研究・開発は、近年ますますその重要性を増している。本研究では、ウイルスに感染している検体と非感染検体のテラヘルツ (THz) スペクトルを比較することで、感染に伴う吸収変化を示す波長を見つけ出し、それを指標にした感染検知法を開発するための基礎的データを得ることを目的に研究を行った。

今年度は発育鶏卵の漿尿液をサンプルとして実験を行った。11 日齢の発育鶏卵にインフルエンザウイルス [A/PR/8/34 株(PR8 株)]を接種し 48 時間培養後に漿尿液を回収した。同様に非感染コントロールも同じ条件で培養し漿尿液を回収した。さらに漿尿液を 15000rpm,1min の遠心処理を行い、得られた上清を回収した。金属の中心部に穴をあけた部分(直径 5.0mm)をパラフィルムで穴をふさぎ、そこにパラホルムアルデヒドで固定処理を行った漿尿液の上清(300  $\mu$  L)を添加してヒートブロック (37 $^{\circ}$ C) で温めながら乾燥した。パラフィルムのみの THz 強度を基準として透過率測定を行い、これを吸光度に変換して比較を行ったところ、ノイズとは明らかに異なるいくつかのピークが観察されたが、異なる鶏卵由来の漿尿液で観察されるピークに完全な一致性は見られなかった。また、干渉縞が見えるものと見えないものがあり強度や周期にも違いが見られるなど、パラフィルムの厚さのばらつきに起因するピークも見られたため、これらの要因を減少させることのできる新たな THz 測定法での検討が必要と考えられた。なお、インフルエンザウイルスが発育鶏卵の尿膜中で増殖する際には、胎児の発育低下、酸素消費低下、炭酸ガスの発生減少などの他に、様々な漿尿液中の成分変化が起こることが報告されている。これまでの解析で観察されている THz ピークがこれらの非蛋白質窒素、尿酸、クレアチニン、蛋白質、乳酸、クレアチンリン酸などインフルエンザウイルス感染により変化する物質由来のピークなのか、それとも物体の形状や干渉フリッジに起因するピークなのかを今後詳細に解析する必要がある。

2017 年 8 月 21 日および 2018 年 2 月 2 日研究打ち合わせ(静岡大学訪問)

<b>使用した設備・資料・試料等</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>・THz スペクトル測定装置</li><li>・インキュベーター</li><li>・発育鶏卵</li><li>・パラホルムアルデヒド</li><li>・パラフィルム</li><li>・バキュームシーラー</li><li>・ニトロセルロース膜</li></ul>
----------------------	--

## 本研究成果に関連する論文発表状況

なし

<b>次年度の共同研究継続の有無</b>	<input checked="" type="checkbox"/> 有 ・ <input type="checkbox"/> 無	拠点内対応教員とご相談の上ご記入ください。 継続の場合には次年度の研究計画をご記入願います。
----------------------	--	---

## 次年度の研究計画(継続の場合)

インフルエンザウイルスに感染した発育鶏卵の漿尿液と非感染漿尿液の THz スペクトルを比較したところ、ノイズとは明らかに異なるいくつかのピークが観察された。インフルエンザウイルスが発育鶏卵の尿膜中で増殖する際には、胎児の発育低下、酸素消費低下、炭酸ガスの発生減少などの他に、様々な漿尿液中の成分変化が起こることが報告されているため、インフルエンザウイルス感染の有無で違いの見られた THz ピークがこれらの非蛋白質窒素、尿酸、クレアチニン、蛋白質、乳酸、クレアチンリン酸などインフルエンザウイルス感染により変化する物質由来のピークなのかについて、詳細に解析を行う。また、これまでは透過法にて THz スペクトルを取得してきたが、バイオ系のサンプルとの相性が良いことで知られる ATR(Attenuated Total Reflection)法での THz スペクトルの取得についても検討したい。

