

# COVID-19との戦いを可能にする光学とフォトニクス

ロバート・V・キメンティ

SARS-CoV-2の初期シーケンスから、空気濾過で使われる紫外線LED、そしてリアルタイムPCRなどの分光法を用いた診断検査まで、光学とフォトニクスはCOVID-19との戦いを可能にしている。

近年の歴史の中で他のあらゆるイベントよりも、COVID-19はこの1年間、日常生活に大きな影響を与えた。パンデミックが世界を支配し続ける中、大衆はこれまで以上に検査、治療、消毒、ワクチン開発の最新情報を注視するようになっている。驚くべきことに、すべてのメディアが注視する中で、これらの進歩の多くはフォトニクスなしに不可能だったという事実はほとんど注目されていなかった。

「フォトニクスとは、可能にする技術である」という、コミュニティ内ではよく言われるこの言葉は、COVID-19に関してはこれ以上ないほど適切だろう。なぜなら、生体医学がフォトニクスの影響を最も大きく受けた分野であることは、疑いようのないことだからである。実際、遠隔通信を除いて、

ヘルスケアほどフォトニクスの影響を大きく受けている産業はないと言っても過言ではない。そこで、COVID-19パンデミック対策にフォトニクス技術がどう応用されているか、深掘りすることにしよう。本稿では、COVID-19検査でフォトニクスは現在どう応用されているか探ると同時に、現在、フォトニクスが次世代技術をどう促しているか見ていく。

## COVID-19検査における蛍光の役割

COVID-19のアクティブな感染を診断するために最初に行う試験方法には、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(rt-PCR)と呼ばれるプロセスが含まれている。PCRとは、DNAを指数関数的に増幅させる方法である。そのため、

rt-PCRのプロセスをよく理解するには、まずDNA分子の基本的な構造を振り返ることが重要である。DNAは2本鎖の分子であり、アデニン(A)、シトシン(C)、グアニン(G)、チミン(T)の4種類の核酸から構成される。アデニンとチミンのみ、グアニンとシトシンのみの結合様式をとり、塩基対を形成する。塩基対は、4ビットのゲノムコードを作り、DNAの自己複製を容易にする。

通常のPCRでは、DNA鎖を変性させて「ほどく」ことにより、2つに分ける。次に、ポリメラーゼと、対象となるゲノムに合わせて設計したDNAコードのプライマーを加える。ポリメラーゼは化学的プロセスを開始し、2つに分かれたDNAはそれぞれ適切な核酸で「埋まり」、2つの完全なDNA分子が作られる。このプロセスを繰り返し、4分子、8、16……と、DNA総量は指數関数的に増加する。この増幅が起きるのは、DNAの塩基配列がプライマーの塩基配列と一致する場所のみである。そのため、COVID-19の原因ウイルスであるSARS-CoV-2のように、特定の抗原の存在を確認するために選択性の高い測定技術となっている。コロナウイルスは1本鎖のRNAウイルスであるため、最初にRNAをDNAに変換する追加手順が必要となることに注意すべきだ。それゆえ逆転写が必要だ

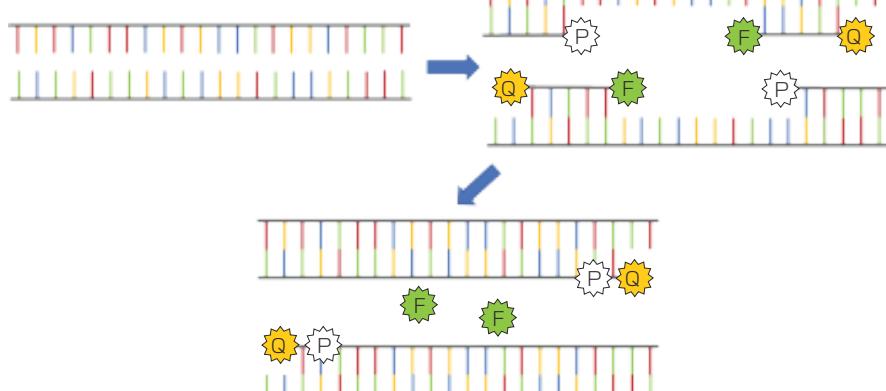


図1 PCR中の蛍光活性の模式図。Pはポリメラーゼ、Fは蛍光分子、Qは消光分子を示す。

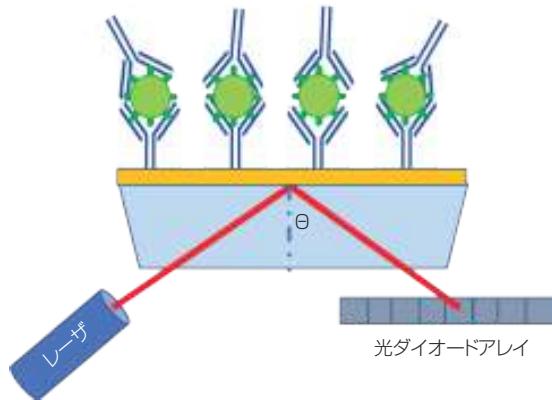


図2 抗SARS-CoV-2抗体を検出するSPRセンサの模式図。

ルのインキュベーション時間のために総測定時間は数時間もかかることがある。幸運なことに、Laser Focus World誌2020年8月号で詳しく紹介されたように<sup>(2)</sup>、現在のパンデミック以前から、最新の分光技術がPOC医療診断の道を切り開いてきた。最も有望なPOCスクリーニング法は、表面プラズモン共鳴(SPR)センサと、表面増強ラマン散乱(SERS)免疫測定の2つである。

が、結果は同じである。

標的DNAをタグ付けするために使うのは、片方の端に蛍光分子を、もう片方の端に消光分子を持つ低分子RNAである。消光分子が近くにあると蛍光分子は不活化され、溶液中では活性がない。しかし、標的RNAと結合した後は、ポリメラーゼによって蛍光分子が放出され、活性化する(図1)。PCRプロセスが繰り返させると、蛍光シグナルは最終的に検出できるほど強くなる<sup>(1)</sup>。従って、すべてのPCR検査システムには励起源(通常はLED)、光検出器、複数の光学フィルタを必要とする。

抗体検出もまた、過去に感染したかどうかを判断したり、ワクチン接種の効果を確認したりするための強力なツールである。現在、抗体検査のゴールドスタンダードは酵素結合免疫吸着測定(ELISA)だ。ELISA法は、抗体によって固定化される抗原から構成される。この抗原は、マイクロプレートアレイのウェル内に配置された基板と結合している。サンプルに触れると、血清中に抗体がある場合、抗原に結合する。レポーター分子をつなげた2次抗体をウェルに加え、比色法または蛍光で検出する。そのため、ELISA検査システムにはrt-PCR検査システムと同様の光学コンポーネントを必要とする。

こうしたことから、COVID-19に対するrt-RCT検査とELISA抗体検査はすべて、単にフォトニクスに依存しているのではなく、根本的には光学分析である。

### 臨床現場における迅速スクリーニングの開発

ELISAやPCR検査の価値が低く見られているわけではないものの、残念ながらどちらも臨床現場(POC)における迅速な検査には適していない。例えば、ELISAは一般的に96ウェルプレートで行い、多数のサンプルを同時に検査できるにもかかわらず、サンプ

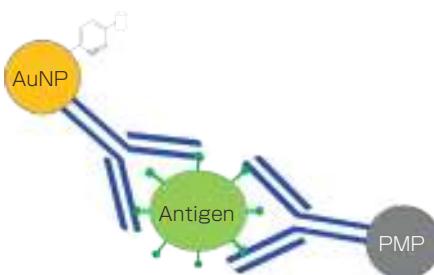
### SPRセンサによるPOC抗体検出

表面プラズモンとは、金属と誘導体の界面における伝導帶電子のコヒーレント振動によって発生する表面波である。その結果、表面プラズモンは、物質の誘導率(屈折率の平方根)の変化に非常に敏感である。それゆえSPRセンサは、屈折率測定、干渉法、分光法によって誘導率の変化を迅速に測定できる。

SPRセンターは、ガラス基板上に金、銀、銅などの貴金属の薄膜を作ることで構成される。ELISAと同様の生化学的構造を用いて、金属表面に抗原を固定させる。センサ表面の抗原に抗体



図3 アフィニティ・インストゥルメント社のポータブルSPRシステムであるP4-SPR(同社提供)。



**図4** ARS-CoV-2のために機能化したバイオストリーム・ダイアグノスティクス社の磁気SERSアッセイの模式図。

が結合すると誘導率がわずかに変化し、表面プラズモンの共振周波数が変化する。そのため、SPRは2次結合を必要とせず、迅速でラベルフリーな検出が可能となる。

図2に、レーザ反射を利用したSPRセンサの模式図を示す。この図はプロセスを簡単に理解するのに役立つが、屈折率の測定では広帯域分光法がより一般的な方法である。入射光が表面プラズモンに滞留しているとき、相殺的干渉に対応してスペクトルディップが生じる。そのため、センサがより多くの検査対象物を収集することで透過スペクトルの極小がシフトし、極めて感度の高い定量が可能となる。

2020年4月、カナダのモントリール大(University of Montreal)化学教授でアフィニティ・インストゥルメント社(Affinité Instruments)CTOであるジーン・フランソワ・マソン氏(Jean-François Masson)が率いる研究チームは、ポータブルSPRを用いて、血清原液中の抗SARS-CoV-2抗体を定量する手段としてSPRを実証することに成功した<sup>(3)</sup>。マソン氏らは分析のために、同社のモバイルSPRセンサであるP4-SPRを使用した(図3)。P4-SPRは血しょうや血清といった未処理の体液を分析するために設計されたもので、前処理をせずに直接機器にアプライできる。これにより、検査プロセスが大き

く簡素化され、現場の検査技師にとってはるかに直感的に操作できる。さらに、本体はたった175×155×55mmで、重さは1.3kg以下である。血清を直接測定できる性能と携帯性により、ポータブルSPRはPOC抗体検査において理想的なものといえる。

## SERSアッセイによるPOC抗原検出

表面増強ラマン散乱(SERS)は、局在表面プラズモン共鳴(LSPR)とラマン散乱の組み合わせに基づいた増強技術である。現在、迅速なCOVID-19スクリーニングを可能にするソリューションとして研究されている有力な候補の1つだ。LSPRは、ナノ構造をした貴金属を用いて表面電荷密度を局所的に増加させ、表面プラズモンの強度を增幅させることで、ラマン散乱の強度を106倍にまで高める。この超高感度と、ラマン分光法の本来の特異性が組み合わさることで、SERSはCOVID-19の迅速なPOCスクリーニングの有力候補となっている。

ラマン分光法を用いてSARS-CoV-2の化学的指紋を直接検出しようとするチームは存在する。しかし、ナノ粒子やナノ構造の基板に抗原を十分に近づけ、同時にサンプル中の低分子によるラマン散乱を低減させるという課題がある。そのため、検査で再現性を確立させるのはほぼ不可能だ。そこで、より典型的な方法は、ELISAに似たSERSサンドイッチ免疫測定を用いることである。

従来のSERSサンドイッチアッセイは、まず抗原特異的な抗体を金の固体基板に固定させる。そして、SERSナノ粒子を、同じ抗体と高ラマン活性レポーター分子で機能化させる。その後、基板へのサンプル注入、ナノ粒子の添



**図5** ブリティッシュ・コロンビア大でバイオストリーム・ダイアグノスティクス社の磁気SERSアッセイを評価するヤエル・ニコール・スレイヴィン氏。

加、洗浄、レーザ照射という4ステップの処理を行う。サンプルにウイルス抗原が含まれていれば、それがリンカーとして機能し、機能化されたナノ粒子と基板が結合し、レポーター分子のラマンスペクトルが検出される<sup>(4)</sup>。このプロセスは非常に強力だが、洗浄ステップでマイクロ流体機能が必要であるため、現場での配置には限界がある。また、唾液は粘度が高いため、非侵襲的な検査はさらに困難となる。

カナダのバイオストリーム・ダイアグノスティクス社(Bio-Stream Diagnostics)は、固体基板を常磁性ナノ粒子(PMP)に置き換えたSERS免疫測定法を開発している。このアプローチでは、システムの複雑性が劇的に改善される。なぜなら、金ナノ粒子(AuNP)とPMPと同じ溶液中に保存できるためマイクロ流体が不要になり、唾液サンプルをバイアルに入れて攪拌し、磁場を利用して濃縮できるからである。**図4**に、バイオストリーム社のサンドイッチアッセイの模式図を示す。ここでは、PMPを持つ抗体と、レポーター分子と共に結合しているAuNPとの間にSARS-CoV-2抗原が挟まる。

**図5**は、カナダのブリティッシュ・コロンビア大(University of British Columbia)感染症学部の大院生で、バイオストリーム・ダイアグノスティクス社の研究チームの一員であるヤエル・ニコール・スレイヴィン氏(Yael Nicole Slavin)が、サンドイッチアッセイが含まれるエッペンドルフチューブにサンプルをピペットティングしている実験装置である。スレイヴィン氏の装置では、サンドイッチアッセイが含まれるチューブはネオジム磁石の真上に保持され、ナノ粒子は底に凝集する。その結果得られるペレットを、モジュール式のラマン装置で分析する。この装置は、米インフォトニクス社

(InPhotonics)の光ファイバラマンプロープ、米イノベータイプ・フォトニックソリューションズ社(Innovative Photonic Solutions)の785nm波長の安定化ダイオードレーザ、オーシャンインサイト社(Ocean Insight)の温度制御分光計から構成される。

このアッセイは、スレイヴィン氏の指導教官であるオラシオ・バッハ氏(Horacio Bach)が開発したSARS-CoV-2特異的な特許抗体を使って作られた。バッハ氏は、バイオストリーム・ダイアグノスティクス社のシニアリサーチサイエンティストで、ブリティッシュ・コロンビア大のIIRCプロテオミック・抗体エンジニアリング施設の非常勤教授・マネージャーである。未発表だが、彼らの研究成果には多くの期待が寄せられている。バイオストリーム・ダイアグノスティクス社は現在、カナダ全土のPCR検査施設に展開するため、POCラマンシステムのプロトタイプ5台の開発を依頼しており、比較データの収集を始めている。

透明性のため、本稿の著者は現在バイオストリーム・ダイアグノスティクス社の研究・エンジニアリングチームのコ

ンサルタントを務めていることをここに記載する。上記の未発表結果も把握している。

## 最後に

今回は簡潔にするため、COVID-19検査におけるフォトニクス応用に焦点を絞った。しかし、UV-C殺菌システム<sup>(5)</sup>、<sup>(6)</sup>から光線力学的療法<sup>(7)</sup>まで、COVID-19対策の他の多くの側面においてもフォトニクスは重要な役割を果たしていると知ることは重要である。SARS-CoV-2ゲノムの初期シーケンスは、蛍光ベースのDNAシーケンシングがなければ不可能だっただろう。ジーン・フランソワ・マソン氏とのやり取りの中で、彼は「15年前は配列を解読するのに数週間かかり、25年前では数年かかった」と指摘する。さらにマソン氏は、「次世代シーケンサーがあつたからこそ、ワクチンや治療などの緩和策によって迅速に対応できた」と述べる。このように、フォトニクスが現在のパンデミックに対する次世代技術を可能にするだけでなく、近い将来には病原体に対抗する上で重要な役割を果たすことは間違いないだろう。

## 参考文献

- (1) L. J. Carter et al., ACS Cent. Sci., 6, 5, 591-605 (2020).
- (2) R. Chimenti, "Laser-based point-of-care testing and biomodulation therapy have a bright future," Laser Focus World, 56, 8, 30-32 (Aug. 2020); <https://bitly/LFW-Chimenti>.
- (3) A. Djailleb et al., ChemRxiv (2020); <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.12118914.v1>.
- (4) R. Thomas, K. A. Bakeev, M. Claybourn, and R. Chimenti, Spectroscopy, 28, 9, 2-8 (2013).
- (5) Y. Gerchman, H. Mamane, N. Friedman, and M. Mandelboim, J. Photochem. Photobiol. B: Biol., 212, 112044 (2020).
- (6) M. G. Strakhovskaya, G. A. Meerovich, A. N. Kuskov, S. A. Gonchukov, and V. B. Loschenov, Laser Phys. Lett., 17, 9, 093001 (2020).
- (7) N. Kipshidze, N. Yeo, and N. Kipshidze, Nat. Photonics, 14, 11, 651-652 (2020).

## 著者紹介

ロバート・V・キメンティは現在、米RVCフォトニクス社(RVC Photonics LLC)の取締役であり、米ローワン大(Rowan University)物理天文学部の専任講師も務める。米デイトン大(University of Dayton)で物理学、フォトニクス、経営学の学士号を取得し、さらに電気光学の修士号を取得了した。光学とフォトニクスの分野で20年近くのキャリアを持ち、主に振動分光を中心に新しいレーザと分光アプリケーションの開発に注力している。また、分析化学・分光学会連合(FACSS)にも深く関与しており、毎年開催されるSciX会議のワークショップ議長を数年間務めており、2021年のSciX会議では実行委員長に就任予定である。