

# WIDE-MIP 顕微鏡による 次のレベルのウイルス検出

ジャスティン・マーフィー

ウイルスを迅速かつ正確に検出することは、文字通り生死を分けることになる。研究者はこれを念頭に置き、サンプル調整と緊急対応を支援するための中赤外光熱顕微鏡システムを開発した。

米ボストン大(Boston University)の研究チームは、生体ナノ粒子のフィンガープリント分析を行う広視野干渉デフォーカス強調中赤外(mid-IR)光熱(WIDE-MIP)顕微鏡を開発した(図1)。研究者らが考えた論理的な枠組みは、さまざまなサイズの単一ナノ粒子の焦点を外した干渉光熱画像を計算し、粒子の公称焦点位置に対する最適中赤外光熱検出焦点位置を提供するというものである。

本システムは100nmのポリメチルメタクリレート粒子の振動検出が従来の走査法と同程度のS/N比で、しかも従来法より3ケタ高いスループットであることが実証された。

本研究を率いたボストン大フォトニ

クス・光電子工学のムスターカス首席教授であるジーシン・チェン氏(Ji-Xin Cheng)は、「赤外波数を調整するだけで、ハイパースペクトル画像から単一のウイルスのWIDE-MIPスペクトルを取得できる」と話す。

光熱シグナルは可視光ビーム強度の変調であるため、明るい光のコントラストを最大化すれば理想的な中赤外光熱コントラストを得られると広く信じられている。しかし、干渉中赤外光熱顕微鏡では当てはまらないと、チェン氏は述べる。この場合、シグナルは、粒子によって散乱する光子と、基板に反射する参照視野との相対位相に強く依存する。

チェン氏は、「その代わりに、対物レ

ンズの焦点距離を微調整することで、デフォーカス干渉イメージングはMIPコントラストを大幅に改善できることを見いだした」と話す。

## 課題に正面から向き合う

チェン氏は、彼のチームによる長年の研究プロジェクトの動機を引き合いに出し、「迅速かつ正確にウイルスを検出するツールの開発が急務だ」と述べる。「我々は長い歴史の中で、インフルエンザ、SARS、黄熱病など、あらゆる種類のウイルスのパンデミックに苦しんできた。そして、COVID-19パンデミックの最中である2022年初頭には、新たな世界的脅威としてサル痘(エムボックス)が出現した」。

現在使われているウイルス診断検査は、一般的に核酸または表面タンパク質の検出を原理としている。この課題をより困難なものにしている理由として、ウイルス粒子が非常に小さいというだけでなく、チェン氏によれば、「化学成分の存在量が少ないことも挙げられる。例えば、1個の水疱性口内炎ウイルスがもつタンパク質は約5000個しかない」という。

通常、1個のウイルス粒子に含まれるウイルス核酸の量は、ウイルスタンパク質の量よりも少ない。ウイルス核酸の検出は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)のようなシグナル増幅技術がな

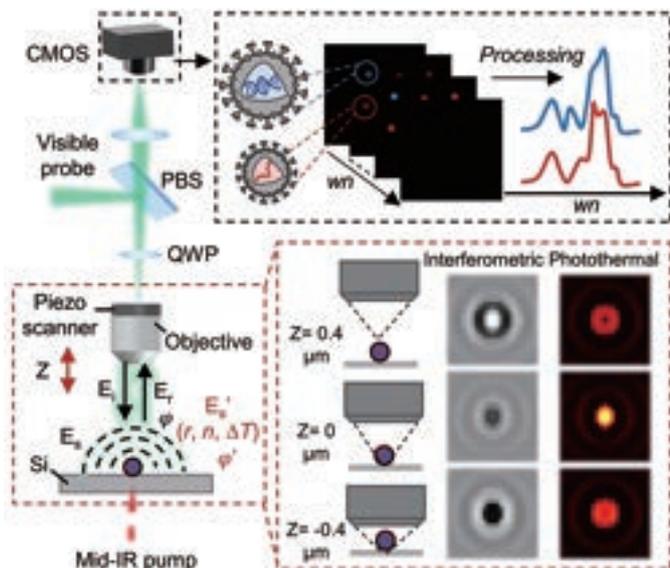


図 1 WIDE-MIP 顕微鏡の概要と原理

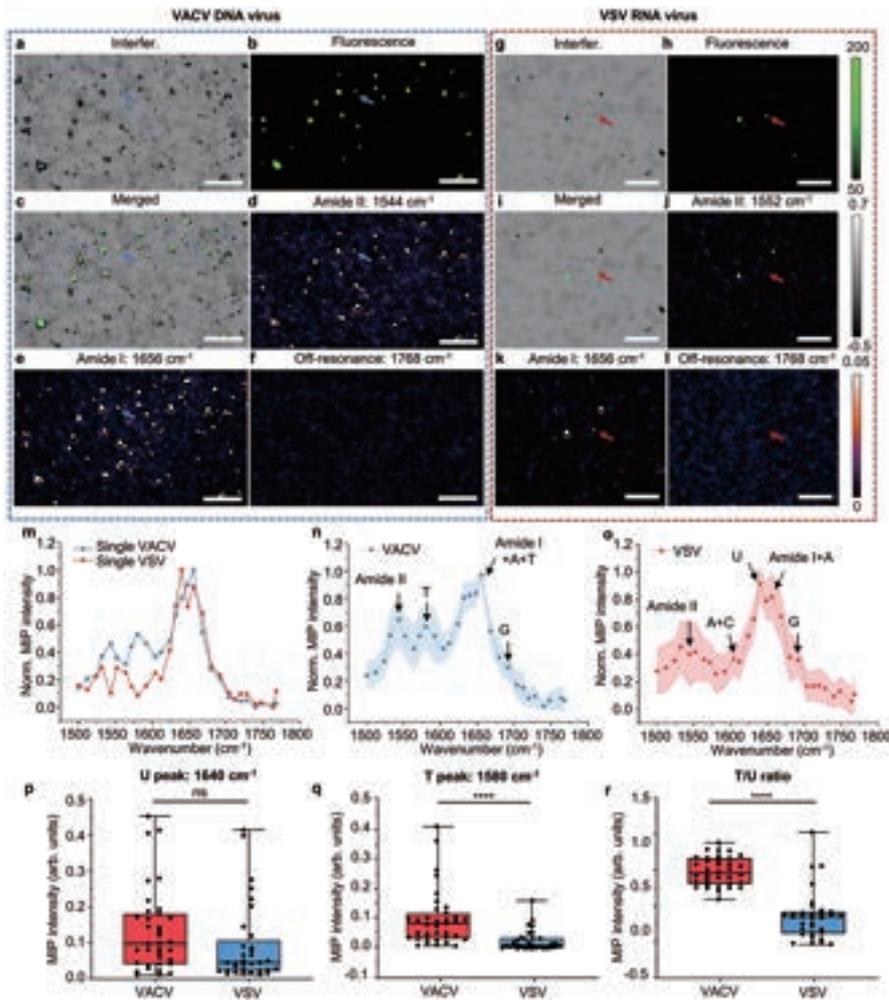


図2 個々の牛痘(VACL)と水痘性口内炎ウイルス(VSV)のフィンガープリント検出

ければ難しい。

チェン氏は、「核酸増幅検査や抗原迅速診断検査(RDT)は正確な検査結果を提供できるものの、大量のウイルス粒子の前処理、注出、タグ付けを必要とするため、時間がかかってしまう」と説明する。「注目すべきは、患者が回復したり培養できないウイルスであったりしても、患者検体からの残存ウイルスRNAを検出可能であることだ。このように、PCRとRDTは初期段階では非常に有効かもしれないが、最終的にはコインの裏表のようなものだ」。

従来の光学的検出法も、臨床診断の価値がある可能性を示している。単一ウイルスの追跡やウイルス感染研究、

臨床への応用の実証に用いられているものに干渉顕微鏡がある。しかし、これらの方法にはウイルスの分子情報が欠けている。ウイルスの構造や機能には化学的な要素が重要なのだ。ウイルス感染を確認して誤診を減らすためには、構造を保ったままの無傷なウイルスを同定できる、新たな補完的手法が不可欠となる。

数年前、チェン氏らのチームは超高速度化学イメージング用の広視野中赤外光熱顕微鏡を開発した。しかし、検出感度には限界がある。チェン氏は、「既存の広視野中赤外光熱顕微鏡では、単一のウイルスナノ粒子を検出して精密なスペクトル分析を行うための要件を

満たすことができなかった」と話す。

その後、ボストン大の研究者らは、注目すべき改良に成功している。

強化されたWIDE-MIP顕微鏡は新たな主要機能である高度な組成検出、つまり単一のウイルス中のウイルス核酸とタンパク質の組成を同定する性能を特長としている。新たな顕微鏡は、サンプルの吸収ピークを識別し、DNA・RNAウイルス内のウイルスタンパク質や核酸に関する特定の情報を明らかにする。また、ウイルスの構成成分や化学組成に関する重要な詳細も明らかにできる。

チェン氏は、「WIDE-MIPは、DNAウイルスとRNAウイルスの識別が可能である」と話す。「これにより、ウイルスベクターを理解したり、ウイルス性疾患をスクリーニングしたりするための新たな道をもたらし得る」。

研究チームによると、WIDE-MIPイメージングがもたらすもう1つの道は、タンパク質がどのように機能するかという知見だという(図2)。ウイルスの構造組成に関する重要な詳細を明らかにすることができる。例えば、水痘や帯状疱疹の原因である水痘帯状ヘルペスウイルスのタンパク質は、いくつかの骨格水素結合が横方向に連結しているβシート-β鎖が豊富にあり、全体的にねじれて折り目のあるβシートを形成している。

チェン氏は、「この情報は、ウイルス粒子の組み立てやウイルス活性におけるタンパク質の機能を解明するのに役立つ可能性がある」と話す。

WIDE-MIP技術はハイスループット分析を可能にする。研究者は、既存の手法と比較してスループットが「飛躍的に向上している」ことを発見したと、チェン氏は走査MIPシステムを引き合いに出して述べる。WIDE-MIP顕微鏡

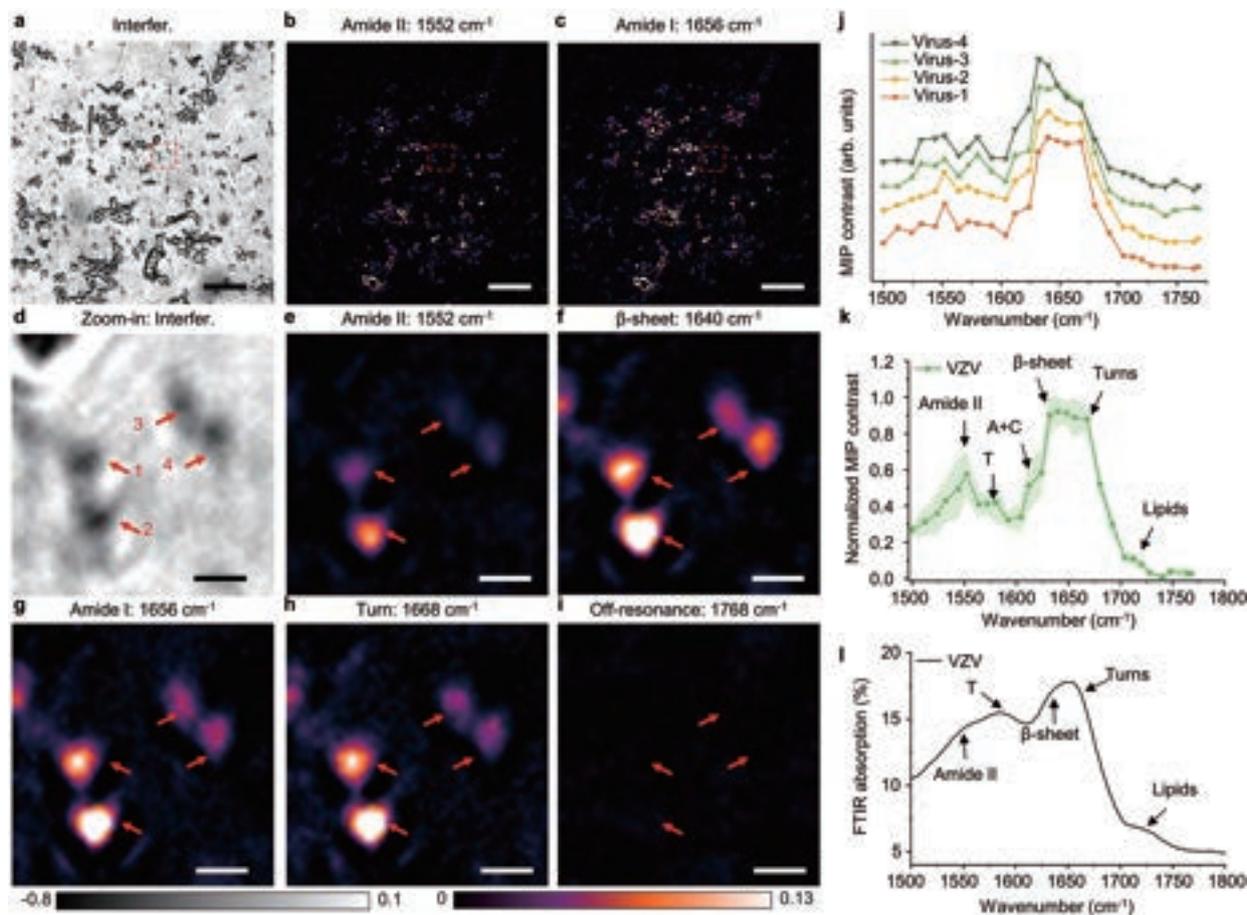


図3 単一の痘帯状ヘルペスウイルス(VZV)のタンパク質の2次構造の同定

の帯域幅は従来のものより3ケタ広く、ウイルス研究において臨床と研究の両方に応用できる強力なツールとなる(図3)。

### 準備に向けた鍵

WIDE-MIPシステムは開発当初から大きく進歩しているが、ボストン大のチームには、リアルワールドの現場で使われるようになるまでに取り組むべきことがある。

ウイルスを検出・分析するWIDE-MIP顕微鏡は、現在まだ研究開発段階にある。チェン氏は、商業化に向けて研究チームは道を模索していると述べる。例えば、本技術の信頼性や堅牢性のさらなる検証、製造と流通のスケールアップ、実用的な臨床・診断用途

への適応などがある。

チェン氏は、「我々の技術は非常に有望であり、すでにウイルス分析において大きな進歩を示している」と話す。「しかし、実際の製品になるまでには時間がかかるかもしれない」。

現在、研究者らは、複雑な臨床サンプル、マイクロ流体工学、そして血清のような複雑な媒質中に含まれる特定のウイルスを固定化するための抗体修飾基質に関する懸念事項に取り組んでいる。橋渡し応用では、臨床サンプルを扱う場合、より広い視野が望まれる。現在のWIDE-MIPの構成では、IRポンプビームの焦点が緩く、IR出力密度の制限によって有効なイメージング視野(~50μm)が得られないと、チェン氏は説明する。

このような限界に対処するため、高エネルギーをもつより強力なIRレーザと、より長い焦点距離をもつIR集光光学系を用いることで、視野を拡大できることをチームは発見した。

チェン氏は、「WIDE-MIPの今後の改良点は、液体状態でのウイルスやエクソソームのフィンガープリントにも焦点を当て、生体ナノ粒子サンプルを自然な状態で検出できるようにすることだ」と話す。そして、ウイルスを捕獲して液体測定における画像コントラストを向上するために設計された基板とマイクロ流体システムを統合することで達成できると付け加える。「これにより、リアルワールドの応用に向けてWIDE-MIPの可能性が広がるだろう」。