

講演番号：2A20a07

講演日時：3月16日 10:16～ 共通講義棟北 A20 会場

新規糖鎖微粒子を用いたウマインフルエンザウイルスの高感度検出

Sensitive detection of equine influenza virus using novel glyco-particulates

○尾形 慎<sup>1</sup>、山中 隆史<sup>2</sup>、相田 玲奈<sup>1</sup>、谷地 赳拓<sup>1</sup>、山内 紀子<sup>1</sup>、大坪 忠宗<sup>3</sup>、池田 潔<sup>3</sup>、加藤 竜也<sup>4</sup>、朴 龍洙<sup>4</sup>、左 一八<sup>5</sup>(<sup>1</sup>福島高専・化学バイオ、<sup>2</sup>JRA 総研、<sup>3</sup>広島国際大・薬、<sup>4</sup>静岡大・グリーン科技研、<sup>5</sup>会津大・短)

○Makoto OGATA<sup>1</sup>, Takashi YAMANAKA<sup>2</sup>, Rena AITA<sup>1</sup>, Takehiro YACHI<sup>1</sup>, Noriko YAMAUCHI<sup>1</sup>, Tadamune OTSUBO<sup>3</sup>, Kiyoshi IKEDA<sup>3</sup>, Tatsuya KATO<sup>4</sup>, Enoch Y. PARK<sup>4</sup>, Kazuya I.P.J. HIDARI<sup>5</sup> (<sup>1</sup>NIT Fukushima College, <sup>2</sup>JRA, <sup>3</sup>HIU, <sup>4</sup>Shizuoka Univ., <sup>5</sup>Aizu Univ.)

## 【目的】

ウマインフルエンザウイルス (EIV) は、ウマの呼吸器細胞表面に存在するウマに特異的な *N*-グリコシルノイラミン酸 (Neu5Gc) 含有シアロ糖鎖に結合することで感染に至る。近年我々は、納豆菌が産生する  $\gamma$ -ポリグルタミン酸を高分子骨格に用いることで、EIV に対して特異的かつ強力に結合可能な Neu5Gc 含有人工糖鎖ポリペプチドの合成に成功している<sup>1)</sup>。本研究では、この Neu5Gc がクラスター化された糖鎖高分子を利用することで EIV を選択的に吸着濃縮可能な新規糖鎖固定化微粒子の合成を目的とした。さらに、本糖鎖微粒子を用いて、実際の実験感染馬から得られた鼻腔スワブ中のウマインフルエンザウイルスを特異的かつ簡便に吸着濃縮可能かを評価した。

## 【方法・結果】

初めに、平均糖鎖導入率を 20%程度に調製した Neu5Gc $\alpha$ 2,3LacNAc 含有人工糖鎖ポリペプチドの残存するカルボキシ基とデシルアミンとを縮合反応することでデシル基の導入を行った。本反応により、ポリペプチド骨格内に EIV に結合親和性を有する糖鎖分子が 20%程度とデシル基が 30%程度の割合で導入された疎水化糖鎖ポリペプチドの合成に成功した。続いて、本疎水化糖鎖ポリペプチドと直径が 1  $\mu$ m 程度で表面がヘキシル基で覆われた疎水化有機シリカ微粒子とを溶液中で混合することで、微粒子表面上への糖鎖ポリペプチドの固定化を試みた。結果として、本微粒子と糖鎖ポリペプチドとを 30%DMSO 水溶液中で混合するだけで、疎水相互作用に基づく糖鎖ポリペプチドの固定化が可能であった。なお、本糖鎖微粒子の構造確認は、シアル酸結合性レクチンとの相互作用解析や走査型電子顕微鏡観察、物性評価などによって行った。

最後に、実験的に EIV を感染させた 4 頭のウマより経時的に得られた鼻腔スワブを用いて、本糖鎖微粒子による吸着濃縮処理前後の EIV 特異遺伝子量の変化をリアルタイム PCR により評価した。その結果、全頭の感染後の鼻腔スワブにおいて、本処理後では明らかな EIV 特異遺伝子量の増加が見られ、本処理による EIV 検出の感度向上が示唆された。

## 【参考文献】

- 1) Ogata M, Koizumi A, Otsubo T, Ikeda K, Sakamoto M, Aita R, Kato T, Park EY, Yamanaka T, Hidari KIPJ. *Biosci Biotechnol Biochem.* 81, 1520-1528 (2017).

glyco-particulate, influenza virus, sensitive detection

発表責任者：尾形慎 (ogata@fukushima-nct.ac.jp)