

ヒト感染性の即時鑑別のための 糖鎖機能化グラフェンを用いたインフルエンザウイルス検出 Detection of influenza virus using sialoglycan-functionalized graphene field-effect transistors for rapid discrimination of human infectivity

阪大産研¹、徳島大²、東京農工大³、京都府立医大⁴、中部大⁵、香川大⁶

○川田 拓哉¹、小野 堯生¹、金井 康¹、大野 恭秀^{1,2}、前橋 兼三^{1,3}、井上 恒一¹、
渡邊 洋平⁴、河原 敏男⁵、鈴木 康夫⁵、中北 慎一⁶、松本 和彦¹

ISIR, Osaka Univ.¹, Tokushima Univ.², TUAT³, KPUM⁴, Chubu Univ.⁵, Kagawa Univ.⁶

○ T. Kawata¹, T. Ono¹, Y. Kanai¹, Y. Ohno^{1,2}, K. Maehashi^{1,3}, K. Inoue¹,

Y. Watanabe⁴, T. Kawahara⁵, Y. Suzuki⁵, S. Nakakita⁶ and K. Matsumoto¹

E-mail: kawata11@sanken.osaka-u.ac.jp

近年、日本でも相次いで高病原性鳥インフルエンザの感染例が報告されており、当該のインフルエンザウイルス(IFV)が変異によってヒト感染性を得た際の世界的流行(パンデミック)が危惧されている。IFVの感染性は、細胞表面のシアロ糖鎖へのウイルスの結合能によって決まり、変異IFVは鳥・ヒト両細胞のシアロ糖鎖に結合する。よって、変異IFVによるパンデミックを阻止するには、ウイルスのヒト型糖鎖への結合性を高感度・迅速に鑑別する技術が必要である。我々は、ウイルスなどの表面電荷に鋭敏に応答するグラフェン電界効果トランジスタ(G-FET)上にシアロ糖鎖を修飾し、細胞表面と同様の結合選択性を付与する(糖鎖機能化する)ことで、感染機構そのものに立脚した鑑別法を構想している(Fig. 1)。ここでは、ヒト型糖鎖機能化 G-FET を用いて、ヒト感染性の H1N1 型 IFV (A/Suita/117/2011)の検出を試みた。

まず初めに光干渉を利用した分子間相互作用解析装置(BLItz®, Pall ForteBio LLC)により、IFV とヒト型糖鎖が特異的に結合することを確認した [Fig. 2 (a)]。次にこれと同様の測定条件で G-FET での検出実験を行った。G-FET に 1 ピレンブタン酸スクシンイミジルエステルを介して糖鎖を修飾した後、IFV を滴下して、G-FET の伝達特性変化を計測した[Fig. 2 (b)]。IFV の滴下後にはホール電流の増大が見られた。この結果は、ウイルス表面が今回の実験条件(pH 7.4)では負に帯電していること、G-FET 上の糖鎖にウイルスが結合したことによってホールが誘起されたことを示唆しており、糖鎖機能化 G-FET によってウイルス検出が出来る可能性を示している。今後、ウイルス結合時の塩濃度や結合時間などの測定条件を検討して高感度化を計るとともに、ヒト型糖鎖と併せて鳥型糖鎖を使用することで、ヒト及び鳥への感染性の有無の鑑別を試みる。

【謝辞】 本研究は、JST・CREST の支援を受けた。

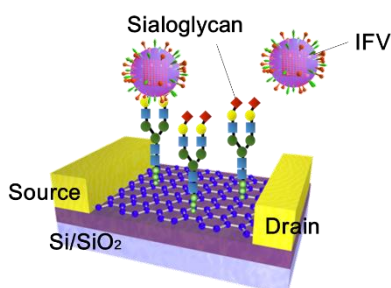


Fig. 1: Schematics of sialoglycan-functionalized graphene FET for the detection of IFV.

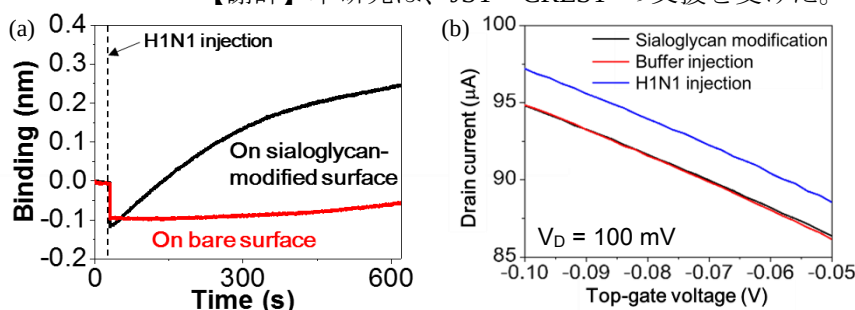


Fig. 2: Binding assay for H1N1 IFV (concentration: 819.2HAU) and human-type sialoglycan in phosphate buffered saline (150 mM, pH 7.4). (a) H1N1 binding on BLItz sensor chip with sialoglycan modification (black line) and without modification (red line). (b) Transfer characteristics of G-FET after sialoglycan modification (black line), buffer injection as a negative control (red line) and H1N1 injection (blue line).