

BSA 固定化 SGP とインフルエンザウイルスの結合活性の評価

Binding activity of SGP modified BSA to influenza viruses

¹中部大、²香川大、³京都府医大、⁴徳島大、⁵東京農工大、⁶阪大産研

○河原敏男¹、平松宏明¹、大海雄介¹、鈴木康夫¹、林京子¹、中北慎一²、渡邊洋平³、
大野恭秀⁴、前橋兼三⁵、小野堯生⁶、金井康⁶、松本和彦⁶

¹Chubu Univ., ²Kagawa Univ., ³KPUM, ⁴Tokushima Univ., ⁵TUAT, ⁶Osaka Univ.

○T. Kawahara¹, H. Hiramatsu¹, Y. Ohmi¹, Y. Suzuki¹, K. Hayashi¹, S. Nakakita², Y. Watanabe³,
Y. Ohno⁴, K. Maehashi⁵, T. Ono⁶, Y. Kanai⁶, K. Matsumoto⁶

E-mail: toshi@isc.chubu.ac.jp

はじめに: インフルエンザは人獣共通感染症であり、その原因ウイルスは非常に変異しやすい。そこで、早期の感染制御・対策を実現するためには、感染性を含めた早期変異を検出する超高感度センサーが求められる。我々は、これをグラフェン電界効果トランジスタを用いた電氣的検出で実現することを目的に研究を進めている。インフルエンザウイルスがヒト・鳥のどちらに感染するかは、ウイルスタンパク質ヘマグルチニン(HA)の結合相手である宿主細胞表面の糖鎖におけるシアル酸(Sia)の結合位置の差(ヒト型受容体: Sia α 2-6Galactose、鳥型受容体: Sia α 2-3Galactose)に依存している。さらに、糖鎖の違いにより生体中の反応自体が影響を受けるため、複数の糖鎖での反応性評価を行い、検出分子系として適当な糖鎖分子の探索を行っている。本発表では、Sialylglycopeptide (SGP)での反応性のばらつきを抑えるため、糖鎖を持たないタンパク質であるBSA (Bovine serum albumin)への固定化を検討した結果について述べる。

実験: 評価系はELISAを用いた。糖鎖分子として、シアロ糖鎖ポリマー及びBSA固定化SGPを用い、1000~16 ng/mlの濃度でプレート上に展開した後、ヒトおよび鳥由来ウイルスとして各々A/California/07/2009 (H1N1)を64HAU、A/mallard/Hokkaido/24/2009 (H5N1)を24 HAUの濃度で滴下した。そして、ウイルス抗体と発色分子を結合させて分光光度計で評価した。

結果: 図1にシアロ糖鎖ポリマー及びSGP-BSAとウイルスの反応に対する吸光度を示す。図で赤線はヒト型受容体、青線は鳥型受容体への結合性を示す。ヒト型ウイルスに対して、2-6配位の糖鎖の反応性が高い。シアル酸の数はSGP-BSAの方が少ないが、同様の吸光度を示した。これは、ウイルスとの反応に対してBSA固定化で効率が良くなった結果と考えられる。また、SGP-BSAではSGP単独に比べてばらつきが小さくなっていて、糖鎖プローブの安定化に成功したと言える。今後、糖鎖とウイルスの反応状態を調べる予定である。

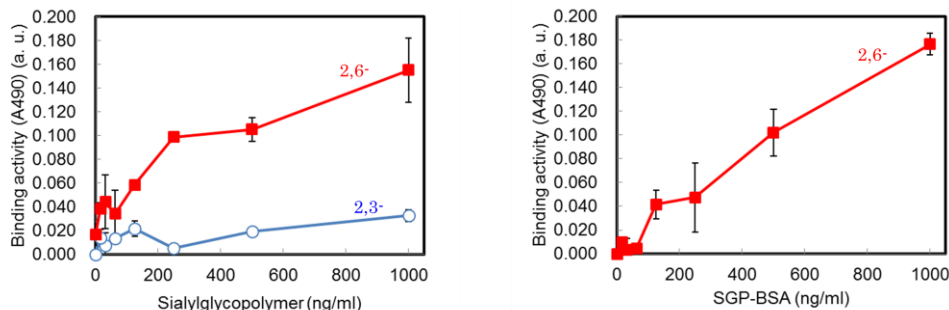


図1 : A/California/07/2009 (H1N1)と糖鎖の反応

謝辞：本研究の一部は、科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業、及び、物質・デバイス領域共同研究拠点の支援を受けた。