

22PO-am262

BSA 固定化糖鎖を用いたレセプター糖鎖高密度化によるインフルエンザウイルス検出感度向上の試み

平松 宏明¹, ○河原 敏男¹, 大海 雄介¹, 鈴木 康夫¹, 中北 愼一², 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 (¹中部大生命, ²香川大
医, ³京都府立医大医, ⁴徳島大工, ⁵東京農工大院工, ⁶阪大産研)

[はじめに] インフルエンザウイルスは変異しやすく、早期の感染防御対策を実現するためには、その変異を検出することができる超高感度センサーの開発が求められている。現在、我々はこの検出系に、グラフェン電界効果トランジスタ(FET)を用いた電気的な検出系で実現することを目指し研究を進めている。インフルエンザウイルスがヒトと鳥のどちらに感染するかは、ウイルス表面のヘマグルチニン(HA)が、細胞表面の糖鎖構造の違い(ヒト:2-6型、鳥:2-3型)を認識することにより決定される。

我々はこのFETによる変異検出系の評価として、シアロ糖鎖ポリマーを用いたELISAにより比較検討を行なっているが、今回は検出感度向上を目指し、糖鎖を密集化させる目的でBSAに糖鎖を固定化したものを合成し、インフルエンザウイルスの反応性について調べた。

[方法] 段階希釈した糖鎖分子(シアロ糖鎖ポリマーおよびBSA結合糖鎖)をプレート上に固相化し、ブロッキングの後、ヒト型ウイルスとしてA/California/7/2009(H1N1)、鳥型ウイルスとしてA/mallard/Hokkaido/24/2009(H5N1)を吸着させた。その後、結合したウイルスをホルマリンで固定後、ウイルス特異的な抗体を用いて結合量を測定した。

[結果と考察] シアロ糖鎖ポリマーおよびBSA結合糖鎖をインフルエンザウイルスと反応させたとき、いずれの糖鎖に対しても、鳥型ウイルスでは、2-3型糖鎖と強く反応し、ヒト型ウイルスについては2-6型糖鎖と強く反応していた。

また、シアリルラクトサミンについて、糖鎖単体と比較して、ポリマーでは2倍程度、BSA固定化糖鎖では3倍程度反応性が上昇していた。これはポリマーやBSAといった足場に糖鎖を固定化することにより、糖鎖が密集したクラスター構造を作り、ウイルスとの反応性が高くなったものと思われる。