

ルス (5株) (H1N1, H3N2, H5N3, H9N2亜型) のMDCK 細胞への感染を23.0-97.5% 阻害した。また、インフルエンザウイルスが持つレセプター破壊酵素活性 (シアリダーゼ活性) も阻害した (IC50=9.5-212.1 ug/ml)。酵素反応速度論による阻害様式は、mixed typeの阻害であった。さらに、インフルエンザウイルスのヘマグルチニンスパイクに作用し、ウイルスのレセプター (シアル酸2-3Gal, シアル酸206Gal) への結合活性を阻害した。

6. ヒトから分離されるインフルエンザウイルスは通常Nアセチルノイラミン酸含有の糖鎖と結合するが、ある株はNグリコリルノイラミン酸をも認識出来る。我々は、H3インフルエンザウイルスヘマグルチニン分子内においてNグリコリルノイラミン酸を認識するアミノ酸の同定に成功した。リバーズジェネティクスの手法により、野生株 (A/Memphis/1/71) (H3N2) のHA遺伝子を改変し、いくつかのアミノ酸点置換変異ヘマグルチニンを持つウイルス粒子を作製し、化学合成シアロ糖脂質への結合得意性を調べた。その結果、Thr155TyrおよびGlu158Glyの変異がNグリコリルノイラミン酸の認識に重要であることを見出した。
7. シアリル α -2-3ラクトース糖鎖 (Neu5Ac α -2-3Gal β -1-4Glc)を持つカルボシランデンドリマーを合成した。これらは、インフルエンザウイルスの感染、赤血球凝集、溶血などの活性を阻害することを見出した。
8. インフルエンザウイルスヘマグルチニンのレセプター結合特異性およびシアロ糖鎖とヘマグルチニン分子との立体的3次元相関を研究する上でのFragment Molecular Orbital法の有用性を明らかにした。

D. 考察

今回、プロトタイプを試作構築を達成した鳥およびヒトインフルエンザウイルスレセプター認識特異性監視キットは、高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)と特異的に結合するシアロ糖鎖レセプターNeu5Ac α -2-3Gal β -1-4GlcNAc)含有ポリグルタミン酸ポリマーおよびそれがヒト上気道や肺に存在するヒト型レセプター(Neu5Ac α -2-6Gal β -1-4GlcNAc)含有ポリグルタミン酸ポリマー (いずれも化学合成)を用いて、各々に特異的に結合したウイルスをウイルスヘマグルチニン抗体 (抗H5モノクローナル抗体)により高速、高感度に検出するものである。15分以内に結果を目視できる。今後、この技術をさらに高度化し、これを高病原性トリインフルエン

ザウイルスの変異監視体制構築へと応用する。これには国際的な協力および利用が必要であり、その準備を始めた。

E. 結論

高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒト-ヒト間伝播可能な変異を高価な機器、複雑な操作なしで高速、高感度に検出する技術のプロトタイプを達成した。さらに感受性動物の標的組織 (今回、ネコ、イヌの肺、ニワトリ赤血球など)における高病原性鳥インフルエンザウイルスレセプターシアロ糖鎖 (N-グリカン)の精密構造を明らかにした。また、新しい抗インフルエンザウイルス感染阻害、ウイルスノイラミナーゼ阻害剤を見出した。今後、これらの成果を実用化し、新型インフルエンザ対策へ応用する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nobuhiko Takemae, Ruttapong Ruttanapumma, Sujira Parchariyanon, Shuji Yoneyama, Tsuyoshi Hayashi, Hiroaki Hiramatsu, Nongluk Sriwilaijaroen, Yuko Uchida, Sachiko Kondo, Hirokazu Yagi, Koichi Kato, Yasuo Suzuki, Takehiko Saito: Alterations in receptor binding properties of swine influenza viruses of H1 subtype after isolation in embryonated chicken eggs. *J. gen. Virol.*, in press, doi: 10.1099/vir.0.016691-0 (Dec. 9th, 2009)
2. Tadanobu Takahashi, Asako Hashimoto, Mami Murayama, Hideharu Ishida, Makoto Kiso, Yoshihiro Kawaoka, Yasuo Suzuki, Takashi Suzuki: Identification of amino acid residues of influenza A virus H3 HA containing to the recognition of molecular species of sialic acid. *FEBS Lett.* Doi: 10.1016/j.febslet.2009.08.037
3. Nongluk Sriwilaijaroen, Prapon Wilairat, Hiroaki Hiramatsu, Tadanobu Takahashi, Takashi Suzuki, Morihiro Ito, Yasuhiko Ito, Masato Tashiro, Yasuo Suzuki: Mechanisms of the action of povidone-iodine against human and avian influenza A viruses: its eff

- ects on hemagglutination and sialidase activities. *Virology Journal*, 6, 124 Open access, doi: 10.1186/1743-422X-6-124 (2009)
4. Hiroyuki Oka, Tomotsune Onaga, Tetsuo Koyama, Chao-Tan Guo, Yasuo Suzuki, Yasuaki Esumi, Ken Hatano, Daiyo Terunuma and Koji Matsuoka: Syntheses and biological evaluations of carbosilane dendrimers uniformly functionalized with sialyl $\alpha(2\rightarrow3)$ lactose moieties as inhibitors for human influenza viruses. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 5465-5475 (2009)
 5. Jun-Ichi Sakamoto, Tetsuo Koyama, Daisei Miyamoto, Sangchai Yingsakmongkon, Kazuya I.P.J. Hidari, Wipawee Janpangern, Takashi Suzuki, Yasuo Suzuki, Yasuaki Esumi, Takemichi Nakamura, Ken Hatano, Daiyo Terunuma, Koji Matsuoka: Systematic synthesis of influenza neuraminidase inhibitors: A series of carbosilane dendrimers uniformly functionalized with thioglycoside-type sialic acid moieties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 5451-5464 (2009).
 6. Kaori Suzuki, Jun-Ichi Sakamoto, Tetsuo Koyama, Sangchai Yingsakmongkon, Yasuo Suzuki, Ken Hatano, Daiyo Terunuma, Koji Matsuoka: Synthesis of sialic acid derivatives having a C=C double bond substituted at the C-5 position and their glycopolymers. *Bioorg. & Biomed. Chem. Lett.*, 19, 5105-5108 (2009)
 7. Sukanya Thongratsakul, Thaweesak Songserm, Chaithep Poolkhet, Sachiko Kondo, Hirokazu Yagi, Hiroaki Hiramatsu, Masato Tashiro, Harue Okada, Koichi Kato, Yasuo Suzuki: Determination of *N*-linked sialyl-sugar chains in the lungs of domestic cats and dogs in Thailand susceptible to the highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) *Open Glycoscience*, 2, 28-36 (2009)
 8. Yasuo Suzuki: The Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 - Initial Molecular Signals for Next influenza Pandemic (Review) *Chang Gung Med. J.*, 32, 258-263 (2009)
 9. Nongluk Sriwilajaroen, Sachiko Kondo, Hirokazu Yagi, Prapon Wilairat, Hiroaki Hiramatsu, Morihiko Ito, Yasuhiko Ito, Koichi Kato, Yasuo Suzuki: Analysis of *N*-glycans in embryonated chicken egg chorioallantoic and amniotic cells responsible for binding and adaptation of influenza viruses. *Glycoconjugate J.*, 26, 433-443 (2009)
 10. Toshihiko Sawada, Tomohiro Hashimoto, Hiroaki Tokiwa, Tohru Suzuki, Hirofumi Nakano, Hideharu Ishida, Makoto Kiso, Yasuo Suzuki: *Ab initio* base fragment molecular orbital studies of influenza viral hemagglutinin HA1 full-domains in complex with sialoside receptors. *J. Mol. Genet. Med.*, 3, 133-142 (2009)
2. 学会発表
 1. Yasuo Suzuki: Current Advances in Highly Pathogenic Avian Influenza Virus - Increased molecular propensity for acquiring human receptor specificity and drug discovery for pandemic influenza - Workshop on Design and Discovery of Drugs against HIV, Dengue Fever and Avian Influenza, 4-6 May, Bangkok, Thailand, Jointly organized by ICS-UNIDO, 2009
 2. Yasuo Suzuki : Highly pathogenic avian H5N1 viruses that acquire human receptor specificity. プロテイン・アイランド・松山 国際シンポジウム 2009 「第7回 無細胞科学松山国際シンポジウム」 (2009)
 3. Yasuo Suzuki: Glycovirology of influenza viruses -Sialosugar chains as receptors of the highly pathogenic avian influenza viruses (H5N1)- The 1st ACGG (Asian Communications of glycobiology and glycotecnology) Conference O-35, 2009 (29th-31st Oct. 2009), OSL (2-12) at AIST Tsukuba Central.
 4. Yasuo Suzuki: Highly pathogenic avian H5N1 viruses that acquire human receptor specificity. 20th International symposium on

glycoconjugates, Scientific program book
pp.32, Dec. 2nd 2009, Nov.29-Dec. 4, Caribe
Hilton Hotel, San Juan, Puerto Rico, USA,
2009

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

