

201011008A

厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業

シュガーチップと糖鎖固定化金ナノ粒子を用いた
ウイルス性疾患の超早期検査・診断法の開発

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 隅田 泰生

平成23年（2011年）4月

目 次

I. 総括研究報告

シュガーチップと糖鎖固定化金ナノ粒子を用いたウイルス性疾患の超早期検査・
診断法の開発

隅田 泰生（鹿児島大学大学院理工学研究科） 1

II. 分担研究報告

糖鎖合成、シュガーチップおよび糖鎖固定化金ナノ粒子の調製
ウイルス濃縮機能を組込んだ超高速 PCR 装置の開発

隅田 泰生（鹿児島大学大学院理工学研究科）
児玉 崇（株式会社ニート） 14

シアル酸含有オリゴ糖鎖の合成に関する研究

石田 秀治（岐阜大学応用生物科学部） 23

HTLV-1 の糖鎖結合性の解析に関する研究

有馬 直道（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科） 27

日本脳炎ウイルス（JEV）の糖鎖結合能に関する研究

馬場 昌範（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科） 32

シュガーチップと糖固定化金ナノ粒子技術を用いた HIV-1 感染症早期診断および
新規予防法の開発

岡本 実佳（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科） 37

表面プラズモンバイオセンサの高感度化と高集積化に関する研究

梶川 浩太郎（東京工業大学大学院総合理工学研究科） 43

ウイルス感染症（HBV、HCV）への応用に関する研究

坪内 博仁（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科） 49

ノロウイルスの高感度、迅速な検出法による院内感染対策への応用

中嶋 一彦（兵庫医科大学） 52

ヘルペスウイルス感染症への応用

奥野 壽臣（兵庫医科大学） 54

糖鎖固定化金ナノ粒子（SGNP）-RT-PCR 法による患者唾液中のインフルエンザウイルス
遺伝子の検出

西 順一郎（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科） 56

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行物・別刷

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
平成 22 年度 総括研究報告書

シュガーチップと糖鎖固定化金ナノ粒子を用いた
ウイルス性疾患の超早期検査・診断法の開発

主任研究者 隅田泰生 鹿児島大学大学院理工学研究科 教授

研究要旨

糖鎖は生体内で多彩な機能を示し、生命現象に不可欠な役割を有する。一方で、細胞表面の糖鎖はウイルスにはレセプターとして使用され、その感染を仲介する。申請者らは糖鎖を固定化したバイオデバイス「シュガーチップ」および「糖鎖固定化金ナノ粒子（SGNP と略）」（右図参照）を開発した。シュガーチップは表面プラズモン共鳴を利用した測定に使用することによって、また SGNP は目視による観測によって、糖鎖が結合する蛋白質や細胞などの対象物との相互作用を無標識で迅速・簡便に測定できるという特徴をもち、すでにインフルエンザウイルスの識別に応用し、それを達成した。本研究では、これらデバイスをさらに改良・統合して、PCR で検出できない極低濃度のウイルスを超早期に検出・診断可能な先端医療技術の開発を行う。本年度は 10 名の分担研究者の協力のもと、以下の成果をあげた。

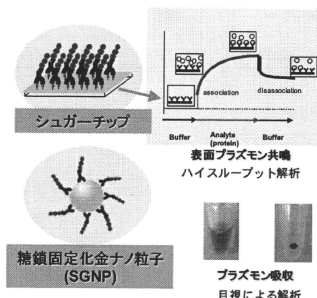


図 1 技術のまとめ

研究班員（括弧内は、分担研究テーマ）

主任研究者：

隅田泰生

鹿児島大学大学院理工学研究科・教授
（糖鎖合成、シュガーチップおよび糖鎖固定化金ナノ粒子の調製）

分担研究者：

奥野 寿臣

兵庫医科大学・准教授
（ウイルス感染症（HSV-1、HSV-2）への応用）

石田 秀治

岐阜大学応用生物科学部・教授
（シアル酸含有オリゴ糖鎖の合成）

有馬 直道

鹿児島大学大学院医学総合研究科・教授
（ウイルス感染症（HTLV-1）への応用）

馬場 昌範

鹿児島大学大学院医学総合研究科・教授
（ウイルス感染症（HBV、HCV）への応用）

岡本 実佳

鹿児島大学大学院医学総合研究科・講師
（ウイルス感染症（HIV）への応用）

梶川 浩太郎

東京工業大学大学院・教授
（局在表面プラズモン共鳴法に基づくファイバー型チップの基本設計）

坪内 博仁

鹿児島大学大学院医学総合研究科・教授
（ウイルス感染症（HBV、HCV）への応用）

児玉 崇（株）ニート

（株）ニート 代表取締役
（ウイルス濃縮機能を組込んだ超高速 PCR 装置の開発）

中嶋 一彦

兵庫医科大学感染制御部・講師
（ウイルス感染症（インフルエンザウイルスおよびノロウイルス）への応用）

西 順一郎

鹿児島大学大学院医学総合研究科・講師

(ウイルス感染症(インフルエンザウイルス)への応用)

本年度の成果は、以下のとおりである。

(1) 糖鎖(硫酸化糖鎖やシアル酸含有糖鎖など)の合成とシュガーチップ(SC)及び糖鎖固定化金ナノ粒子(SGNP)の調製

ウイルスが特異的に結合する糖鎖の探索のためのSC、ならびにそれを用いたSGNPを調製するために、各種糖鎖を合成した。22年度も、多くのウイルスが結合するヘパリン硫酸やコンドロイチン硫酸の部分二糖構造をそれぞれ多量合成し、また糖鎖に対する自己免疫疾患の患者と反応するハイブリッド型ガングリオシドの全合成を達成した。

(2) 多チャンネルファイバー型局在表面プラズモン共鳴測定装置(LSPR)の感度向上

光ファイバー型LSPRと2量体化した金ナノ粒子を用いて、検出限界を従来の1/10~1/100にすることができた。また金の異常反射を用いて、多種の検出対象物質を一度に検出できる高密度タンパク質チップの作成と検出システムを開発した。

(3) ウイルスの超高感度検出と選択的除去法ならびに治療薬開発のためのスクリーニング技術の開発

ウイルスが細胞に感染する第一ステップであるウイルス表面の蛋白質と細胞表面の糖鎖との結合を利用し、ウイルス種や株の判別を超高感度で迅速かつ容易に行う検査技術を確認するための実験を引き続き行った。ヘルペスウイルスに関しては、患者同意の元に脳炎患者の髄液の検査を予試験的にを行い、VZVの存在を確認できた。HCVおよびJEVの結合糖鎖の推定を行った。HIVに関しては、感染性のウイルスについて結合糖鎖の推定を行い、派生的にHIVの新たな治療薬候補を見いだした。さらに、唾を混合した溶液中のHIVを高感度で測定できた。HTLV-1については22年度までに結合糖鎖の同定、その糖鎖を用いた高感度分析まで行った。ウイルス濃縮技術を自動化するために21年度に試作したウイルス自動濃縮機(ロボット)は22年度に製品化まで達成した。

さらに1検体濃縮用の簡易装置を試作した。

研究発表

1. 論文・総説・著書等

- ◆ J.P. Yang, R. Yoshida, Y. Kariya, X. Zhang, S. Hashiguchi, T. Nakashima, Y. Suda, A. Takada, Y. Ito and K. Sugimura, Characterization of human single-chain antibodies against highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses: mimotope and neutralizing activity, *The Journal of Biochemistry*, 148(4), pp.507-515, 2010.
- ◆ E. Wijelath, M. Namekata, J. Murray, M. Furuyashiki, S. Zhang, D. Coan, M. Wakao, R. B. Harris, Y. Suda, L. Wang, M. Sobel, Multiple mechanisms for exogenous heparin modulation of vascular endothelial growth factor activity, *Journal of Cellular Biochemistry*, vol.111(2), pp.461-468, 2010.
- ◆ H. Kariya, Y. Yoshihara, Y. Nakao, N. Sakurai, M. Ueno, M. Hashimoto, Y. Suda, Carboxymethyl-chitin promotes chondrogenesis by inducing the production of growth factors from immune cells, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol.94A(4), pp.1034-1041, 2010.
- ◆ A. Saito, M. Wakao, H. Deguchi, A. Mawatari, M. Sobel, Y. Suda, Toward the assembly of heparin and heparin sulfate oligosaccharide libraries: efficient synthesis of uronic acid and disaccharide building blocks, *Tetrahedron*, 66, pp. 3951-3962, 2010.
- ◆ Okuno T, Hooper LC, Ursea R, Smith J, Nussenblatt R, Hooks JJ, Hayashi K. Role of human herpes virus 6 in corneal inflammation

- alone or with human herpesviruses. *Cornea*. 30: 204-207, 2011.
- ◆ Tamai, H., Ando, H., Tanaka, H., Hosoda-Yabe, R., Yabe, T., Ishida, H. and Kiso, M.: The total synthesis of the neurogenic ganglioside LLG-3 isolated from the starfish *Linckia laevigata*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 50, 2330-2333, 2011.
 - ◆ Abdu-Allah, H.H.M., Watanabe, K., Completo, G.C., Sadagopan, M., Hayashizaki, K., Takaku, C., Tamanaka, T., Takematsu, H., Kozutsumi, Y., Paulson, J.C., Tsubata, T., Ando, H., Ishida, H. and Kiso, M.: CD22-Antagonists with nanomolar potency: The synergistic effect of hydrophobic groups at C-2 and C-9 of sialic acid scaffold. *Bioorg. Med. Chem.*, 19, 1966-1971, 2011.
 - ◆ Nakashima, S., Ando, H., Imamura, A., Yuki, N., Ishida, H. and Kiso, M.: A first total synthesis of a hybrid-type ganglioside associated with amyotrophic lateral sclerosis like disorder. *Chem. Eur. J.*, 17, 588-597, 2011.
 - ◆ Sadagopan, M., Sriwilaijaroen, N., Vats, S., Ando, H., Miyagi, T, T., Suzuki, Ishida, H. and Kiso, M.: Investigation of 2-fluoro benzoic acid derivatives as influenza A viral sialidase selective inhibitors. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, 9, 198-204, 2010.
 - ◆ Sadagopan, Magesh, Moriya, S., Suzuki, T., Miyagi, T., Ishida, H. and Kiso, M.: Use of structure-based virtual screening in the investigation of novel human sialidase inhibitors. *Med. Chem. Res.*, 19, 1273-1286, 2010.
 - ◆ Kozako T, Akimoto M, Toji S, White Y, Suzuki S, Arima T, Suruga Y, Matsushita K, Shimeno H, Soeda S, Kubot R, Izumo S, Uozumi K, Arima N. Target epitopes of HTLV-1 recognized by class I MHC-restricted cytotoxic T lymphocytes in patients with myelopathy and spastic paraparesis and infected patients with autoimmune disorders. *Journal of Medical Virology*, 83:501-509, 2011
 - ◆ Kozako T, Hirata S, Shimizu Y, Satoh Y, Yoshimitsu M, White Y, Lemonnier F, Soeda S, Arima N. Oligomannose-coated liposomes efficiently induce huma virus-1-specific cytotoxic T lymphocytes without adjuvant. *FEBS Journal*, 278:1358-1366, 2011
 - ◆ Nakamura M, Aoyama A, Salim MTA, Okamoto M, Baba M, Miyachi H, Hashimoto Y, Aoyama H. Structural development studies of anti-hepatitis C virus agents with a phenanthridinone skeleton. *Bioorg. Med. Chem.* 18: 2402-2411 (2010).
 - ◆ Salim MTA, Okamoto M, Hosoda S, Aoyama H, Hashimoto Y, Baba M. Anti-bovine viral diarrhoea virus activity of novel diphenylmethane derivatives. *Antiviral Chem. Chemother.* 20: 193-200 (2010).
 - ◆ Misawa T, Salim MTA, Okamoto M, Baba M, Aoyama H, Hashimoto Y, Sugita K. Synthesis and anti-hepatitis C virus activity of morpholino triazine derivatives. *Heterocycles* 81: 1419-1426 (2010).
 - ◆ Aoyama H, Baba M, Hashimoto Y. Nitrogen-containing fused-heteroaromatic compounds as anti-bovine viral diarrhea virus (BVDV)

- agents. *Curr. Bioact. Compd.* 6: 118-128 (2010).
- ◆ Salim MTA, Goto Y, Hamasaki T, Okamoto M, Aoyama H, Hashimoto Y, Musiu S, Paeshuyse J, Neyts J, Froeyen M, Herdewijn P, Baba M. Highly potent and selective inhibition of bovine viral diarrhea virus replication by γ -carboline derivatives. *Antiviral Res.* 88: 263-268 (2010).
 - ◆ Aoyama H, Sugita K, Nakamura M, Aoyama A, Salim MTA, Okamoto M, Baba M, Hashimoto Y. Fused heterocyclic amino compounds as anti-hepatitis C virus agents. *Bioorg. Med. Chem.* in press.
 - ◆ Y. Yamaguchi, G. Okawa, K. Hashimoto, M. Shimojo, K. Kajikawa, "Phase of the electronic field localized at surface-immobilized gold nanospheres determined by second-harmonic, interferometry", *Phys. Rev. B*, 83, 085425 (2011) (7pages).
 - ◆ Y. Uchiho, M. Shomojo and K. Kajikawa, "Electrooptic Effect and Optical Rectification in Gold Nanoparticles Immobilized above a Gold Surface", *J. Phys. D: Applied Physics*, 43, 495101 (2010) (4pages).
 - ◆ T. Yamaguchi, H. Okawa, K. Hashimoto and K. Kajikawa, "Formation Process of Self-Assembled Monolayer on Gold Nanosphere Probed by Second Harmonic Generation", *Langmuir*, 26, 14543-14547 (2010).
 - ◆ A. Syahir, H. Miharaland K. Kajikawa, "A New Optical Label-Free Biosensing Platform Based on a Metal-Insulator-Metal Structure", *Langmuir*, 26, 6053-6057(2010).
 - ◆ Y. Uchiho, M. Shimojo, K. Furuya and K. Kajikawa. "Optical Response of Gold Nanoparticle-Amplified Surface Plasmon Resonance Spectroscopy", *J. Phys. Chem. C*, 114, 4816-4824(2010).
 - ◆ 岡本隆之, 梶川浩太郎 「プラズモニクス基礎と応用」 講談社サイエンティフィク 2010.10.1
 - ◆ Oketani M, Ido A, Tsubouchi H. Changing etiologies and outcomes of acute liver failure: A perspective from Japan. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011, Suppl 1: 65-71.
 - ◆ Uto H, Kanmura S, Takami Y, Tsubouchi H. Clinical proteomics for liver disease: a promising approach for discovery of novel biomarkers. *Proteome Sci.* 2010; 8: 70.
 - ◆ Oketani M, Tsubouchi H. Current status and prevention of fulminant hepatitis due to hepatitis B reactivation. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi.* 2010; 107: 1426-33.
 - ◆ Ide T, Sata M, Sakisaka S, Nakamuta M, Fujiyama S, Mizuta T, Tahara K, Fujisaki K, Komorizono Y, Watanabe H, Morita Y, Tsubouchi H. Peginterferon-alpha-2b plus ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C as assessed by a multi-institutional questionnaire in Japan. *Hepatol Res.* 2010; 40: 557-65.
 - ◆ Kanmura S, Uto H, Sato Y, Kumagai K, Sasaki F, Moriuchi A, Oketani M, Ido A, Nagata K, Hayashi K, Stuver SO, Tsubouchi H. The complement component C3a fragment is a potential biomarker for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *J*

Gastroenterol. 2010; 45: 459-67.

- ◆ Nishida C, Uto H, Oketani M, Tokunaga K, Nosaki T, Fukumoto M, Oku M, Sogabe A, Moriuchi A, Ido A, Tsubouchi H. Clinical significance of alanine aminotransferase levels and the effect of ursodeoxycholic acid in hemodialysis patients with chronic hepatitis C. J Gastroenterol. 2010; 45: 326-34.
- ◆ Ueno K, Nishi J, Imuta N, Tokuda K, Kawano Y. Presence of multiple copies of capsulation loci in invasive Haemophilus influenzae type b (Hib) strains in Japan before introduction of the Hib conjugate vaccine. Microb Immunol 2010;54(3):160-163
- ◆ Tokuda K, Nishi J, Imuta N, Fujiyama R, Kamenosono A, Manago K, Yoshifumi K. Characterization of typical and atypical enteroaggregative Escherichia coli in Kagoshima, Japan: biofilm formation and acid resistance. Microb Immunol 2010 : 54(6):320-329

2. 学会発表(シンポジウム等)

- ◆ 田中小代里, 張旭, 永友真未, 若尾雅広, 隅田泰生, 酸化鉄を磁性成分に持つ糖鎖固定化磁性ナノ粒子の調製, 日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月
- ◆ 宮原つかさ, 若尾雅広, 隅田泰生, ムチン型糖鎖コア構造に関する合成研究, 日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月
- ◆ 春山まみ, 齊藤彰寛, 横山理沙, 若尾雅広, 隅田泰生, イズロン酸を含むヘパラン硫酸部分二糖構造の合成とシュガーチップへの応用, 日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月
- ◆ 杜若祐平, 若尾雅広, 隅田泰生, デルマタン硫酸部分二糖構造に関する合成研究, 日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月
- ◆ 新地浩之, 中川奨, 若尾雅広, 望月衛子, 上松太郎, 桑畑進, 隅田泰生, ZnS-AgIn S2/ZnS コア/シェル構造を有する糖鎖固定化蛍光性ナノ粒子の合成と応用, 日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月
- ◆ 松山奈央, 齊藤彰寛, 若尾雅広, 隅田泰生, グルクロン酸を含むヘパラン硫酸部分二糖構造の合成研究, 日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月
- ◆ 仮屋博敬, 岩切健二, 新地浩之, 永友真未, 若尾雅広, 隅田泰生, 一本鎖抗体固定化量子ドットを用いた ATL 細胞の On-site 検査システムの開発, JST 地域間連携事業 ATL (成人 T 細胞白血病・リンパ腫) シンポジウム 2011 in 福岡, 2011 年 2 月 27 日, アクロス福岡, 福岡, ポスター
- ◆ 岩切健二, 仮屋博敬, 山口憂三, 佐藤綾香, 戎義子, 岡田摩耶, 若尾雅広, 隅田泰生, ファイバー型シュガーチップを用いた ATL 細胞表層糖鎖に特異的に結合する一本鎖抗体 (scFv) の探索, JST 地域間連携事業 ATL (成人 T 細胞白血病・リンパ腫) シンポジウム 2011 in 福岡, 2011 年 2 月 27 日, アクロス福岡, 福岡, ポスター
- ◆ 西原祥子, 佐々木紀彦, 平野和己, 隅田泰生, 豊田英尚, 一宮智美, ES 細胞の未分化性・多能性維持, 分化シグナルの拠点となる硫酸化糖鎖, BMB2010(第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生物化学会大会 合同大会), 2010 年 12 月 7~10 日, 神戸ポートアイランド, 兵庫, ワークショップ

- ◆ Masahito Hashimoto, Mami Ozono, Yasuo Suda, Structure and immunobiological activities of lipopolysaccharide from *Acetobacter pasteurianus*, BMB2010(第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生物化学会大会 合同大会), 2010年12月7~10日, 兵庫, ポスター
- ◆ 永友真未, 田中小代里, 若尾雅広, 隅田泰生, 蛋白質-糖鎖固定化磁性金ナノ粒子を用いた細胞や微生物の分離・濃縮, BMB2010(第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生物化学会大会 合同大会), 2010年12月7~10日, 神戸ポートアイランド, 兵庫, ポスター
- ◆ 田中小代里, 張旭, 馬場昌範, 若尾雅広, 隅田泰生, 糖鎖固定化磁性金ナノ粒子を用いたウシウイルス性下痢症ウイルスの高感度検出, BMB2010(第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生物化学会大会 合同大会), 2010年12月7~10日, 神戸ポートアイランド, 兵庫, ポスター
- ◆ 張旭, 小林健一郎, 的山央人, 兵藤則行, 若尾雅広, 隅田泰生, 糖鎖固定化金ナノ粒子を用いた鯉ヘルペスウイルスの高感度検出, BMB2010(第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生物化学会大会 合同大会), 2010年12月7~10日, 神戸ポートアイランド, 兵庫, ポスター
- ◆ H. Kariya, Y. Yoshihara, N. Sakura, M. Ueno, M. Hashimoto, Y. Suda, Enhancement of bactericidal activity of phagocyte by carboxymethyl-chitin, BMB2010(第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生物化学会大会 合同大会), 2010年12月7~10日, 神戸ポートアイランド, 兵庫, ポスター
- ◆ Y. Suda, High Sensitive Detection of Viruses Based on Their Binding Activities to Sugar-Chains, Japan-Taiwan 3 University Joint Seminar on Nanostructure and Advanced Materials, Nov. 25-26, 2010, Kagoshima, oral
- ◆ M. Hashimoto, M. Ozono, Y. Suda, Structural study of lipopolysaccharide from acetic acid bacteria, Japan-Taiwan 3 University Joint Seminar on Nanostructure and Advanced Materials, Nov. 25-26, 2010, Kagoshima, poster
- ◆ Keiko Ono, Hiroyuki Kariya, Kazuki Tawaratsumida, Yasuo Suda, Expression of *Staphylococcus aureus* lipoproteins in various conditions, Japan-Taiwan 3 University Joint Seminar on Nanostructure and Advanced Materials, Nov. 25-26, 2010, Kagoshima, poster
- ◆ X. Zhang, M. Baba, N. Arima, M. Okamoto, M. Wakao, Y. Suda, Comprehensive Analyses of Sugar-Chain Binding Activity of Viruses Using Array-type Sugar Chip, Japan-Taiwan 3 University Joint Seminar on Nanostructure and Advanced Materials, Nov. 25-26, 2010, Kagoshima, poster
- ◆ H. Shinchi, M. Wakao, Y. Suda, Preparation and Application of Sugar-Chain Immobilized Fluorescent Nanoparticles Containing CdTe/CdS Core/Shell Structure, Japan-Taiwan 3 University Joint Seminar on Nanostructure and Advanced Materials, Nov. 25-26, 2010, Kagoshima, poster
- ◆ 小野敬子, 俵積田一樹, 隅田泰生, 橋本雅仁, 黄色ブドウ球菌由来免疫活性化物質に

- 関する研究, 第 16 回日本エンドトキシン・自然免疫研究会, 2010 年 11 月 12~13 日, かしはら万葉ホール, 奈良, 口頭
- ◆ 田崎聖聖, 上村広志, 若尾雅広, 隅田泰生, ルイス型糖鎖の合成とシュガーチップ化, 2010 年日本化学会西日本大会, 2010 年 11 月 6~7 日, 熊本大学 (黒髪キャンパス), 熊本, 口頭
 - ◆ 隅田泰生, 張旭, 青山和枝, 若尾雅広, 森川佐依子, 廣井聡, 加瀬哲男, 斎藤秀, 糖鎖結合性に基づくインフルエンザウイルス株の類型化と予測, 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7~9 日, 徳島市あわぎんホール, 徳島, ポスター
 - ◆ 隅田泰生, 糖鎖化学に基づいた新型インフルエンザ検査法の開発, 第 60 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2010 年 10 月 30 日, 摂南大学薬学部, 大阪, 特別講演
 - ◆ 隅田泰生, 張旭, 永友真未, 青山和枝, 横山理沙, 田中小代里, 劉文騎, 若尾雅広, 糖鎖固定化ナノ粒子を利用したウイルスの高感度検出, 第 4 回バイオ関連シンポジウム, 2010 年 9 月 25~26 日, 大阪大学豊中キャンパス, 大阪, ポスター
 - ◆ 若尾雅広, 小幡瑠美, 酒見千穂, 杜若祐平, 近藤宇男, 隅田泰生, コンドロイチン硫酸部分構造の合成とタンパク質相互作用解析, 第 59 回高分子討論会, 2010 年 9 月 15~17 日, 北海道大学高等教育機能開発総合センター, 北海道, 口頭
 - ◆ 隅田泰生, 糖を使ったナノテクでウイルスを測る, JST サイエンスカフェみやぎ, 2010 年 9 月 8 日, 宮日会館, 宮崎, 独立行政法人 科学技術振興機構 JST イノベーションサテライト宮崎主催, 招待講演
 - ◆ M. Wakao, R. Obata, C. Sakami, Y. Kakitsubata, T. Kondo, N. Mitsushita, Y. Suda, Synthesis and Application of Chondroitin Sulfate Partial Disaccharide Library, The 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), Aug. 1-6, 2010, Tokyo(Chiba), Japan, poster
 - ◆ S. Nishihara, N. Sasaki, T. Hirano, T. Ichimiya, K. Hirano, H. Toyoda, Y. Suda, Functional analysis of sulfated glycans in the differentiation of embryonic stem cells, The 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), Aug. 1-6, 2010, Tokyo(Chiba), Japan, oral
 - ◆ 隅田泰生, High sensitive detection of viruses based on their binding activities to sugar-chains, 第 49 回日本生体医工学会大会, 2010 年 6 月 25~27 日, 大阪国際交流センター, 大阪, オーガナイズドセッション
 - ◆ 馬場宏一, 奥野寿臣, 古谷基, 隅田泰生, 超高速 PCR 装置『UR-104MK IV』の評価, 第 51 回日本臨床ウイルス学会, 2010 年 6 月 19~20 日, サンポート高松シンボルタワー, 香川, 口頭
 - ◆ 春山まみ, 大石紘, 齊藤彰寛, 若尾雅広, 隅田泰生, イズロン酸含有ヘパラン硫酸部分二糖構造に関する合成研究, 日本化学会第 90 回春季年会, 2010 年 3 月 26~29 日, 近畿大学本部キャンパス, 大阪, 口頭
 - ◆ 出口弘史, 齊藤彰寛, 馬渡彩, 若尾雅広, 隅田泰生, グルクロン酸-グルコサミン配列を持つヘパラン硫酸部分構造に関する合成研究, 日本化学会第 90 回春季年会, 2010 年 3 月 26~29 日, 近畿大学本部キャン

ンパス, 大阪, 口頭

- ◆ 馬渡彩, 齊藤彰寛, 出口弘史, 若尾雅広, 隅田泰生, イズロン酸-グルコサミン配列を有するヘパラン硫酸部分二糖構造の合成研究, 日本化学会第90回春季年会, 2010年3月26~29日, 近畿大学本部キャンパス, 大阪, 口頭
- ◆ 酒見千穂, 杜若祐平, 若尾雅広, 隅田泰生, コンドロイチン硫酸四糖部分構造の合成研究, 日本化学会第90回春季年会, 2010年3月26~29日, 近畿大学本部キャンパス, 大阪, 口頭
- ◆ 若尾雅広, 新地浩之, 隅田泰生, CdTe/CdS コア/シェル構造を有する糖鎖固定化蛍光性ナノ粒子の合成と応用, 日本化学会第90回春季年会, 2010年3月26~29日, 近畿大学本部キャンパス, 大阪, 口頭
- ◆ 竹内誠, 若尾雅広, 佐坂真一, 荻原亮介, 隅田泰生, 干渉分光バイオセンサーを用いた糖鎖-タンパク質相互作用解析, 日本化学会第90回春季年会, 2010年3月26~29日, 近畿大学本部キャンパス, 大阪, 口頭
- ◆ M. Hashimoto, Y. Suda, Changes in Expression of Lipoproteins in *Staphylococcus aureus*, 第83回日本細菌学会総会, 2010年3月27~29日, バシフィコ横浜, 神奈川県, ポスター
- ◆ 小西美紅, 藤川紘樹, 中島慎也, 河村奈緒子, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾真: 新規環状グルコシルセラミド受容体を用いたガングリオシド GalNAc-GM1b の全合成研究, 2A37p05, 2011 年度大会 日本農芸化学会, 京都, 平成 23 年 3 月 25 日-28 日 (Oral).
- ◆ 山本直輝, 田中秀則, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾真: 分子イメージングへ向けたシアリルルイス X ブローブの合成研究, 3A37a15, 2011 年度大会 日本農芸化学会, 京都, 平成 23 年 3 月 25 日-28 日 (Oral).
- ◆ 川瀬貴裕, 山本直輝, 中島慎也, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾真: メリビオサミンのシアリル化アナログの合成, 3A37a03, 2011 年度大会 日本農芸化学会, 京都, 平成 23 年 3 月 25 日-28 日 (Oral).
- ◆ 水野孝星, 玉井秀樹, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾真: 棘皮動物由来ガングリオシド CJP-2 の合成研究, 2A37p04, 2011 年度大会 日本農芸化学会, 京都, 平成 23 年 3 月 25 日-28 日 (Oral).
- ◆ 石田秀治: 糖鎖を用いた感染と免疫の制御. 岐阜健康長寿・創薬推進機構 第2回異分野交流研究会「岐阜県、人類の健康保持と創薬への挑戦」(平成 22 年 12 月 10 日、岐阜薬科大学大学院講義室) (Lecture)
- ◆ 石田秀治: 糖鎖の機能を利用する: 薬物送達への応用. アグロサイエンスカフェ～あんな研究、こんな技術～. (平成 22 年 12 月 7 日、愛知県産業労働センター ウィンクあいち) (Lecture)
- ◆ Tamai, H., Ando, H., Ishida, H., Kiso, M.: A first total synthesis of neurogenic ganglioside LLG-3 from starfish *linckia laevigata*. Association of Pacific Rim Universities (APRU) Research Symposium on the Interface between Molecular Biology and Nano-biology, 京都大学 芝蘭会館 (京都), 平成 22 年 11 月 24-26 日 (ポスター).
- ◆ Iwayama, Y., Ando, H., Ishida, H. and Kiso, M.: Synthetic study on novel bioactive ganglioside HPG-7. 2nd iCeMS Retreat, 淡路

- 夢舞台(兵庫), 平成 22 年 10 月 1-2 日 (ポスター)。
- ◆ 岩山祐己, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾真:
トラフナマコ由来生理活性ガングリオシド HPG-7 の合成研究、P-18, 第 8 回糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム, 名古屋大学 (愛知県名古屋市)、平成 22 年 9 月 6 日 (ポスター)。
 - ◆ 中島慎也, 藤川紘樹, 河村奈緒子, 斎藤里紗, 小西美紅, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾真: ガングリオシド合成に有用なグルコシルセラミド受容体の開発研究、第 8 回糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム, 名古屋大学 (愛知県名古屋市)、平成 22 年 9 月 6 日 (ポスター)。
 - ◆ 玉井秀樹, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾真:
特異な修飾シアル酸二量体を有するガングリオシド LLG-3 の全合成、第 8 回糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム, 名古屋大学 (愛知県名古屋市), 平成 22 年 9 月 6 日 (ポスター)。
 - ◆ Ishida, H.: Design, synthesis and biological evaluation of novel sialosides as potent and selective inhibitors for siglecs. Freie Universität Berlin, August 27, 2010 (Lecture)。
 - ◆ Kiso, M., Ishida, H. and Ando, H.: Novel gangliosides synthesis toward applications in medicinal chemistry and cell biology. 13th International Conference on Biology and Chemistry of Sialic Acids – SialoGlyco 2010, Potsdam, Germany, August 21-26, 2010 (Keynote Speaker, 基調講演)
 - ◆ Abdu-Allah, H. H. M., Ishida, H., Watanabe, K., Tsubata, T., Completo, G., Paulson, J. C., Ando, H. and Kiso, M.: Design, synthesis and biological evaluation of novel sialosides as potent and selective inhibitors for siglecs. 13th International Conference on Biology and Chemistry of Sialic Acids – SialoGlyco 2010, Potsdam, Germany, August 21-26, 2010 (Poster)。
 - ◆ Fujikawa, K., Konishi, M., Imamura, A., Ando, H., Ishida, H., Kiso, M.: A first total synthesis of ganglioside GalNAc-GD1a by employing intramolecular glycosylation as a key step. A-O-022, 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), Makuhari Messe International Convention Complex, Tokyo (Chiba), Japan, August 1-6, 2010 (Oral)。
 - ◆ Nakashima, S., Fujikawa, K., Komura, N., Saito, R., Konishi, M., Ando, H., Ishida, H., Kiso, M.: Examination of the Glc-Cer-based approaches toward Systematic Ganglioside Synthesis. A-P-111, 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), Makuhari Messe International Convention Complex, Tokyo (Chiba), Japan, August 1-6, 2010 (Poster)。
 - ◆ Iwayama, Y., Ando, H., Ishida, H., Kiso, M.: Synthetic Study on Novel Bioactive Ganglioside HPG-7 from H. pernix. A-P-109, 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), Makuhari Messe International Convention Complex, Tokyo (Chiba), Japan, August 1-6, 2010 (Poster)。
 - ◆ Tamai, H., Ando, H., Ishida, H., Kiso, M.: A First Total Synthesis of Ganglioside LLG-3 from Echinoderms. A-P-116, 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), Makuhari Messe International

Convention Complex, Tokyo (Chiba), Japan,
August 1-6, 2010 (Poster).

- ◆ 玉井秀樹, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾真:
部分修飾シアル酸二量体を有するヒトデ
由来ガングリオシド LLG-3 の全合成. 第
45 回天然物化学談話会, 三谷温泉ホテル
明山荘 (愛知県蒲郡市), 平成 22 年 7
月 6 日~8 日 (ポスター)
- ◆ 岩山祐己, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾真:
棘皮動物由来生理活性ガングリオシド
HLG-2 の全合成. 第 45 回天然物化学談話
会, 三谷温泉ホテル明山荘 (愛知県蒲郡
市), 平成 22 年 7 月 6 日~8 日 (ポスタ
ー)
- ◆ 黒木友昭, 青木則子, 駿河幸男, 松下格司,
魚住公治, 有馬直道. 多関節痛で発症し、
PR3-ANCA 陽性であった後腹膜繊維症の
1 例. 第 54 回 日本リウマチ学会総会
2010 年 4 月 23 日, 神戸
- ◆ Kobune H, Suzuki S, Uozumi K, White Y,
Yoshimitsu M, Kozako K, Arima N.
Induction of cell death in adult T-cell
leukemia cell lines by survivin-responsive
conditionally replicating adenoviruses. The
15th Congress of Europe Hematology
Association, June 11, 2010, Barcelona, Spain
- ◆ 濱崎隆之, 外山政明, 有馬直道, 橋本祐一,
馬場昌範. 抗 ATL 作用を有する新規化合
物の活性と作用機序解析. 第 2 回 HTLV-1
研究会・合同班会議, 2009 年 8 月 29 日,
東京.
- ◆ 伊東祐二, 杉村和久, 鳥飼正治, 中島敏博,
隅田泰生, 有馬直道, 馬場昌範. 抗体ファ
ージライブラリから得られた HLA-DR 特
異的な低分子抗体による HTLV-1 感染細胞
への効果的な細胞死誘導. 第 2 回 HTLV-1
研究会・合同班会議, 2009 年 8 月 30 日,
東京.
- ◆ Kawada H, Inoue H, Nakamura D, Hayashida
M, Yoshimitsu M, Hamada H, Uozumi K,
Arima N. Reduced intensity allogenic
transplant for MDS overt leukemia or
dependent blood transplantation. 第 72 回日
本血液学会学術集会 2010, 9 月 24 日, 横
浜
- ◆ Inoue H, Uozumi K, Kawada H, Yahashida M,
Nakamura D, Hamada H, Suzuki S,
Matsushita K, Arima N. The effective
treatment of 2CdA and Imatinib for
mastocytosis carrying a SNP of PDGF-R α .
第 72 回日本血液学会学術集会 2010, 9 月
25 日, 横浜
- ◆ Nakamura D, Suzuki S, Hayashida M,
Kawada H, Inoue H, Hamada H, Matsushita
K, Tanabe H, Nakabeppu Y, Uozumi K,
Arima N. Experience of
Radioimmunotherapy with 90Y-Ibritumomab
tiutaxen in our institution. 第 72 回日本血液
学会学術集会 2010, 9 月 25 日, 横浜
- ◆ Hayashida M, Kawada H, Nakamura D, Inoue
H, Arima T, Higashi Y, Kanekkura T, Uozumi
M, Arima N. Subcutaneous opanniculitis
T-cell lymphoma (SPTCL) – When should we
judge it and begin chemotherapy? 第 72 回
日本血液学会学術集会 2010, 9 月 26 日,
横浜
- ◆ 海江田智恵, 林田真衣子, 藤野聡司, 中村
大輔, 井上大栄, 川田英明, 濱田平一郎,
鈴木伸介, 魚住公治, 有馬直道. ボルテゾ
ミブが著効し救命し得た二次性形質細胞

- 性白血病の1例。第291回日本内科学会九州地方会 2010年11月14日、鹿児島
- ◆ 藤野聡司、中村大輔、川田英明、井上大栄、濱田平一郎、魚住公治、有馬直道 化学療法後に血小板減少も改善した ITP 合併びまん性大細胞型リンパ腫の1例。第291回日本内科学会九州地方会 2010年11月14日、鹿児島
 - ◆ Baba M, Salim M, Okamoto M, Aoyama H, Hasjomoto Y, Takebe Y, Paeshuyse J, Neyts J. γ -Carboline derivatives as parent and selective inhibitors of bovine viral diarrhea virus (BVDV) replication. *23th International Conference on Antiviral Research*, April 26, 2010, San Francisco, USA.
 - ◆ 青山洋史, 中村政彦, 青山 惇, Mohammed TA Salim, 濱崎隆之, 岡本実佳, 馬場昌範, 橋本祐一. 複素環構造を有する新規抗C型肝炎ウイルス(HCV)剤の創製. 第20回抗ウイルス療法研究会, 2010年5月20日, 熊本.
 - ◆ Mohammed TA Salim, Takayuki Hamasaki, Mika Okamoto, Hiroshi Aoyama, Yuichi Hashimoto, Jan Paeshuyse, Johan Neyts, Masanori Baba. Highly potent and selective inhibition of bovine viral diarrhea virus replication by γ -carboline derivatives. 第20回抗ウイルス療法研究会, 2010年5月21日, 熊本.
 - ◆ 張 旭, 馬場昌範, 有馬直道, 岡本実佳, 若尾雅広, 隅田泰生. アレイ型シュガーチップを用いたウイルスの糖鎖結合性の探索. 第58回日本ウイルス学会学術集会, 2010年11月9日, 徳島.
 - ◆ Okamoto M, Chono H., Baba M. Transduction of CD4+ T lymphocytes by the retroviral vector expressing an Escherichia coli endoribonuclease MazF induces cellular resistance to HIV-1 replication. XVIII International AIDS Conference July 2010, Vienna.
 - ◆ 岡本実佳, 蝶野英人, 津田大嗣, 井上晃一, 峰野純一, 馬場昌範. HIV-1感染RNA分解酵素 MazF 導入リンパ球の長期継代培養の解析. 第24回日本エイズ学会2010年11月(東京)
 - ◆ 梶川浩太郎 「非線形プラズモニクス」、第58回応用物理学関連連合講演会(神奈川工科大学)、24p-BG-8、2011.3.24~3.27(招待講演)
 - ◆ 長井悠佑、山口達也、梶川浩太郎 「表面増強偏光ラマンスペクトルによる金ナノ粒子への分子吸着構造の評価」、第58回応用物理学関連連合講演会(神奈川工科大学)、25p-BH-12、2011.3.24~3.27
 - ◆ 山口達也、梶川浩太郎 「金ナノ粒子を使ったプラズモニク構造の温度依存性」、第58回応用物理学関連連合講演会(神奈川工科大学)、25a-BH-3、2011.3.24~3.27
 - ◆ 田中大輔、倉石史騎、下条雅幸、梶川浩太郎 「PDA ナノ結晶の光・電子線リソグラフィ」、第58回応用物理学関連連合講演会(神奈川工科大学)、24p-KH-7、2011.3.24~3.27
 - ◆ 福場伸哉、梶川浩太郎 「マイクロコンタクトプリンティングを使った蛋白質マクロアレイの作製」、第58回応用物理学関連連合講演会(神奈川工科大学)、25a-BV-22、2011.3.24~3.27
 - ◆ 梶川浩太郎 「表面プラズモンバイオセン

- シング)、2011 年電子情報通信学会 総合大会 (東京都市大学)、CI-1-8、2011.3.14～17 (依頼講演)
- ◆ 梶川浩太郎 「表面プラズモンを使った輻射増強」、研究会 有機発光デバイスの発光の増強方法を開拓するⅡ (京都工芸繊維大学)、2011.3.7 (招待講演)
 - ◆ テイエントインファン、大石健太、梶川浩太郎 「MIM 構造中の表面プラズモン共鳴による液晶光双安定素子」、第 71 回応用物理学会学術講演会 (長崎大学)、15a-M-5、2010.9.14～17
 - ◆ 山口達也、梶川浩太郎 「金ナノ微粒子構造からの 2 光子励起光発光イメージング」、第 71 回応用物理学会学術講演会 (長崎大学)、16p-NK-9、2010.9.14～17
 - ◆ 倉石史騎、田中大輔、下條雅幸、梶川浩太郎 「表面プラズモン共鳴を利用した PDA ナノ結晶の Kerr 効果の測定」、第 71 回応用物理学会学術講演会 (長崎大学)、14a-ZF-6、2010.9.14～17
 - ◆ 梶川浩太郎 「光ファイバを使った局在プラズモンバイオセンシング」、第 61 回東工大精密工学研究所シンポジウム (東京工業大学蔵前会館)、2010.7.22 (招待講演)
 - ◆ 梶川浩太郎 「プラズモニクスに関する最近の話題」、プラズモニクス研究会 (島津製作所東京支店イベントホール)、2010.5.26
 - ◆ 山口達也、梶川浩太郎 「金ナノ微粒子表面に修飾する自己組織化単分子膜の被覆課程の調査、プラズモニクス研究会 (島津製作所東京支店イベントホール)、2010.5.26
 - ◆ Tamai T, Uto H, Takami Y, Kumagai K, Kure T, Mawatari S, Moriuchi A, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H: Clinical significance of serum MnSOD levels in patients with hepatitis C virus (HCV)-related chronic liver disease. The 7th Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) Single Topic Conference. 千葉市, 2010 年 12 月.
 - ◆ Hiramane Y, Uto H, Imamura Y, Tamai T, Baba Y, Hiwaki T, Sho Y, Tahara N, Ido A, Tsubouchi H: A comparative study of sorafenib and hepatic arterial infusion chemotherapy for unresectable advanced hepatocellular. The 7th APASL Single Topic Conference. 千葉市, 2010 年 12 月.
 - ◆ Kumagai K, Ido A, Takami Y, Sasaki F, Kure K, Tamai T, Moriuchi A, Uto H, Oketani M, Tsubouchi H: Association of a genetic polymorphism in osteoactivin with hepatitis C virus infection in a hyperendemic area of Japan. The 7th APASL Single Topic Conference. 千葉市, 2010 年 12 月.
 - ◆ 佐藤悠子, 宇都浩文, 高見陽一郎, 佐々木文郷, 熊谷公太郎, 最勝寺晶子, 小田耕平, 呉 建, 馬渡誠一, 玉井 努, 森内昭博, 桶谷 眞, 井戸章雄, 中島知明, 岡上 武, 坪内博仁: ALT が正常を維持する C 型肝炎ウイルス持続感染者の血清プロテオミクス. 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会. 浦安市, 2010 年 7 月.
 - ◆ 熊谷公太郎, 桶谷 眞, 小田耕平, 最勝寺晶子, 橋口正史, 馬渡誠一, 呉 建, 玉井努, 森内昭博, 宇都博文, 桶谷 眞, 井戸章雄, 坪内博仁: de novo B 型肝炎における劇症化の病態と対策. 第 96 回日本消化

器病学会九州支部例会。宜野湾市，2010年11月。

- ◆ 楠 一晃，熊谷公太郎，井戸章雄，最勝寺晶子，橋口正史，馬渡誠一，呉 建，玉井努，森内昭博，宇都浩文，桶谷 眞，田原憲治，堀 剛，藤崎邦夫，黒木和男，重信秀峰，小森園康二，岩満章浩，坪内博仁：B型慢性肝炎患ナイーブ例に対するラミブジン投与例とエンテカビル投与例の比較検討。第46回日本肝臓学会総会。山形市，2010年5月。
- ◆ 井之上寿美，丸山慎介，江口太助，西 順一郎，益田君教，立元千帆，石川珠代，山元公恵，鮫島幸二，池田琢哉。皮下気腫を伴ったパンデミックインフルエンザH1N1肺炎の女児例。第15回鹿児島小児感染症研究会 鹿児島 2010.9.17

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- ◆ 隅田泰生，荒野明男，楠本正一，ソベールマイケル，若尾雅広，「リンカー化合物及びリガンド複合体、並びにそれらの製造方法」、登録番号4628960 (2010/11/19)
- ◆ 若尾雅広，隅田泰生，「糖鎖固定化蛍光性ナノ粒子、及びその製造方法」、特2010-53040 (2010/3/10)、出願人：国立大学法人鹿児島大学、株式会社スティックスバイオテック
- ◆ 若尾雅広，隅田泰生，児玉崇，「ウイルスの濃縮方法および磁性体組成物」、特願2010-045753 (2010/3/2)、出願人：国立大学法人鹿児島大学、株式会社スティックスバイオテック、株式会社ニート
- ◆ 有馬直道 発明の名称：サービビプロモ

ーターを含む増殖制御型ウイルスベクターによる造血管腫瘍の遺伝子治療(特許出願中)

- ◆ 梶川浩太郎，榎本 靖，松村康史，新田龍三 「金属微粒子複合体及びその製造方法」出願人：国立大学法人東京工業大学・新日鐵化学株式会社、特許願 2010-123225 2010年5月28日
 - ◆ 隅田泰生，「糖鎖リガンド複合体、およびそのリガンド複合体を用いたタンパク質の分析方法」、中国 ZL 2005800005186.9 (2010/6/9)
 - ◆ 隅田泰生，西村知晃，岸本裕子，中川裕美，「新規糖固定化金属ナノ粒子およびこれを用いて糖-タンパク質相互作用を測定する方法、並びに糖-タンパク質相互作用体からタンパク質を回収する方法」、EPC 1909104 (2010/7/21)
 - ◆ 隅田泰生，荒野明男，楠本正一，マイケルソベール，若尾雅広，「リンカー化合物およびリガンド複合体、並びにそれらの製造方法」、EPC 1731517 (2010/11/17)
 - ◆ 隅田泰生，荒野明男，楠本正一，マイケルソベール，若尾雅広，「リンカー化合物およびリガンド複合体、並びにそれらの製造方法」、アメリカ 7,838,549 (2010/11/23)
 - ◆ 隅田泰生，荒野明男，楠本正一，マイケルソベール，「リンカー化合物及びリガンド、並びにそれらの製造方法」、カナダ 2,500,190 (2011/1/4)
2. 実用新案登録
特になし。
3. その他
特になし。

Ⅱ. 分 担 研 究 報 告

糖鎖合成、シュガーチップおよび糖鎖固定化金ナノ粒子の調製
ウイルス濃縮機能を組込んだ超高速 PCR 装置の開発

主任研究者 隅田 泰生 鹿児島大学 大学院理工学研究科 教授

研究協力者 若尾 雅広 鹿児島大学 大学院理工学研究科 教授

研究協力者 張 旭 鹿児島大学大学院理工学研究科 大学院生

分担研究者 児玉 崇 株式会社ニート 代表取締役

研究要旨：ウイルスが特異的に結合する糖鎖の探索のためのシュガーチップ（SC）、ならびにウイルスの濃縮や LPR 測定之感度向上に使用する糖鎖固定化金ナノ粒子（SGNP）を調製するために、糖鎖を合成した。特に、新規糖鎖として、多くのウイルスが結合するヘパリン硫酸やコンドロイチン硫酸の部分二糖構造 3 種類を合成し、さらに SC や SGNP に固定化するために糖鎖リガンド複合体へ誘導した。SC に関しては、前年度と同様の 47 種類の糖鎖を固定化したアレイ型のシュガーチップに加えて、コンドロイチン硫酸部分二糖構造 16 種類を固定化したアレイ型のシュガーチップを調製し、各種ウイルスの糖鎖結合性を SPR イメージング法で調べた。ウイルスとの結合を確認した糖鎖を固定化した SGNP を調製し、ヘルペス、インフルエンザ、ノロ、エイズ、エンテロ、およびコクサッキーウイルスの高感度検査に応用した。さらに、昨年度試作した自動濃縮装置を(株)コーネット社と共同で改良し、製品化を達成した。さらに、FluV のイムノクロマト法に基づく簡易キットの感度向上をめざし、ニート社と共同で 1 検体用濃縮装置を試作した。

A. 研究目的

糖鎖は生命現象に必須の役割を持つが、一方で各種ウイルスが細胞へ吸着する際にレセプター分子として使用される。これを逆手にとり、本課題は、通常の PCR で検出できない極低濃度のウイルスを超早期に検出・診断可能な先端医療技術の開発を行うこと、さらにウイルスの選択的除去や新薬開発のためのスクリーニング技術に応用することを目的とする。このために、ウイルスが特異的に結合する糖鎖の探索のためのシュガーチップ（SC）、ならびに探索

した糖鎖を固定化した SGNP を調製すること、さらにそれら調製に必要な種々の糖鎖および糖鎖リガンド複合体を合成することを目的とする。また、高感度検査を自動化・迅速化するために、糖鎖固定化磁性金ナノ粒子（SMGNP）を開発し、同時に濃縮装置の開発をも目的とする。

B. 研究方法

糖鎖合成

Scheme 1～3 に示す化学合成法によってへ

バラン硫酸部分二糖構造ならびにコンドロイチン硫酸部分二糖構造 2 種、計 3 種を調製し、それらを我々が開発しているモノバレントリンカーと縮合させて糖鎖リガンド複合体を合成した。

アレイ型シュガーチップ

新たに、コンドロイチン硫酸部分二糖構造全 16 種類とヘパリンなどを固定化したチップ (GAG チップ) を調製した (図 1)。

糖鎖固定化金ナノ粒子 (SGNP)

ヘパリンを固定化したナノ粒子 (Hep-GNP) を、 NaAuCl_4 からクエン酸を還元剤とし、ヘパリンを我々の方法でリガンド複合体化した Hep-mono を添加することによって調製した。

糖鎖固定化磁性金ナノ粒子 (SMGNP)

ナノメーターサイズのマグネタイトをまず調製し、さらに NaAuCl_4 と還元剤として NaBH_4 、および糖鎖リガンド複合体を加えて SMGNP を調製した。糖鎖としては低分子量のデキストラン硫酸 (DS25-MGNP) を用いた。

自動濃縮装置の試作

ウイルス濃縮プロトコルを自動化し、より簡便・迅速に超高度感度検査を行うことができるように、昨年度、研究分担者の児玉氏とともに、ニート社において試作した自動濃縮装置を、(株) コーネットに委託し製品として完成させた (図 2)。また、1 検体用の簡易濃縮装置 (図 3) をニート社と共同で試作した。

(倫理面への配慮について)

患者検体を用いた研究では、各施設の倫理委員会または施設長に実験計画を提出して承認を得た後、患者あるいは患者家族に本研究についてのインフォームドコンセントを十分に引き、同意を得た場合にのみ当該患者検体を研究に使用した。

C. 研究結果

アレイ型シュガーチップと SPR イメージング

GAG チップを用いた、HIV の SPR イメージングの結果を図 1 に示した。

糖鎖固定化金ナノ粒子 (SGNP)

ヘパリンを固定化したナノ粒子 (Hep-GNP) を用いて、マニュアルでコクサッキーウイルス (CA16) を濃縮し、加熱してウイルスを破壊して、リアルタイム PCR (Takara Bio, Thermal Cycler Dice Real Time) をもちいた RT/qPCR によって、その cDNA を解析した結果を図 4 に示した。また、Hep-GNP を用いて、鹿児島今村病院分院の能勢医師の協力を得て、無菌性脳炎患者の髄液中のヘルペスウイルスを測定した。带状疱疹が現れない患者でも髄液中に VZV (HHV-3) が高濃度で存在した。また抗ウイルス薬の投与によって、Hep-GNP によって濃縮されない cDNA の割合が増え、ウイルス粒子が破壊されたことを示唆する結果が得られた。

糖鎖固定化磁性金ナノ粒子 (SMGNP)

DS25-MGNP を以下の自動濃縮機 (MOC-1) を用いたコクサッキーウイルス (CA16) の濃縮に用いた (図 4)。より低濃度の場合には、Hep-GNP では濃縮できなかったが、DS25-MGNP では濃縮できた。粒径の影響と考えられる。

自動濃縮装置の製品化

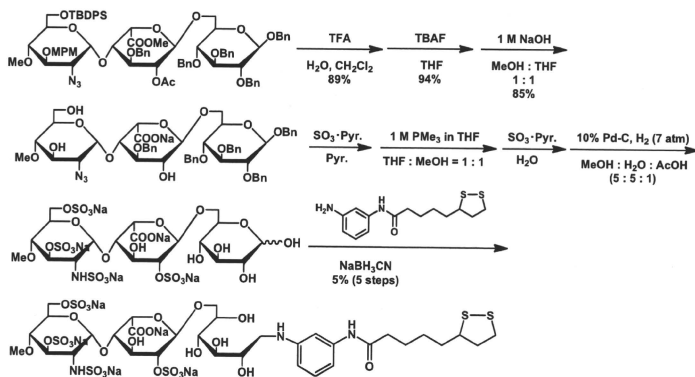
昨年度試作した自動濃縮機を、コーネット株式会社 に依頼して、製品 (MOC-1) まで仕上げた (図 2)。この機器を使用して CA16 を濃縮し、マニュアルで Hep-GNP を用いた場合と比較検討した。濃縮度は同様であり、実用化を達成した。また、1 検体用の濃縮装置 (図 3) を (株) ニート社と協同で開発し、インフルエンザウイルスを用いて有用性を確かめた。

D. E. 考察 結論

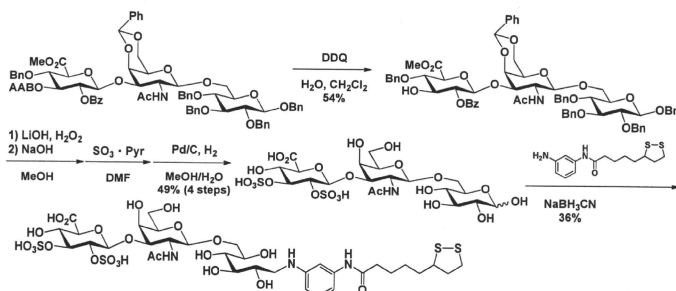
ウイルスの硫酸化糖への結合活性を更に詳細に検討するための CS チップを完成させた。また、ヘルペスやインフルエンザなど比較的大きなウイルスだけではなく、コクサッキーウイルスのように 30 nm 程度の小さなウイルスにも

適応できる系を完成させた。今年度は、分担研究者の報告のように、Hep-GNP を用いて、1 コピー/ml 以下の極低濃度の HIV の濃縮を唾中でも達成でき、来年度から臨床検体へも応用する予定である。また、ヘルペスウイルスや、インフルエンザウイルス（分担研究者の報告を参照）の臨床検体への応用は、今年度から行うことができた。自動濃縮装置は製品化まで達成し、更に小規模医院でも簡便に濃縮操作ができる

ように 1 検体用の濃縮機も製作した。来年度は糖鎖固定化ナノ粒子を用いた濃縮/PCR 法を、体外診断薬として申請することを目指し、より多くの臨床検体に対して適応する。さらに、HTLV-1、HBV など病原性の高いウイルスを濃縮し、高感度で分析するシステムや、液体中からのウイルスの除去に糖鎖固定化ナノ粒子を使用する系を構築する。このように、今後の展開が期待できる。



Scheme 1 ヘパラン硫酸部分二糖構造 (GlcNS3S6Sα1-4IdoA2S) 構造の合成とリガンド複合体化



Scheme 2 コンドロイチン硫酸部分二糖構造 (GlcA2S3Sβ1-4GalNAc) 構造の合成とリガンド複合体化