

Title	生物活性糖質固定化ダイヤモンド電極による病原体検出センサーの開発
Sub Title	Pathogen sensor based on boron-doped diamond (BDD) electrode terminated with biologically active carbohydrates
Author	高橋, 大介 (Takahashi, Daisuke)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2020
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2019. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>細胞表層上に存在する糖質は、様々なウイルスや病原菌の感染に深く関与している。例えば、インフルエンザウイルス (IFV) は、宿主細胞上のシアロ糖鎖と相互作用することで感染し、出芽の際には、シアロ糖鎖を加水分解することで感染拡大することが知られている。さらに近年、インフルエンザや新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) を含む新興感染症が世界中で猛威を奮っており、環境中の標的ウイルスおよび病原菌を高感度かつ簡便に検出する新規デバイスの開発が強く求められている。そこで本研究 (2年計画) の初年度である2019年度は、BDD電極を用いた新規IFVセンサーの開発を目的として研究を行った。</p> <p>まず、IFV-NAと特異的に反応し、電気化学的に活性なフェノール部位を生成するように設計したO-アリアルシアロシド部位とアジド基を連結した糖質1を化学合成した。次に、1のIFV-NAに対する反応性と酵素選択性を、HPLCを用いて定量的に評価した。その結果、1は、数種類の糖加水分解酵素の中でも、IFV-NA特異的かつ濃度および時間依存的に反応し、フェノール誘導体2を生成することを明らかにした。次に、BDD電極上にアセチレン部位を有する基板Aを作製後 (山本)、Huisgen反応を用いて1をA上に固定化した基板Bを作製した (松原)。次に、基板Bに対してH1N1型IFVを作用させ、37度で3時間インキュベート後、洗浄し、電気化学測定を行った。その結果、IFVの濃度依存的にフェノールの酸化反応に起因すると考えられる電流を検出できることを見出し、BDD電極上にO-アリアルシアロシドを固定化した新規インフルエンザ検出センサーの開発に成功した。現在、さらなる高感度化と検出時間の短縮を検討するとともに、本研究成果に関する原著論文を執筆中である。</p> <p>Carbohydrates on cell surfaces play crucial roles in viral and pathogenic infections. For instance, while influenza virus (IFV) infection cycle starts with the interaction with sialoside receptors on the host cell surface, when progeny IFV releases from the host cell, influenza virus-neuraminidase (IFV-NA) on the virions cleaves off sialic acid from glycans on the host cell. Recently, emerging infectious diseases including influenza and COVID-19 have been raging all over the world. Therefore, development of the specific and sensitive devices that can detect the target viruses and pathogens is highly desirable. In this context, FY2019, we conducted the research with aim to develop a new IFV sensor based on the BDD electrode terminated O-aryl sialoside.</p> <p>Initially, O-aryl sialoside 1, which possesses an alkyl azido moiety and can react with IFV-NA to produce corresponding electrochemically active phenol derivative 2, was synthesized. Next, it was confirmed by HPLC analysis that O-aryl sialoside 1 selectively and effectively reacts with target IFV-NA among several glycosidase enzymes to produce 2 in concentration- and time-dependent manner. After preparation of acetylene terminated BDD electrode A (Yamamoto group), O-aryl sialoside 1 was immobilized on electrode A by Huisgen reaction to afford electrode B (Matsubara group). Next, electrochemical detection was examined by incubation of the electrode B with H1N1-IFV for 3 h at 37 oC. As a result, it was found that an oxidation peak corresponding to the phenol moiety produced by hydrolysis with IFV-NA was clearly observed in IFV-NA's concentration-dependent manner. These results suggested that the O-aryl sialoside terminated BDD electrode developed in this study has a potential for IFV sensors. Further progress of this study is underway in the present collaboration.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2019000008-20190364">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2019000008-20190364</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授	補助額	1,600 千円
	氏名	高橋 大介	氏名（英語）	Daisuke Takahashi		
研究課題（日本語）						
生物活性糖質固定化ダイヤモンド電極による病原体検出センサーの開発						
研究課題（英訳）						
Pathogen sensor based on boron-doped diamond (BDD) electrode terminated with biologically active carbohydrates						
研究組織						
氏名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
高橋大介 (Daisuke Takahashi)		理工学部・応用化学科・准教授				
松原輝彦 (Teruhiko Matsubara)		理工学部・生命情報学科・准教授				
山本崇史 (Takashi Yamamoto)		理工学部・化学科・専任講師				
1. 研究成果実績の概要						
<p>細胞表層上に存在する糖質は、様々なウイルスや病原菌の感染に深く関与している。例えば、インフルエンザウイルス (IFV) は、宿主細胞上のシアロ糖鎖と相互作用することで感染し、出芽の際には、シアロ糖鎖を加水分解することで感染拡大することが知られている。さらに近年、インフルエンザや新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) を含む新興感染症が世界中で猛威を奮っており、環境中の標的ウイルスおよび病原菌を高感度かつ簡便に検出する新規デバイスの開発が強く求められている。そこで本研究 (2年計画) の初年度である 2019 年度は、BDD 電極を用いた新規 IFV センサーの開発を目的として研究を行った。</p> <p>まず、IFV-NA と特異的に反応し、電気化学的に活性なフェノール部位を生成するように設計した O-アリアルシアロシド部位とアジド基を連結した糖質 1 を化学合成した。次に、1 の IFV-NA に対する反応性と酵素選択性を、HPLC を用いて定量的に評価した。その結果、1 は、数種類の糖加水分解酵素の中でも、IFV-NA 特異的かつ濃度および時間依存的に反応し、フェノール誘導体 2 を生成することを明らかにした。次に、BDD 電極上にアセチレン部位を有する基板 A を作製後 (山本)、Huisgen 反応を用いて 1 を A 上に固定化した基板 B を作製した (松原)。次に、基板 B に対して H1N1 型 IFV を作用させ、37 度で 3 時間インキュベート後、洗浄し、電気化学測定を行った。その結果、IFV の濃度依存的にフェノールの酸化反応に起因すると考えられる電流を検出できることを見出し、BDD 電極上に O-アリアルシアロシドを固定化した新規インフルエンザ検出センサーの開発に成功した。現在、さらなる高感度化と検出時間の短縮を検討するとともに、本研究成果に関する原著論文を執筆中である。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>Carbohydrates on cell surfaces play crucial roles in viral and pathogenic infections. For instance, while influenza virus (IFV) infection cycle starts with the interaction with sialoside receptors on the host cell surface, when progeny IFV releases from the host cell, influenza virus-neuraminidase (IFV-NA) on the virions cleaves off sialic acid from glycans on the host cell. Recently, emerging infectious diseases including influenza and COVID-19 have been raging all over the world. Therefore, development of the specific and sensitive devices that can detect the target viruses and pathogens is highly desirable. In this context, FY2019, we conducted the research with aim to develop a new IFV sensor based on the BDD electrode terminated O-aryl sialoside.</p> <p>Initially, O-aryl sialoside 1, which possesses an alkyl azido moiety and can react with IFV-NA to produce corresponding electrochemically active phenol derivative 2, was synthesized. Next, it was confirmed by HPLC analysis that O-aryl sialoside 1 selectively and effectively reacts with target IFV-NA among several glycosidase enzymes to produce 2 in concentration- and time-dependent manner. After preparation of acetylene terminated BDD electrode A (Yamamoto group), O-aryl sialoside 1 was immobilized on electrode A by Huisgen reaction to afford electrode B (Matsubara group). Next, electrochemical detection was examined by incubation of the electrode B with H1N1-IFV for 3 h at 37 °C. As a result, it was found that an oxidation peak corresponding to the phenol moiety produced by hydrolysis with IFV-NA was clearly observed in IFV-NA's concentration-dependent manner. These results suggested that the O-aryl sialoside terminated BDD electrode developed in this study has a potential for IFV sensors. Further progress of this study is underway in the present collaboration.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
T. Matsubara, M. Ujie, T. Yamamoto, Y. Einaga, T. Daidoji, T. Nakaya, *T. Sato	Avian Influenza Virus Detection by Optimized Peptide Termination on a Boron-Doped Diamond Electrode	ACS Sensors 2020, 5, 431-439.	2020年2月20日			
K. Asai, T. Yamamoto, S. Nagashima, G. Ogata, H. Hibino, *Y. Einaga	Electrochemical Aptamer-Based Sensor Prepared by Utilizing Strong Interaction between DNA Aptamer and Diamond	Analyst 2020, 145, 544-549.	2019年11月18日			
N. Iibuchi, T. Eto, M. Aoyagi, R. Kurinami, H. Sakai, T. Hasobe, *D. Takahashi, *K. Toshima	Photo-Induced Glycosylation Using a Diaryldisulfide as an Organo-Lewis Photoacid Catalyst	Org. Biomol. Chem. 2020, 18, 851-855.	2020年1月9日			
T. Matsubara, A. Kubo, T. Sato	Aggregation of nanoparticle modified with sugar-mimic peptide for influenza virus detection	第 68 回高分子年次大会 (高分子学会)	2019年5月31日			

松原輝彦, 久保あかね, 佐藤智典	糖鎖模倣ペプチド修飾ナノ粒子によるインフルエンザウイルスの特異的検出	第 29 回バイオ・高分子シンポジウム (高分子学会 バイオ・高分子研究会)	2019 年 7 月 26 日
山本崇史	【受賞講演】電子移動反応を活用した無機および有機材料の創出	第 43 回有機電子移動化学討論会	2019 年 6 月 27 日
D. Takahashi	【招待講演】 Organoboron-catalyzed regio- and 1,2-cis-stereoselective glycosylation via S <sub>N</sub> i-type mechanism	258th ACS National Meeting	2019 年 8 月 27 日
高橋大介	【招待講演】無保護糖質に対する位置および 1,2-cis-立体選択的グリコシル化反応 ~ 標的糖質の短段階・高選択的合成を目指して~	第 38 回日本糖質学会年会	2019 年 8 月 19 日