

環境センサ型ウイルス監視ネットワークシステムの構築の研究

研究代表者	河原敏男	中部大学	生命健康科学部	教授
共同研究者	玉田敦子	中部大学	人文学部	教授
共同研究者	大海雄介	中部大学	生命健康科学部	助手

1 はじめに

A 型インフルエンザは、公衆衛生上の大きな問題であり[1,2]、その原因ウイルスは非常に変異しやすい[3]。さらに、感染する宿主範囲が容易に変化する可能性がある。例えば、高病原性 H5N1 亜型鳥インフルエンザウイルスの感染性が遺伝子操作により調べられている[4]。また、ヒトへの感染事例が多数報告され、エジプトではヒトへの感染性を持つヘマグルチニン(HA)タンパク質の変異が見つかっている[5,6]。これらの研究結果は、鳥インフルエンザウイルスの感染宿主がヒトに変化する可能性を示唆している。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が求められている。

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、ウイルスの 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[7-10]。HA の構造からシアル酸の配位の違いが議論され[9]、また、ウイルスが結合しやすい糖鎖構造の議論も行われている[11,12]。これらの各種糖鎖を検出分子に用いることで、インフルエンザウイルスの感染性を判別するバイオセンサが開発できる。そこで、我々は、sialylglycopeptide (SGP) [13]や neoglycoprotein [14]、sialoglycopolymer [15,16]等の糖鎖分子とウイルスとの反応活性を調べている。

一方、カーボンナノチューブ[17,18]やグラフェン[19-21]等のナノカーボン材料は、本質的にナノサイズであること、及び、卓越した物性値を持つことから、次世代の半導体材料として期待されている。そして、卓越した物性値の起源はカーボンの 2 次元シートに由来する。高配向熱分解黒鉛(HOPG)の剥離からカーボンの 2 次元シートであるグラフェンが単離され、さらに、電界効果特性が報告されたのが 2004 年であった[19]。そして、卓越した特性をデバイス応用しようと激しい開発競争が行われている[22,23]。デバイス応用では、制御された位置に材料を成長させる必要があり、化学気相成長法(CVD)等の成長法が検討され[24]、現在では、銅触媒が有用であることが知られている[25]。ただし、銅は金属であるため、半導体デバイスで用いるためには、銅触媒で成長させたグラフェン層を転写法で絶縁基板に移す必要があり、品質低下のために応用が制限されている。そこで、半導体デバイス応用のために、Ni 触媒下面に成長させて表面金属層をエッチングするプロセス等の転写を避ける各種のプロセスが提案されている[26]。

カーボンナノウォール(CNW)は、数層のグラフェンから構成されるナノカーボン材料であり[27]、その単層の極限がグラフェンであるため、層数や結晶品質の制御によりグラフェンと同等の特性を示すことが期待されている。CNW は触媒なしに成長が可能のため[28]、半導体プロセスと整合性が良く、発見当初からその形状を活かした応用が検討されてきた。また、半導体デバイス応用を想定すると、品質の向上やキャリアの制御が重要であり、水素プロセスや窒素ドーピング等が試みられている。しかし、触媒を用いないため位置制御が困難であり、電界効果トランジスタ(FET)構造の作製上の問題となっていた。我々は、自己組織化プロセスを用いて CNW を配列成長させることに成功し、さらなる成長条件の探索を進めている[29-31]。さらに、ナノサイズであるがゆえに大きなノイズが存在するナノカーボン系デバイスに対して、ノイズ増強型のデバイス動作や[32-34]、その制御性を実験的に明らかにするなど[35,36]、ナノデバイスの特徴を活かした数多くの新規な応用提案してきた。以上のように、グラフェン[20]を端緒とする二次元材料の研究の拡がり著しいが、グラフェンはバイオセンサとしても高い移動度等の卓越した特性を持つ。そこで、我々は、ナノカーボン材料を中心に、高感度バイオセンサの研究を行っている[37,38]。

バイオセンサシステムの構成は各種考えられるが、感染性を検出するセンシング機構として、最初の反応

機構である糖鎖分子を用いるのが適当であり、その最適化はバイオセンサの高感度化の重要な項目の一つである。センサとしての糖鎖分子の最適化として、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。さらに、ウイルスが最初に結合する場所が細胞表面であることを考えると、ラフト構造のような空間配置も反応活性に影響を与える可能性がある。そこで、糖鎖分子の分散制御を検討している。また、生体内での反応の場合や検出感度を優先するのであれば、一個のウイルスが感染することが重要であり、分子ゆらぎが反応性を向上させる可能性もあるが[39]、一方、IoT 型モニタリングセンサ等であれば、反応のゆらぎを小さく制御しデータを安定化させるほうが良いと考えられる。本論文では、糖鎖の分布制御により感度を向上させるため、Bovine serum albumin (BSA) を足場として用いて糖鎖をクラスター化した neoglycoprotein を糖鎖プローブとして用いる検討(BSA 固定化)を行った結果について述べる。また、デバイス高性能化としてのバッファ層最適化、バイオセンサのシステム化等についても述べる。

2 結果と議論

糖鎖の分布制御による高性能化のために、糖鎖を持たないタンパク質である BSA に固定化した糖鎖とウイルスの反応の実空間観察を試みた。糖鎖としては、Sialyllactosamine (SiaLacNAc)と SGP を用いた。まず、SiaLacNAc を BSA に固定化した糖鎖プローブ(SiaLacNAc-BSA)に関して、糖鎖とウイルスの反応を述べるとともに、透過型電子顕微鏡(TEM)と原子間力顕微鏡(AFM)によるウイルスの観察について述べる。次に、BSA 固定化 SGP (SGP-BSA)に関しても糖鎖とウイルスの反応、及び、AFM による観察について述べる。

最初に、今まで sialylglycopolymer で反応実験行ってきた濃度である 1000~78.13 ng/ml に合わせて、ヒト型、及び、鳥型インフルエンザウイルスとして A/California/07/2009 (H1N1pdm) (32 HAU) と A/mallard/Hokkaido/24/2008 (H5N1) (6.4 HAU) を準備し、SiaLacNAc-BSA に対して酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)で反応性を調べた結果

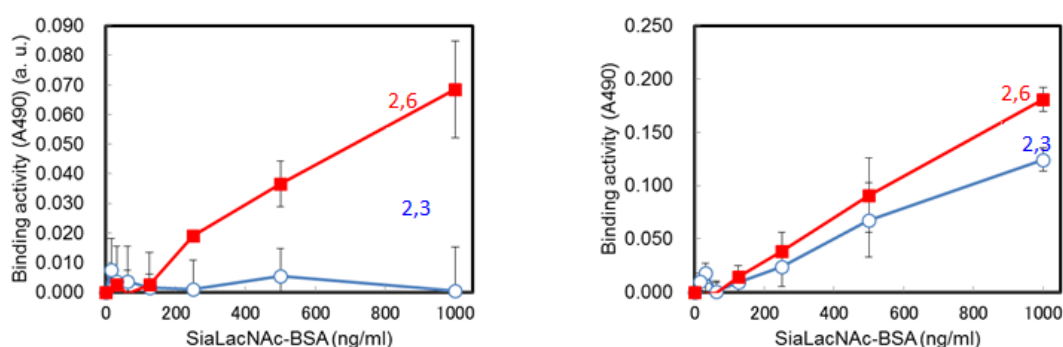


図 1 : SiaLacNAc-BSA とウイルスの反応

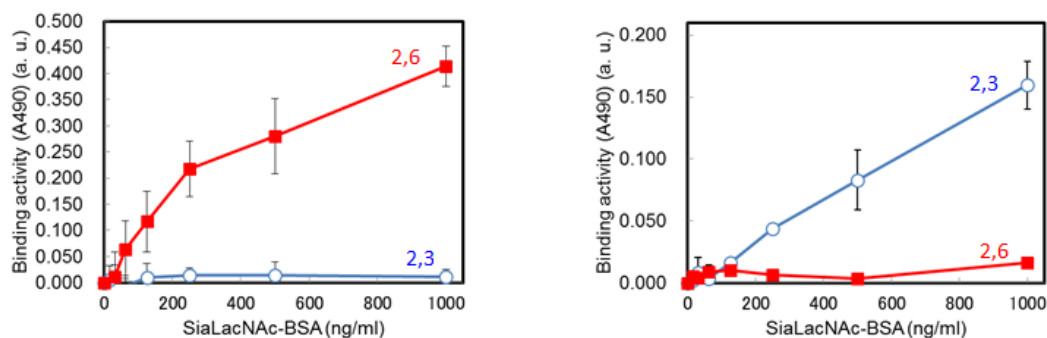


図 2 : SiaLacNAc-BSA とウイルスの反応 (鳥インフルエンザウイルスの濃度が 1/10)

を図 1 に示す。ヒト型ウイルスでは、sialoglycopolymer と同様に 2-6 配位の糖鎖との反応活性が高いことがわかると共に、データのばらつきも同程度であった。一方、鳥型ウイルスに対する反応では、2-6 配位、2-3 配位の両方の糖鎖が反応活性を持っていた。これは、ウイルス濃度依存性の実験結果を考えると、ウイルス濃度が高いときに対応すると思われる。そこで、鳥型ウイルスに対して濃度を 0.6 HAU に薄めた場合の反応実験を行った。その結果を図 2 に示す。ヒト型ウイルスに対して sialoglycopolymer と同様の反応が再現する一方、鳥型ウイルスでは、2-3 配位の糖鎖との反応性が高かった。データのばらつきも sialoglycopolymer と同程度であり、ウイルス濃度を薄めたときに反応性が同程度、すなわち、高感度化が達成出来たと言える。

以上のような糖鎖の展開状態を受けてウイルスとの反応様態を実空間で観察するために、インフルエンザウイルスに対して TEM 観察と AFM 観察を検討した。最初に、インフルエンザウイルスの TEM 像を図 3 (a) に示す。ここではウイルスを増やした際の培地を水に置換後、TEM グリッド上に展開して観察した。遠心分離の際に壊れた細胞の破片と思われる粒が残っていたが、ウイルスは 200 nm 程度の粒子として観察できた。また、AFM 観察(図 3 (b))では、夾雑物がウイルスに吸着しているようであるが、同様に 300 nm 程度の粒として観察された。この場合、ウイルスを押しつぶしているため横に広がっていると思われる。そして、エンベロープを壊したところ、100 nm 超程度の小さめの丸い粒として観測された。

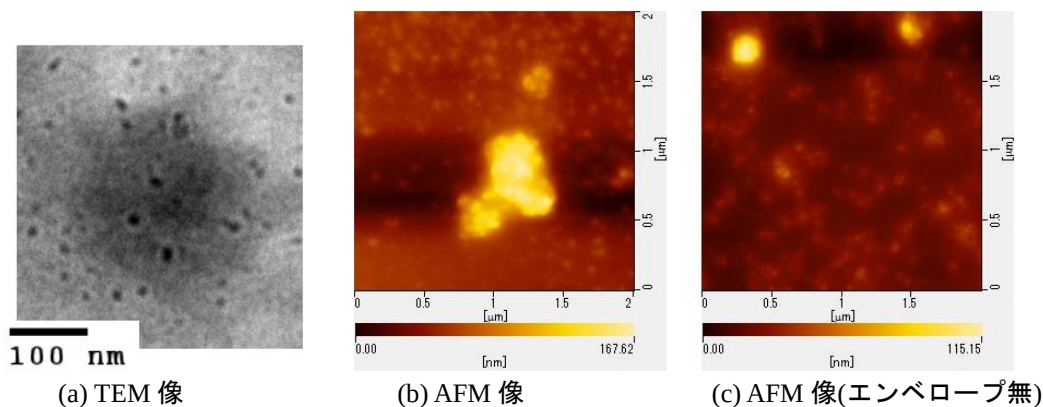


図 3：インフルエンザウイルスの透過型電子顕微鏡像と AFM 像

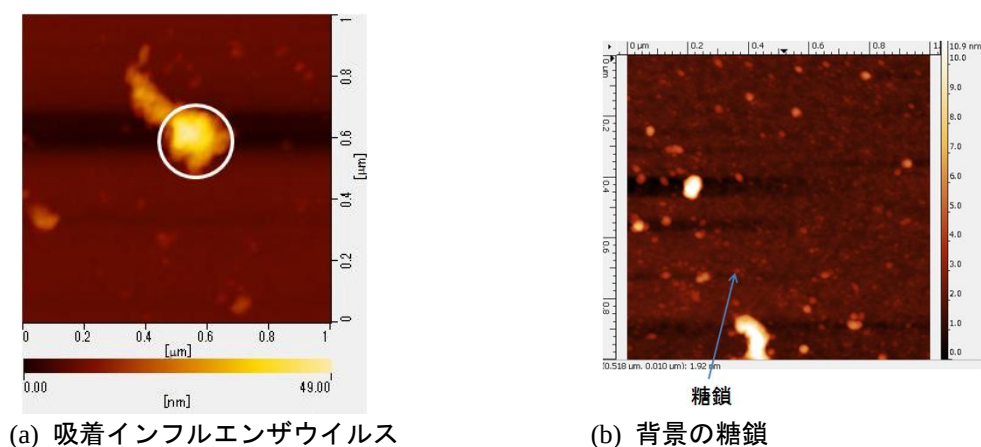
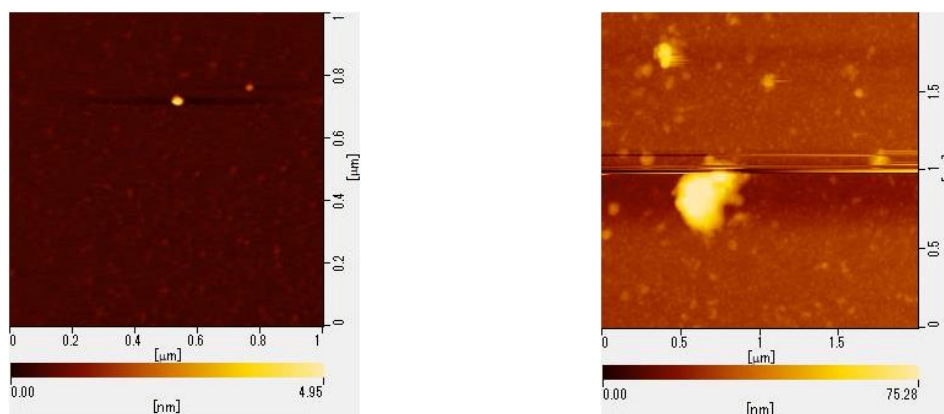


図 4：ELISA での sialoglycopolymer と結合したウイルス(a)、周辺の糖鎖(b)の AFM 像

顕微鏡観察条件は、さらに検討の余地はあるが、ウイルス観察が可能と考えられるので、ELISA によるウイルスと糖鎖の反応性評価実験プロセスに対して実空間観察を試みた。図 1, 2 に示したように、sialoglycopolymer に対して SiaLacNAc-BSA の反応性が高い理由を検討するため、ELISA 実験用プレート上で sialoglycopolymer に結合した状態のインフルエンザウイルスを AFM で観察した結果を図 4 に示す。図 4 (a)では、インフルエンザウイルスと



(a) 糖鎖のみの展開

(b) 吸着インフルエンザウイルス

図 5 : SiaLacNAc-BSA (a)、及び、結合したウイルス(b)の AFM 像

周りに吸着物がみられる。この吸着物は界面活性剤により剥がれたエンベロープかウイルス増殖中に発生した細胞のデブリのどちらかだと考えられる。また、インフルエンザウイルスの密度は、5 ミクロン四方に 1 個以下程度と考えられ、非常に小さかった。そのため、ウイルスが結合していない背景には、図 4 (b)に示すようにシアロ糖鎖が観察された。sialoglycopolymer の展開状態は一様分布であるため、結合に使われない糖鎖が多く残った状態であると考えられる。

一方、図 5 に示すように、SiaLacNAc-BSA の展開状態は、糖鎖の位置が局所化するため分布が不均一となっているが、糖鎖の存在する位置にウイルスが吸着し、未使用の糖鎖の数は少なくなっている。以上の結果、糖鎖を集中化出来た SiaLacNAc-BSA では、糖鎖濃度に対してウイルス検出感度の向上が観測されたと考えられる。これは、ウイルスを効率的に結合させるための分布制御プロセスの開発が重要であることを示している。

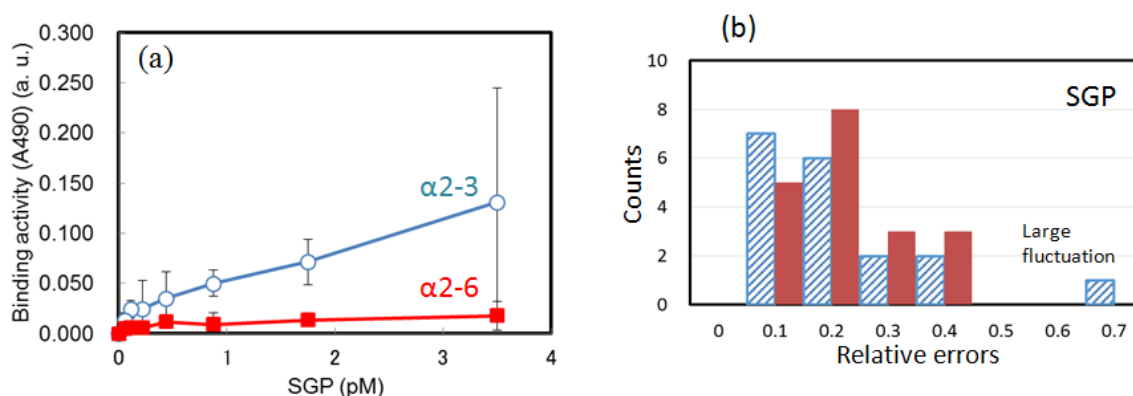


図 6 : SGP とウイルスの反応(a)と相対誤差(b)。 (b)では Red bars が H1N1、blue (hatched) が H5N1

次に、図 6 (a)に鳥インフルエンザウイルスと SGP の反応活性を示す。鳥型受容体である $\alpha 2-3$ 結合のシアロ糖鎖に対してより大きい反応活性を示す。さらに、平均値としてはあまり大きくないものの、高い反応活性を示したデータは、各種糖鎖の比較の中でも大きい方に属する。一方、ほとんど反応活性が無いデータも得られた。すなわち、エラーバーが大きく、反応活性はばらついていて、これを相対誤差でプロットすると、図 6 (b)のようになり、0.4 (40%)を超えるような大きなデータのゆらぎを持っていた。相対誤差の標準偏差は 0.170 であった。また、ヒトインフルエンザウイルスの $\alpha 2-6$ 結合シアロ糖鎖に対する反応活性の相対誤差も図 6 (b)にプロットしてあるが、標準偏差が 0.114 と少し小さいものの同様にばらつきは大きめである。

そして、検出分子である SGP の展開状態を AFM で観察した結果を図 7 (a)に示す。観察はマイカ基板上で行っているが、ELISA プレートにマイカ基板を導入した場合もウイルスと糖鎖の反応性は同様の結果となるため、吸着分子の総数は異なるものの分布の形状は同等であると思われる。糖鎖分子が基板上に数多く見ら

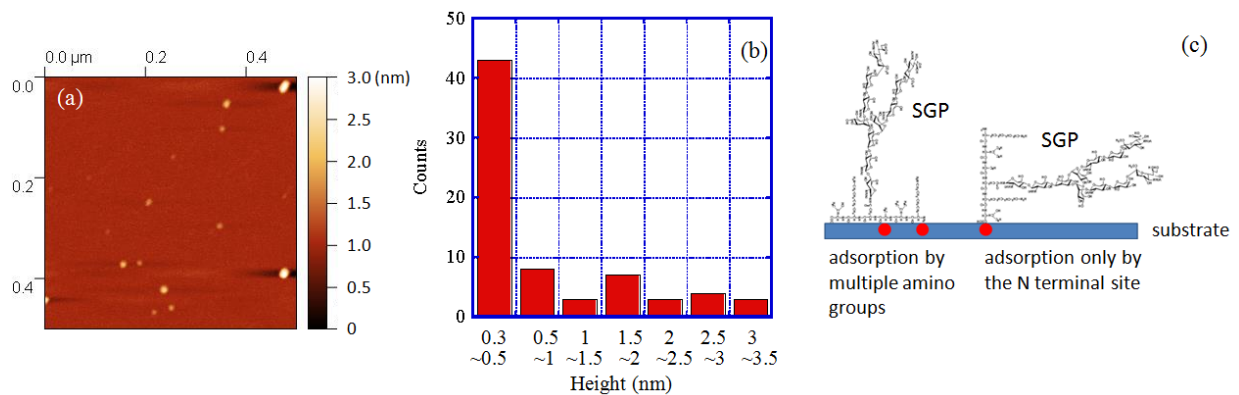


図 7 : SGP の AFM 像(a)、高さ分布(b)、SGP のアミノ基の配置の模式図

れるが、小さな分子であるシアリルラクトースに比べて、空間的に広がりを持った粒子として観察されている[37]。また、粒径は 15 nm~20 nm 程度に分布し、高さとともに大きくなった。カンチレバーの曲率の影響で絶対値は大きくなるが、この傾向は、大きな分岐鎖を持つ SGP では室温での分子ゆらぎが大きく、分子の運動で広がって見えるためであると思われる。

さらに、分子の高さの分布をヒストグラムにしたものを図 7 (b)に示す。1 nm 以下程度の高さを持つ分子が数多く見られるが、一方、3 nm 程度の高い分子も見られ、高さ分布が広がっていることがわかる。低い分子と高い分子の違いは、分子のコンフォメーションによる違いと思われる。

SGP は複数のアミノ基(リジン及び N 末端)を持ち(図 7 (c))、これが吸着サイトになるが、複数個のアミノ基で吸着した(図中の丸印で結合した)場合は立体配置となる。ここで、分岐した 2 本鎖の先端にシアリ酸がある。一方、N 末端のアミノ基だけで結合 (右図の丸印で結合) した場合は、先端のシアリ酸が横に寝た配置となる。そのため、図 7 (b)のような高さ分布の広がりが観測されたと思われる。そして、異なるコンフォメーションの糖鎖分子でインフルエンザウイルスとの反応活性が異なるため、ELISA での反応活性に分布が見られたと予想される。低い分子では、反応部位であるシアリ酸が基板に近い場合、ヘマグルチニン(HA)のポケット構造[9]がシアリ酸と結合しにくいためであると考えられる。

しかしながら、2 本鎖でシアリ酸をもつ SGP は、立体であればシアリ酸のクラスター化効果で反応活性が

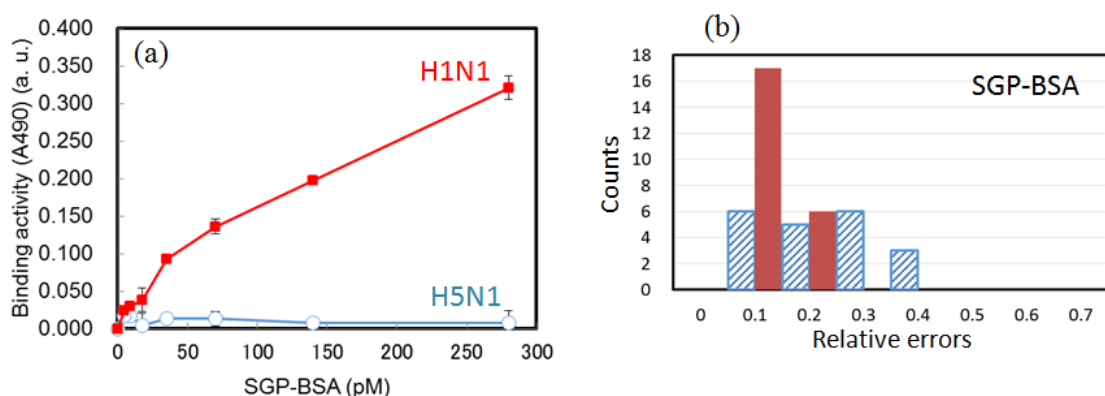


図 8 : SGP-BSA とウイルスの反応(a)と相対誤差(b)。(b)では Red bars が H1N1、blue (hatched) が H5N1

上がると予想され、そのため、基板上での糖鎖分子の展開状態の差異により、反応活性が高いデータも得られたと考えられる。

そこで、BSA に SGP を結合させ(SGP-BSA)、クラスター化効果、及び、足場として BSA を活用するプロセスを検討した。その結果、反応活性を安定化させることも目的としている。また、BSA はシアル酸を含まないように精製したものを用いているためインフルエンザウイルスとは結合しない。

図 8 (a)に、2-6 配位のシアル酸を持つ SGP-BSA に対するヒトインフルエンザウイルス(H1N1)と鳥インフルエンザウイルス(H5N1)の結合活性を示す。この場合、H1N1 に対して大きな反応活性を持つ。そして、ELISA の吸光度のエラーバーも小さいが、相対誤差でプロットしても(図 8 (b))、0.4(40%)程度以下、標準偏差は 0.084 以下と、データのゆらぎが小さくなっていた。

そして、検出分子として用いた SGP-BSA の展開状態の AFM 観察像を Fig. 4 に示す。まず、BSA に固定化された SGP の模式図を図 9 (a)に示す。クロマトグラムの結果から、おおよそ 10 個の SGP が BSA 上に結合している。当初、自己検知型カンチレバーで観察を行ったところ、一部に高い分子も観察されたが、多くの

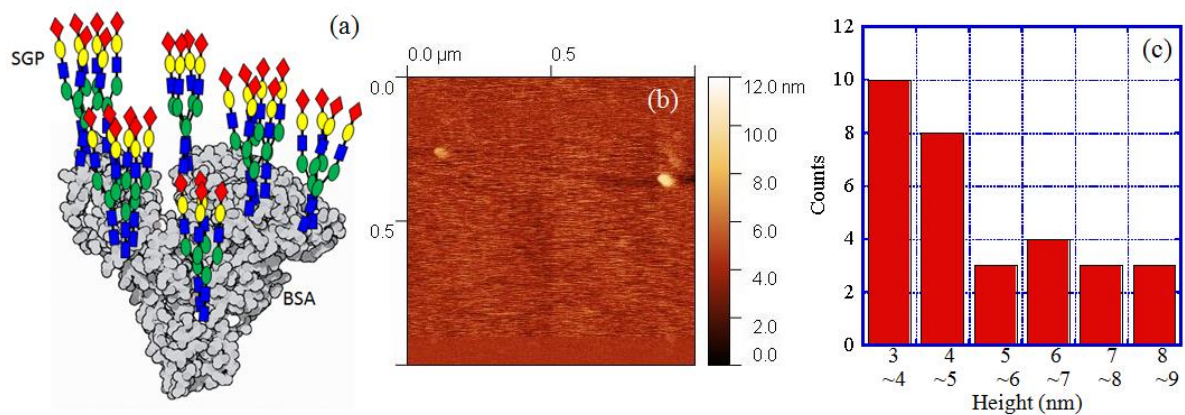


図 9 : BSA-SGP の模式図(a)、液中 AFM 像、及び、高さ分布

分子は 3 nm 程度の高さとなった。一方、図 7 (b)のような 1 nm 以下の分子は観測されなかった。高さが 3 nm 程度であるのは、柔らかい足場の上に BSA が存在するため低く観察されたと考えられる。そこで、SI-DF3 を用いて液中観察を行った。これを図 9 (b)に示す。画像の下部に測定時の乱れがあるが、観察できた領域内に 2 つの分子が観察され、それぞれ、8 nm 及び 5 nm 程度の高さを持っていた。BSA のみを液中観察したところ、高さは 4 nm 前後であり、SGP-BSA は 4 nm~9 nm の範囲の高さを持つため(図 9 (c))、BSA 上に SGP が乗っていることが確認できた。

SGP-BSA でも、高さの分布が存在するが、BSA が足場として働くため、反応部位であるシアル酸が基板表面から離れていて HA との結合に困難が伴わず、反応活性が安定化すると考えられる。さらに、糖鎖のクラスター化により反応性がエンハンスされていて、高感度で安定したプローブになったと言える。以上の結果から、2 本鎖を持つ SGP に対して、BSA を用いてクラスター化すること、あるいは、基板に対して立体になるよう結合部位を最適化すること等により高感度な糖鎖プローブを開発できると思われる。さらに、反応活性の検出方法との適合性を検討していくこと

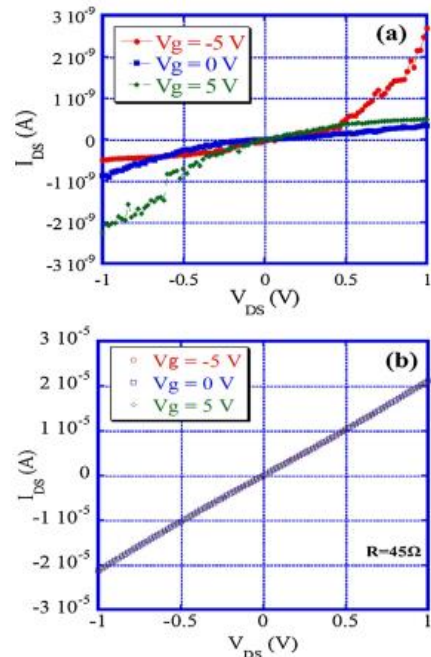


図 10 : バッファ層による特性変化。(a): バッファーなし、(b): バッファーあり

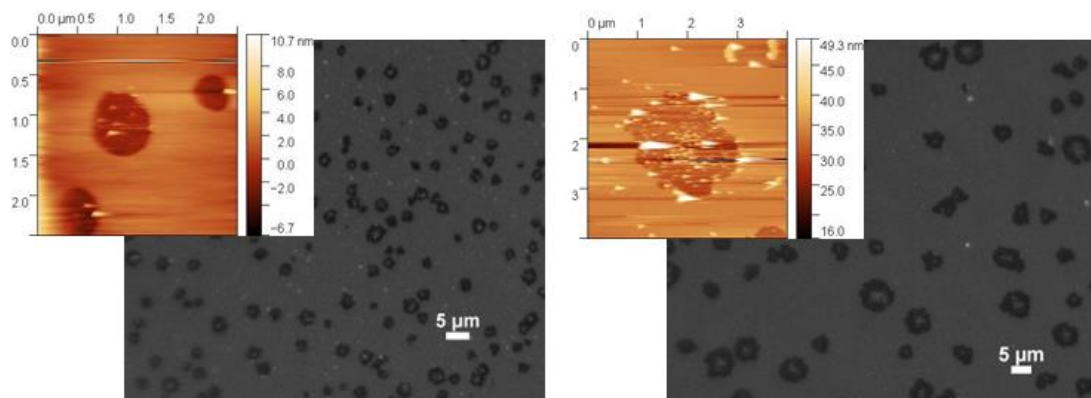


図 11: マウス由来糖脂質の膜融合構造。DKO(左図)、WT(右図)

で高感度なインフルエンザウイルスセンサの開発が可能となる。

次に、デバイス高性能化のためのバッファー層最適化を行った結果について述べる。自己組織化数層グラフェンでは、基板との相互作用のために歪みが入り、グレイン界面散乱によるキャリアの減少と電極界面でのショットキー障壁のため、半導体化すると共にドレイン電流が小さくなる。そこで、低温成長バッファー層(400℃で成長)を導入したところ、グレインサイズが大きくなることで界面散乱が減少し、金属化すると共にドレイン電流が大幅に増大した(図 10)。この結果、大きな電流を取り出すことが出来、出力回路の増幅系への負担が減少すると共に、S/N 比の向上につながると思われる。

さて、糖鎖は、様々な生体機能を制御するが、これを活用するための脂質制御について述べる。今回、様々な糖脂質変異を有する糖鎖合成酵素遺伝子のノックアウトマウスの脳からガングリオシド画分を精製し、水空気境界面における糖脂質単分子膜の挙動に対して、AFM で微細構造の観察を行った。また、ダブルノックアウト(DKO)マウスと野生型(WT)マウスを比較した。マウス由来脂質膜を膜融合で展開することで、これが異なるコントラストで観察され、糖脂質の分布動態制御・集中化に成功した(図 11)。GD1a を主成分として、いくつかのガングリオシドを含む WT マウスの脳由来ガングリオシドに比べて、GM3 のみを含む、GM2/GD2 合成酵素遺伝子と GD3 合成酵素遺伝子の DKO マウスの脳由来ガングリオシドは、明らかに小型サイズの凝集パターンを示し、生化学的に観察されている脂質ラフトの破壊状態に通じる所見が得られた。さらに、凝集パターン内に微細構造が見え始めている。

最後に、ウイルス濃縮技術の開発について述べる。ウイルスの濃縮の際には、ウイルスが塩の存在するバッファー溶液中でのみ反応することを鑑み、溶液中でも凝集構造を保つかどうかを見る必要があるため、バッファー溶液の中での液中 AFM 観察を行った。図 12 に結果を示すが、一部凝集が溶けているも

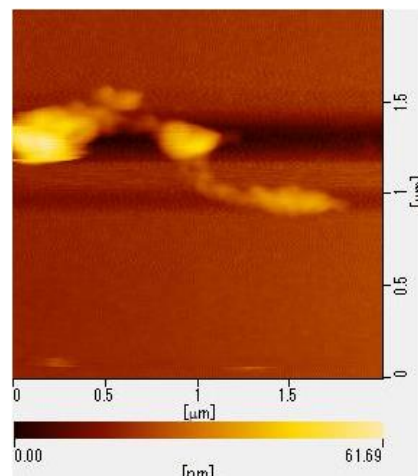


図 12 : 溶液中での凝集ウイルス



(a) 学習データ



(b) 教師データ

図 13 : 機械学習用データ例

の凝集状態を保っていることがわかった。濃縮技術は高感度化に有用であると共に、機械学習による人工フィルターに展開できるので、環境依存性等の詳細な分子反応を検討しフィルター効果を調べる予定である。また、ウイルスと細胞や糖鎖の結合に関して、微小な信号を解析しなければならないため、多数の感染実験から結合性を評価する必要がある。解析効率の向上により大電流化の要件の緩和が期待されるため、反応評価実験に使用するウイルスのブランク写真のカウンティングに関して、機械学習を試みるとともに(図 13)、前処理として特徴点抽出の効果を検討した。

3 まとめ

本研究ではセンサーネットワークのために、インフルエンザウイルスに対する超高感度センサを開発し、そのデータ処理方法を確立することでシステム化を目指している。バイオセンサとしては、グラフェン FET の表面にレセプターである糖鎖プローブを展開したものであり、糖鎖プローブのシアル酸配位によりインフルエンザウイルスの感染宿主を選択的に結合させる。高感度検出のための糖鎖プローブ構造最適化として、展開手法の比較を行った。特に、効率的な検出のための糖鎖プローブの分布制御を行った。SGP では反応性のゆらぎが大きかったが、展開プロセスの最適化により糖鎖プローブとして高効率化の可能性があったので検討した。反応性のゆらぎの原因は、分子のコンフォメーションゆらぎのために一部の分子の反応性が遮蔽されるためであるので、糖鎖を持たないタンパク質である BSA を足場分子として用いることで、分子ゆらぎをむしろ反応性の向上に用いることに成功した。また、糖鎖とウイルスの結合状態の AFM 観察から糖鎖の使用効率が向上していることが分かり、高感度化につながっていた。同時に反応性のゆらぎも抑えられ、使いやすい糖鎖プローブの開発が出来た。同様に、短い糖鎖であるシアリルラクトサミンに関しても BSA に固定化して検討を進めた。また、デバイス高性能化のためのバッファ層の最適化も行った。一方、ウイルスと細胞や糖鎖の結合に関して、微小な信号を解析しなければならないため、多数の感染実験から結合性を評価する必要がある。解析効率の向上により大電流化の要件の緩和が期待されるため、反応評価実験に使用するウイルスのブランク写真のカウンティングに関して、特徴点抽出の効果を検討した。

【参考文献】

- [1] H. Heesterbeek, R. M. Anderson, V. Andreasen, S. Bansal, D. D. Angelis, C. Dye, K. T. D. Eames, W. J. Edmunds, S. D. W. Frost, S. Funk, T. D. Hollingsworth, T. House, V. Isham, P. Klepac, J. Lessler, J. O. Lloyd-Smith, C. J. E. Metcalf, D. Mollison, L. Pellis, J. R. C. Pulliam, M. G. Roberts, C. Viboud, and Isaac Newton Institute IDD Collaboration: “Modeling infectious disease dynamics in the complex landscape of global health,” *Science*, Vol. 347, aaa4339 (2015).
- [2] P. C. Soema, R. Kompier, J. P. Amorij, and G. F. Kersten: “Current and next generation influenza vaccines: Formulation and production strategies,” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, Vol. 94, 251-263 (2015)
- [3] S. Yamada, Y. Suzuki, T. Suzuki, M. Q. Le, C. A. Nidom, Y. Sakai-Tagawa, Y. Muramoto, M. Ito, M. Kiso, T. Horimoto, K. Shinya, T. Sawada, M. Kiso, T. Usui, T. Murata, Y. Lin, A. Hay, L. F. Haire, D. J. Stevens, R. J. Russell, S. J. Gamblin, J. J. Skehel, and Y. Kawaoka: “Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human-type receptors,” *Nature*, Vol. 444, 378-382 (2006)
- [4] M. Imai, T. Watanabe, M. Hatta, S. C. Das, M. Ozawa, K. Shinya, G. Zhong, A. Hanson, H. Katsura, S. Watanabe, C. Li, E. Kawakami, S. Yamada, M. Kiso, Y. Suzuki, E. A. Maher, G. Neumann, and Y. Kawaoka: “Experimental adaptation of an influenza H5 haemagglutinin (HA) confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets,” *Nature*, Vol. 486, 420-428 (2012).
- [5] Y. Watanabe, M. S. Ibrahim, H. F. Ellakany, N. Kawashita, R. Mizuike, H. Hiramatsu, N. Sriwilaijaroen, T. Takagi, Y. Suzuki, K. Ikuta: *PLoS Pathog.* 7, e1002068 (2011)
- [6] Y. Watanabe, Y. Arai, N. Kawashita, M. S. Ibrahim, E. M. Elgendy, T. Daidoji, J. Kajikawa, H. Hiramatsu, N. Sriwilaijaroen, T. Ono, T. Takagi, K. Takahashi, T. Shioda, K. Matsumoto, Y. Suzuki, T. Nakaya: *J. Virol.* 92, e02004-17 (2018)
- [7] T. Ito, Y. Suzuki, T. Suzuki, A. Takada, T. Horimoto, K. Wells, H. Kida, K. Otsuki, M. Kiso, H. Ishida, and Y. Kawaoka: “Recognition of *N*-glycolylneuraminic acid linked to galactose by the alpha2,3 linkage is associated with intestinal replication of influenza A virus in ducks,” *J. Virol.*, Vol. 74, 9300-9305 (2000)

- [8] Y. Suzuki, T. Ito, T. Suzuki, R. E. Jr. Holland, T. M. Chambers, M. Kiso, H. Ishida, and Y. Kawaoka: "Sialic acid species as a determinant of the host range of influenza A viruses," *J. Virol.*, Vol. 74, 11825-11831 (2000)
- [9] A. Chandrasekaran, A. Srinivasan, R. Raman, K. Viswanathan, S. Raguram, T. M. Tumpey, V. Sasisekharan, and R. Sasisekharan: "Glycan topology determines human adaptation of avian H5N1 virus hemagglutinin," *Nat. Biotechnology*, Vol. 26, 107-113 (2008)
- [10] M. Matrosovich, A. Tuzikov, N. Bovin, A. Gambaryan, A. Klimov, M. R. Castrucci, I. Donatelli, and Y. Kawaoka: "Early alterations of the receptor-binding properties of H1, H2, and H3 avian influenza virus hemagglutinins after their introduction into mammals," *J. Virol.*, Vol. 74, 8502-8512 (2000)
- [11] T. Hiono, M. Okamatsu, M. Igarashi, R. McBride, R. P. de Vries, W. Peng, J. C. Paulson, Y. Sakoda, and H. Kida: "Amino acid residues at positions 222 and 227 of the hemagglutinin together with the neuraminidase determine binding of H5 avian influenza viruses to sialyl Lewis X," *Arch Virol.*, Vol. 161, 307-316 (2016)
- [12] A. S. Gambaryan, A. B. Tuzikov, G. V. Pazynina, J. A. Desheva, N. V. Bovin, M. N. Matrosovich, A. I. Klimov: "6-sulfo sialyl Lewis X is the common receptor determinant recognized by H5, H6, H7 and H9 influenza viruses of terrestrial poultry," *Virol J.*, Vol. 5, 85 (2008)
- [13] B. Sun, W. Bao, X. Tian, M. Li, H. Liu, J. Dong, and W. Huang: "A simplified procedure for gram-scale production of sialylglycopeptide (SGP) from egg yolks and subsequent semi-synthesis of Man3GlcNAc oxazoline," *Carbohydr. Res.*, Vol. 396, 62-69 (2014)
- [14] S. Nakakita and J. Hirabayashi: "Microarray Technology Methods and Applications," in *Methods in Molecular Biology*, vol. 1368, P. C. H. Li, A. Sedighi, and L. Wang, Eds. (Springer, New York, 2016), 225-235
- [15] K. Totani, T. Kubota, T. Kuroda, T. Murata, K. I. Hidari, T. Suzuki, Y. Suzuki, K. Kobayashi, H. Ashida, K. Yamamoto, and T. Usui: "Chemoenzymatic synthesis and application of glycopolymers containing multivalent sialyloligosaccharides with a poly(L-glutamic acid) backbone for inhibition of infection by influenza viruses," *Glycobiology*, Vol. 13, 315-326 (2003)
- [16] N. Sriwilaijaroen, S. Nakakita, S. Kondo, H. Yagi, K. Kato, T. Murata, H. Hiramatsu, T. Kawahara, Y. Watanabe, Y. Kanai, T. Ono, J. Hirabayashi, K. Matsumoto, and Y. Suzuki: "N-glycan structures of human alveoli provide insight into influenza A virus infection and pathogenesis," *FEBS J.*, Vol. 285, 1611-1634 (2018)
- [17] S. Iijima and T. Ichihashi: "Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter," *Nature*, Vol. 363, 603-605 (1993)
- [18] M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, and P. C. Eklund: *Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes* (Academic Press, New York, 1996)
- [19] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva, and A. A. Firsov: "Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films," *Science*, Vol. 306, 666-669 (2004)
- [20] A. K. Geim: "Graphene: Status and Prospects," *Science*, Vol. 324, 1530-1534 (2009)
- [21] M. S. Fuhrer, C. N. Lau, and A. H. MacDonald: "Graphene: Materially Better Carbon," *MRS Bull.*, Vol. 35, 289-295 (2010)
- [22] K. S. Novoselov, V. I. Fal'ko, L. Colombo, P. R. Gellert, M. G. Schwab, and K. Kim: "A roadmap for graphene," *Nature*, Vol. 490, 192-200 (2012)
- [23] F. Schwierz: "Graphene transistors," *Nat. Nanotechnol.*, Vol. 5, 487-496 (2010)
- [24] L. V. Nang and E. Kim: "Low-temperature synthesis of graphene on Fe₂O₃ using inductively coupled plasma chemical vapor deposition," *Mater. Lett.*, Vol. 92, 437-439 (2013)
- [25] X. Li, W. Cai, J. An, S. Kim, J. Nah, D. Yang, R. Piner, A. Velamakanni, I. Jung, E. Tutuc, S. K. Banerjee, L. Colombo, and R. S. Ruoff: "Large-Area Synthesis of High-Quality and Uniform Graphene Films on Copper Foils," *Science*, Vol. 324, 1312-1314 (2009)
- [26] Y. Wu, K. A. Jenkins, A. V. Garcia, D. B. Farmer, Y. Zhu, A. A. Bol, C. Dimitrakopoulos, W. Zhu, F. Xia, P. Avouris, and Y. Lin: "State-of-the-Art Graphene High-Frequency Electronics," *Nano Lett.*, Vol. 12, 3062-3067 (2012)
- [27] Y. Wu, P. Qiao, T. Chong, and Z. Shen: "Carbon Nanowalls Grown by Microwave Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition," *Adv. Mater.*, Vol. 14, 64-67 (2002)
- [28] K. Tanaka, M. Yoshimura, A. Okamoto, and K. Ueda: "Growth of Carbon Nanowalls on a SiO₂ Substrate by Microwave Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition," *Jpn. J. Appl. Phys.*, Vol. 44, 2074-2076 (2005)
- [29] T. Kawahara, S. Yamaguchi, Y. Ohno, K. Maehashi, K. Matsumoto, K. Okamoto, R. Utsunomiya, and T. Matsuba: "Carbon Nanowall Field Effect Transistors Using a Self-Aligned Growth Process," *e-J. Surf. Sci. Nanotech.*, Vol. 12, 225-229 (2014)

- [30] T. Kawahara, S. Yamaguchi, Y. Ohno, K. Maehashi, K. Matsumoto, K. Okamoto, R. Utsunomiya, T. Matsuba, Y. Matsuoka, and M. Yoshimura: “Raman spectral mapping of self-aligned carbon nanowalls,” Jpn. J. Appl. Phys., Vol. 53, 05FD10 (2014)
- [31] T. Kawahara, Y. Ohno, K. Maehashi, K. Matsumoto, K. Okamoto, R. Utsunomiya, and T. Matsuba: “Noise Spectroscopy of Self-aligned Carbon Nanowalls,” IEEE Conf. Proc.: 2015 23rd Int. Conf. Noise and Fluctuations (ICNF), 108-111 (2015)
- [32] T. Kawahara, S. Yamaguchi, K. Maehashi, Y. Ohno, K. Matsumoto, and T. Kawai: “Robust Noise Modulation of Nonlinearity in Carbon Nanotube Field-Effect Transistors,” Jpn. J. Appl. Phys., Vol. 49, 02BD11 (2010)
- [33] T. Kawahara, S. Yamaguchi, K. Maehashi, Y. Ohno, K. Matsumoto, and T. Kawai: “Cobalt Nano Particle Size Dependence of Noise Modulations in Relation to Nonlinearity,” e-J. Surf. Sci. Nanotech., Vol. 8, 115-120 (2010)
- [34] T. Kawahara, S. Yamaguchi, Y. Ohno, K. Maehashi, K. Matsumoto, S. Mizutani, K. Iataka: “Diameter dependence of 1/f noise in carbon nanotube field effect transistors using noise spectroscopy,” Appl. Surf. Sci., Vol. 267, 101-105 (2013)
- [35] T. Kawahara, S. Yamaguchi, K. Maehashi, Y. Ohno, K. Matsumoto, S. Mizutani: “Gate voltage control of stochastic resonance in carbon nanotube field effect transistors,” IEEE Conf. Proc.: 2011 21st Int. Conf. Noise and Fluctuations (ICNF), 364-367 (2011)
- [36] T. Kawahara, S. Yamaguchi, Y. Ohno, K. Maehashi, K. Matsumoto, K. Itaka: “Gate voltage dependence of 1/f noise in carbon nanotubes with the different metal contacts,” IEEE Conf. Proc.: 2013 22nd Int. Conf. Noise and Fluctuations (ICNF), doi: 10.1109/ICNF.2013.6578970 (2013)
- [37] T. Kawahara, H. Hiramatsu, Y. Suzuki, S. Nakakita, Y. Ohno, K. Maehashi, K. Matsumoto, K. Okamoto, T. Matsuba and R. Utsunomiya: Condens. Matter **1**, 7 (2016)
- [38] T. Ono, T. Oe, Y. Kanai, T. Ikuta, Y. Ohno, K. Maehashi, K. Inoue, Y. Watanabe, S. Nakakita, Y. Suzuki, T. Kawahara and K. Matsumoto: Jpn. J. Appl. Phys. **56**, 030302 (2017)
- [39] M. D. McDonnell and D. Abbott: “What Is Stochastic Resonance? Definitions, Misconceptions, Debates, and Its Relevance to Biology,” PLoS Comput. Biol., Vol. 5, e1000348 (2009)

〈発 表 資 料〉

題 名	掲載誌・学会名等	発表年月
Enhancement of malignant properties of human glioma cells by ganglioside GD3/GD2	Int. J. Oncol.	2018 年 4 月
Gangliosides in inflammation and neurodegeneration	Prog Mol Biol Transl Sci.	2018 年 4 月
N-glycan structures of human alveoli provide insight into influenza A virus infection and pathogenesis	The FEBS Journal	2018 年 5 月
(書評) 宇野木めぐみ『読書する女たち』	日本 18 世紀学会年報	2018 年 6 月
18 世紀フランスにおける表象理論の刷新と複数性	日本 18 世紀学会年報	2018 年 6 月
Effects of low temperature buffer on carbon nano wall's growth	Materials Today Communications	2018 年 8 月
Fluctuation in nano-carbon pH sensors in a liquid using CNWFETs fabricated by the self-aligned process	Proc. of 40th International Symposium on Dry Process	2018 年 11 月
Genome-wide CRISPR screens for Shiga toxins and Ricin reveal Golgi proteins critical for glycosylation	PLoS Biol.	2018 年 11 月
Differential roles of gangliosides in malignant properties of melanomas	PLOS One	2018 年 11 月

Loss of enzyme activity of mutated B4GALNT1 gene products found in patients with hereditary spastic paraplegia induces relatively mild neurological disorders Similarity with phenotypes of B4galnt1 knockout mice	Neuroscience	2019 年 1 月
Low temperature wafer-scale synthesis of hexagonal boron nitride by microwave assisted surface wave plasma chemical vapour deposition	AIP Advances	2019 年 3 月
Anti-GD2 CAR T cells could prove transformative for H3-K27M+ diffuse midline gliomas	Translational Cancer Research	2019 年 3 月
Elucidation of enigma for glycosphingolipids in the regulation of inflammation and degeneration --- A great progress over the last 70 years -	Proceedings of the Japan Academy, Ser. B.	2019 年 3 月
New era of research on cancer - associated glycosphingolipids	Cancer ScienceAccepted Articles	2019 年 3 月
培養細胞断面 SEM 観察のための Ar イオンビームによる試料作製	日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会	2018 年 5 月
糖鎖と自己免疫疾患	第 72 回 NPO 法人日本口腔科学会学術集会	2018 年 5 月
インフルエンザ感染時のレセプター糖鎖の足場構造によるクラスター形成の重要性	日仏生物学会第 188 回例会	2018 年 6 月
高分散性の乳酸菌末はマウスノロウイルス感染防御効果に優れている	公益社団法人日本食品化学工学会第 65 回大会	2018 年 8 月
Ig 上のシアル酸機能の解析と SALSA 法によるマウス脳組織のシアル化糖鎖構造解析	第 37 回日本糖質学会年会	2018 年 8 月
ブドウ種子由来プロアントシアニジンの A 型インフルエンザウイルス不活化作用	日本生薬学会第 65 回年会	2018 年 9 月
マイタケのマウスノロウイルス感染症抑制効果	日本生薬学会第 65 回年会	2018 年 9 月
インフルエンザウイルス検出のためグラフェントランジスタの構造およびプロセスの検討	第 79 回応用物理学会秋季学術講演会	2018 年 9 月
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	第 79 回応用物理学会秋季学術講演会	2018 年 9 月
SiC 上グラフェンの糖鎖機能化によるインフルエンザウイルス検出	第 79 回応用物理学会秋季学術講演会	2018 年 9 月
癌関連スフィンゴ糖脂質による細胞動態の分別的制御に関するタイムラプス解析	第 91 回日本生化学大会	2018 年 9 月
癌転移におけるエクソソームの役割の解析	第 91 回日本生化学大会	2018 年 9 月
グリオーマの微小環境調節におけるガングリオシド GD3 の役割	第 77 回日本癌学会学術総会	2018 年 9 月
糖鎖リモデリング癌細胞由来エクソソームの膜分子組成と分泌機構の解析	第 77 回日本癌学会学術総会	2018 年 9 月
Roles of asialo-series ganglioside GD1alpha in human cancer cell lines	第 77 回日本癌学会学術総会	2018 年 9 月
食用素材由来殺ウイルス活性成分の作用機序解明のためのウイルス観察の検討	大阪大学ナノテクノロジー設備供用拠点 微細構造解析プラットフォーム 2018 年度 第 1 回地域セミナー	2018 年 10 月
Effective Binding of Sugar Chains to Influenza Viruses on the Surface by the Bovine Serum Albumin Localization	14th International Conference on Atomically Controlled Surfaces, Interfaces and Nanostructures (ACSIN-14) 26th International Colloquium on Scanning Probe Microscopy (ICSPM26)	2018 年 10 月

Fluctuation in nano-carbon pH sensors in a liquid using CNWFETs fabricated by the self-aligned process	40th International Symposium on Dry Process (DPS2018)	2018 年 11 月
インフルエンザウイルスセンサのためのSGPのBSA固定化によるゆらぎの低減	2018 年日本表面真空学会学術講演会	2018 年 11 月
Temperature dependent growth of boron nitride film by surface wave assisted microwave plasma chemical vapor deposition method	第 6 回応用物理学会スチューデントチャプター東海地区学術講演会	2018 年 11 月
Roles of ganglioside GD3 in the regulation of microenvironment of gliomas	第 47 回日本免疫学会学術集会	2018 年 12 月
ナノカーボンバイオセンサーの医療への応用	(公財) 科学技術交流財団テックビズ2019セミナー「健康長寿社会に向けた AI, IOT 技術による健康の見える化」～産学官連携による研究開発～	2019 年 2 月
ウイルスと分子の反応の観察と高感度センサ開発	(公財) 科学技術交流財団 第 3 回「実用エネルギー材料開発のためのオペランド解析研究会」	2019 年 2 月
自己抗体 IgG 上の糖鎖による病態制御機構の解析	第 5 回糖鎖免疫研究会	2019 年 2 月
Study of Temperature Dependent Growth of Boron Nitride by Surface Wave Assisted Microwave Plasma Chemical Vapor Deposition Method	11th International Symposium on Advanced Plasma Science and its Applications for Nitrides and Nanomaterials 12th International Conference on Plasma-Nano Technology & Science (ISPlasma2019/IC-PLANTS2019)	2019 年 3 月
乳酸菌体の分散化がマウスノロウイルス感染防御に及ぼす影響	日本薬学会第 139 年会	2019 年 3 月
殺ノロウイルス活性を有するブドウ種子由来プロアントシアニジンの作用特性	日本薬学会第 139 年会	2019 年 3 月
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	日本薬学会第 139 年会	2019 年 3 月
微細藻類 <i>Coccomyxa</i> sp. KJ による腸管からのマウスノロウイルスの排泄抑制	日本薬学会第 139 年会	2019 年 3 月
納豆菌のインフルエンザ予防・治療効果ー腸管免疫系への関与及び活性成分の検索	日本薬学会第 139 年会	2019 年 3 月
人に優しい持続型インフルエンザウイルス消毒剤の開発と車載実装	平成 30 年度自動車安全技術研究会 第 2 回研究会	2019 年 3 月
<i>La représentation de la pluralité : pour une relecture de Foucault, Collège international de philosophie, séminaire dirigé par Claire Fauvergue</i>	UCIP, Paris	2019 年 3 月