

平成 30 年 4 月 2 日現在

機関番号：23803

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15151

研究課題名（和文）インフルエンザウイルスNAの薬剤耐性化機構の網羅的解析

研究課題名（英文）Exhaustive identification of mutations conferring drug resistance in influenza virus NA

研究代表者

高橋 忠伸（TAKAHASHI, Tadanobu）

静岡県立大学・薬学部・准教授

研究者番号：20405145

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）： インフルエンザA型ウイルス、インフルエンザB型ウイルスや感染細胞に発現する酵素「シアリダーゼ」の活性を蛍光イメージングする「BTP3-Neu5Ac」を開発し、製品化してきた。BTP3-Neu5Acを利用して、抗インフルエンザ薬（シアリダーゼ阻害剤）に耐性化したウイルスを感染細胞レベルで蛍光検出し、高い効率で分離する技術確立した。シアリダーゼの酵母発現系を構築し、BTP3-Neu5Acを使用した蛍光検出により、薬剤耐性変異の網羅的な同定を試みた。酵母発現系の構築が困難であったことから、別の方法として、BTP3-Neu5Acを利用した薬剤耐性ウイルスの簡易迅速検出法を開発した。

研究成果の概要（英文）： Influenza A and B viruses and their infected cells express an enzyme “sialidase”. We developed and commercialized a probe “BTP3-Neu5Ac” for fluorescence imaging of sialidase activity. We developed a novel technique for selective fluorescence cell imaging of drug-resistant virus-infected cells and for high-efficiency isolation of drug-resistant viruses, as application of BTP3-Neu5Ac. For the purpose of exhaustive identification of sialidase mutations conferring drug resistance, we tried viral sialidase expression in yeast but did not succeed. As an alternative way, we developed an easy and speedy method for detecting drug-resistant virus by use of BTP3-Neu5Ac. This method is expected to enable efficient detection of drug-resistant viruses and to contribute to progress of research on drug resistance mechanism.

研究分野：医歯薬学

キーワード：インフルエンザウイルス 抗インフルエンザ薬 薬剤耐性 シアリダーゼ ノイラミニダーゼ イメージング 感染細胞 分離

## 1. 研究開始当初の背景

シアリダーゼ(ノイラミニダーゼ, NA)は、糖鎖末端の糖の一種であるシアル酸を切断する酵素で、インフルエンザ A 型ウイルス (IAV) やインフルエンザ B 型ウイルス (IBV) の表面や感染細胞の表面に発現する。インフルエンザウイルスは、感染受容体として糖鎖末端のシアル酸に結合する。シアリダーゼはシアル酸を切断することで、感染細胞の膜表面に出芽した子孫ウイルスがシアル酸と結合することを防ぎ、細胞外への子孫ウイルスの遊離を助ける。現在使用されている抗インフルエンザ薬のシアリダーゼ阻害剤はウイルスのシアリダーゼ活性を阻害することで、感染細胞表面から子孫ウイルスが遊離するのを抑制し、ウイルス増殖を阻害する。

薬剤耐性インフルエンザウイルスは、抗インフルエンザ薬のシアリダーゼ阻害剤に耐性化したウイルスである。経口剤の抗インフルエンザ薬オセルタミビルに耐性化した H1N1 型 IAV で 2007 年に出現した IAV は、2008～2009 年シーズンには世界中で検出されるようになった。また、2009 年にパンデミックを起こした新型 H1N1 (H1N1pdm) 型 IAV の系統にも、オセルタミビルに耐性化したウイルス株が出現している。2011 年度以降の国内死亡原因第 3 位は肺炎である。高齢化社会が進む日本で薬剤耐性 IAV の流行は、集団単位で肺炎をもたらす危険性が高い病原体として極めて脅威となりつつある。このような背景から、薬剤耐性ウイルスの監視の重要性は高まっている。現在の薬剤耐性ウイルスの検査は、N1 型シアリダーゼの H275Y (ヒト IAV の N1 型シアリダーゼのアミノ酸番号が基準) の遺伝子変異を検出する方法が主流となっている。しかし遺伝子検出方法は、検査対象の遺伝子配列に制限され、異なる亜型や未知の薬剤耐性変異を含む検査対象外の遺伝子や変異には対応できない。将来発生する可能性のある薬剤耐性変異を網羅的に解析することで、それらの変異を遺伝子検出に利用できると共に、各変異に対して事前に有効薬剤を知ることができる。

## 2. 研究の目的

代表者はウイルスのシアリダーゼ研究の過程(引用文献①、②)で、新しい解析手法の必要性を感じていた。代表者らは、シアリダーゼ活性を局所的に蛍光イメージングするプローブ「BTP3-Neu5Ac」を開発してきた。代表者はこのプローブを利用して、細胞の固定化や抗ウイルス抗体を必要とせずに、IAV、IBV(引用文献③)や一部のパラミクソウイルス(引用文献④～⑧)のシアリダーゼ活性を 5～15 分で局所的に蛍光化する新技術を確立した。薬剤耐性ウイルスやその感染細胞に発現するシアリダーゼの酵素活性は、抗インフルエンザ薬のシアリダーゼ阻害剤存在下でも維持される。代表者は、適切な濃度の抗インフルエンザ薬存在下で

BTP3-Neu5Ac を使用して、薬剤耐性ウイルスやその感染細胞を選択的に蛍光イメージングできるものと考えた(引用文献⑨)。さらに、インフルエンザウイルスのシアリダーゼ遺伝子を発現させた酵母コロニーに、抗インフルエンザ薬と BTP3-Neu5Ac を反応させることで、薬剤耐性変異を有するシアリダーゼ発現コロニーを選択的に蛍光イメージングできるのでは?と考えた。

本研究の目的は、シアリダーゼ蛍光イメージングを利用して、薬剤耐性化したシアリダーゼを選択的に検出する技術を確立する。さらに、ランダム変異シアリダーゼ遺伝子を導入した酵母コロニーの中から、蛍光化したコロニーのシアリダーゼ遺伝子を抽出して遺伝子配列を解析することで、効率的で網羅的に薬剤耐性変異を同定する。

## 3. 研究の方法

### (1) 薬剤耐性 IAV の選択的蛍光イメージング法の確立

抗インフルエンザ薬のオセルタミビル耐性 IAV とその感染細胞は、オセルタミビル(実験には活性体のカルボキシ体を使用)の存在下でもシアリダーゼ活性を維持することから、BTP3-Neu5Ac との反応により選択的に蛍光イメージングされるものと予想された。そこで、2008～2009 年の IAV 流行株でオセルタミビル耐性 A/Shizuoka/738/2008 H1N1 株(A738 と省略)または薬剤感受性 A/Shizuoka/838/2009 H1N1pdm 株(A838 と省略)を、インフルエンザウイルスの一般的な実験や増殖に使用されるイヌ腎由来 MDCK 細胞に感染させた。無血清培地で 12 時間培養後に 20 μM BTP3-Neu5Ac と抗インフルエンザ薬の 100 nM オセルタミビルまたは 100 nM ザナミビルを同時に 37℃で 10 分間反応させた。紫外線照射下で細胞の蛍光像を観察した。

薬剤感受性 A/USSR/92/1977 H1N1 株の野生型シアリダーゼ遺伝子に、オセルタミビル耐性化 H275Y アミノ酸置換またはザナミビル耐性化 Q136K アミノ酸置換(ヒト IAV の N1 型シアリダーゼのアミノ酸番号が基準)を導入した。各シアリダーゼ遺伝子をトランスフェクションしたアフリカミドリザル腎臓由来 COS7 細胞に、100 nM オセルタミビルまたは 100 nM ザナミビルと 20 μM BTP3-Neu5Ac を含む無血清培地中で 37℃、5 分間反応させた。紫外線照射下で細胞の蛍光像を観察した。

ウイルス感染細胞をアガロースゲル培地で重層して培養すると、一つのウイルス株に由来する感染細胞集団(フォーカス)が形成される。固定化しない状態でフォーカスをピックアップできれば、ウイルス株を分離することができる。本研究では、オセルタミビル耐性ウイルスのフォーカスを選択的に蛍光イメージングし、薬剤耐性株のみを選択的に分離する方法を確立する。薬剤感受性 A838 株とオセルタミビル耐性 A738 株を MDCK 細胞に混合感染させて 2 μg/ml アセチル化トリブ

シン含有無血清アガロースゲル培地を重層した。48 時間培養後、培地上に 2 mM BTP3-Neu5Ac 液のみ、あるいは 1 μM オセルタミビルと 2 mM BTP3-Neu5Ac 混合液を滴下し、紫外線照射下でフォーカスの蛍光像を観察した。オセルタミビル存在下で蛍光化したフォーカスをピックアップし、RT-PCR とアガロースゲル電気泳動によりタミフル耐性化 H275Y 置換の遺伝子変異の有無を検出した。

#### (2) 酵母による IAV のシアリダーゼ発現系の構築

出芽酵母にシアリダーゼを発現させるため、酵母用タンパク質発現プラスミドベクター (Surevector) に A738 や A838 のシアリダーゼ遺伝子を挿入した。これらのプラスミドベクターをエレクトロポレーションにより出芽酵母に導入した。A738 のオセルタミビル耐性シアリダーゼ発現を誘導するガラクトース (Gal) 濃度を 2% と 4% とし、ピックアップした 3 個のコロニーのシアリダーゼ活性をザナミビルとオセルタミビルの存在下で測定した。

酵母におけるシアリダーゼのタンパク質発現系が成功していることを確認するため、GFP 遺伝子発現ベクターを酵母に導入した。青色光を照射し、GFP の緑色蛍光を観察した。

#### (3) BTP3-Neu5Ac をベースとする薬剤耐性 IAV の簡易迅速検出法の開発

ウイルス検出感度の向上と検出時間の短縮を目的に、簡易迅速なウイルス濃縮法を検討した。さらに、シアリダーゼ反応条件を詳細に検討した。最終的に、ウイルス遠心濃縮を 2,000×g で 1 分間、100 μM BTP3-Neu5Ac によるシアリダーゼ反応を 15 分間の計 16 分間で、携帯型紫外線ライトの照射により遠心フィルター膜上のウイルスを蛍光検出した。この方法で、10 μM 抗インフルエンザ薬の存在下で BTP3-Neu5Ac を反応させ、オセルタミビル耐性 A/Shizuoka/30/2014 H1N1pdm 株 (A30 と省略) の薬剤耐性検出を試みた。

### 4. 研究成果

#### (1) オセルタミビル耐性 IAV 感染細胞の選択的蛍光イメージング

オセルタミビル耐性 A738 または薬剤感受性 A838 の感染細胞を、オセルタミビル存在下またはザナミビル存在下で BTP3-Neu5Ac により蛍光イメージングした。オセルタミビル存在下、A738 感染細胞は蛍光化され、A838 感染細胞は蛍光化されなかった。A738 のオセルタミビル耐性を感染細胞レベルで選択的に蛍光検出できた。A738 はザナミビルに対して感受性を示すため、ザナミビル存在下では A738 と A838 の両感染細胞とも蛍光化されなかった。抗インフルエンザ薬を添加しない感染細胞では、BTP3-Neu5Ac により A738 と A838 の両感染細胞が蛍光化された (図 1)。

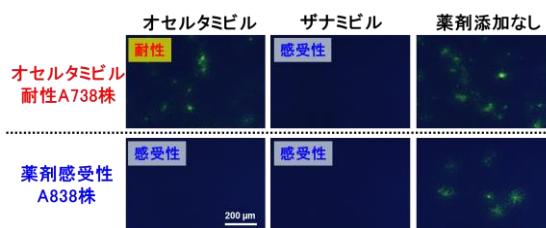


図 1 オセルタミビル耐性ウイルス感染細胞の選択的蛍光イメージング

#### (2) 薬剤耐性変異を導入したシアリダーゼの薬剤選択的蛍光イメージング

薬剤感受性 IAV の野生型シアリダーゼ遺伝子に、オセルタミビル耐性化 H275Y 置換、またはザナミビル耐性化 Q136K 置換を導入した。各シアリダーゼ遺伝子を発現させた細胞を、オセルタミビルあるいはザナミビル存在下で BTP3-Neu5Ac と反応させた。H275Y 置換体はオセルタミビル存在下で蛍光化され、ザナミビル存在下で蛍光化されなかった。反対に Q136K 置換体はザナミビル存在下で蛍光化され、オセルタミビル存在下で蛍光化されなかった。野生型シアリダーゼは両薬剤で蛍光化が阻害された。抗インフルエンザ薬を添加しないシアリダーゼ発現細胞は BTP3-Neu5Ac により、野生型、H275Y 置換体、Q136K 置換体のすべてで蛍光化された。各抗インフルエンザ薬に対して薬剤選択的に細胞レベルで蛍光検出できた (図 2)。

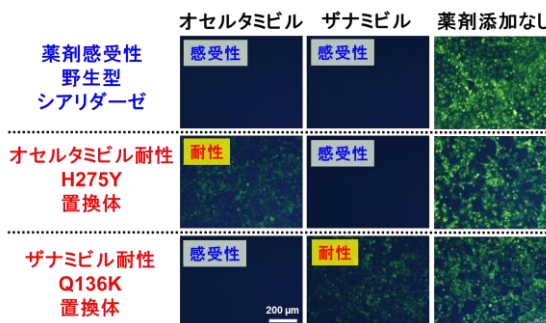


図 2 薬剤耐性変異を導入したシアリダーゼの薬剤選択的蛍光イメージング

#### (3) 薬剤耐性 IAV フォーカスの選択的蛍光イメージングと薬剤耐性株の高効率分離

オセルタミビル耐性 A738 と薬剤感受性 A838 を混合感染させた細胞をアガロース培地で培養後、形成されたフォーカスの蛍光イメージングと、オセルタミビル存在下で薬剤耐性フォーカスに選択的蛍光イメージングを行った。A738 : A838 = 100 : 0、20 : 80、4 : 96 の感染価の割合で混合感染させた時、BTP3-Neu5Ac のみにより蛍光化されたフォーカス数に顕著な違いは見られなかった。一方、オセルタミビル存在下で BTP3-Neu5Ac により蛍光化されたフォーカス数はオセルタミビル耐性 A738 の感染価に比例していた (図 3)。

A738 : A838 = 50 : 50 等量混合の感染細胞の

フォーカスをオセルタミビル存在下で蛍光化した。蛍光化フォーカスをピックアップし、分離されたウイルス株の薬剤感受性 275H とオセルタミビル耐性 275Y を RT-PCR により遺伝子検出した。分離した 24 株のすべてがオセルタミビル耐性 275Y を有していた。2 株のみであるが、薬剤感受性 275H が混在していた (図 4)。これにより、薬剤耐性ウイルスの高効率な分離法を確立できた。ウイルス感染量を減らすことで、薬剤感受性株のフォーカスが重なる確率は低くなり、さらに高い効率で薬剤耐性株を分離できるものと期待される (引用文献⑨)。

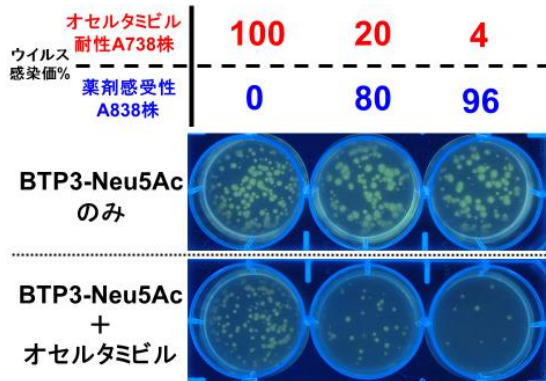


図 3 薬剤耐性株と薬剤感受性株を混合感染させた時のフォーカスの薬剤耐性選択的な蛍光イメージング

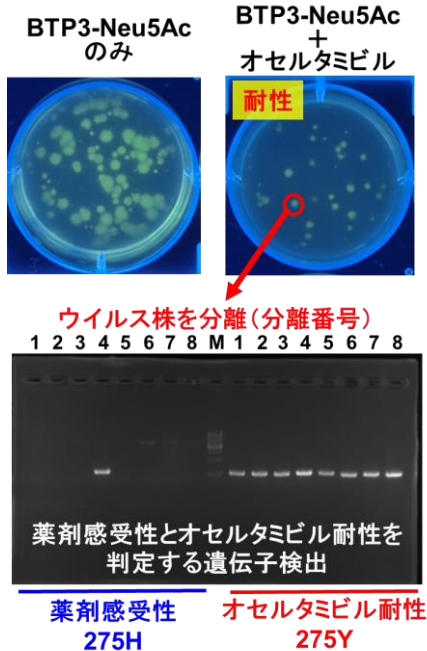


図 4 薬剤耐性フォーカスに選択的な蛍光イメージングによる薬剤耐性株の高効率分離 (図中の M は遺伝子マーカー)

(4) 出芽酵母による IAV のシアリダーゼ発現系の構築

出芽酵母に IAV のシアリダーゼを発現させるため、GAL プロモーターを有する酵母用タンパク質発現プラスミドベクターに A738 や

A838 のシアリダーゼ遺伝子を挿入し、エレクトロポレーションにより出芽酵母に導入した。A738 のシアリダーゼ発現を誘導するガラクトース (Gal) 濃度を 2% と 4% に設定し、ピックアップした 3 コロニー (#1~3) のシアリダーゼ活性を、オセルタミビルとザナミビルの存在下で市販の 4 メチルウンベリフェリルシアル酸 (4MU-Neu5Ac) により測定した。4% Gal 発現誘導のコロニー #1 で、ザナミビルだけでなく、耐性のはずのオセルタミビルまでも阻害効果が見られた (図 5)。このコロニー #1 をさらに 28°C で振とう培養し、オセルタミビルとザナミビル存在下で酵母菌体のシアリダーゼ活性を測定した。抗インフルエンザ薬に阻害効果が見られなかったこと、シアリダーゼ遺伝子を導入していない酵母のみでもシアリダーゼ活性が高かったことから (図 5)、遺伝子発現系が成功していないものと考えた。タンパク質発現を確認するため、GFP 遺伝子発現ベクターを酵母に導入した。青色光照射下、GFP の緑色蛍光コロニーがいくつか確認された (図 6 の矢印)。図 6 の右下に、緑色蛍光コロニーの拡大像を示した。タンパク質発現系は確立できていることを確認した。BTP3-Neu5Ac によるシアリダーゼ蛍光イメージングは、このような緑色蛍光コロニーが観察されるものと期待される。ただし、出芽酵母自身が発現すると考えられるシアリダーゼ活性により、バックグラウンドは比較的高かった。また、シアリダーゼは哺乳動物細胞の膜表面上に移行するが、実際に酵母細胞の表面に移行するのかは確認できていない。また、エレクトロポレーションによる酵母の形質転換効率が低下し、コロニー数が極めて少なくなっており、原因を究明中である。

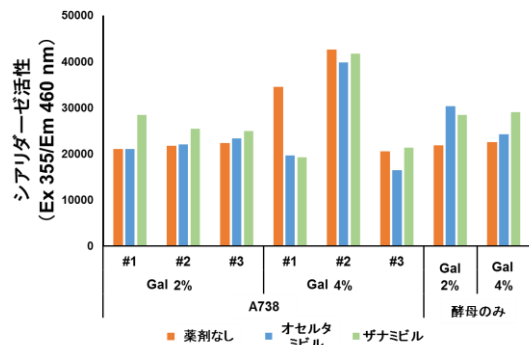


図 5 シアリダーゼ遺伝子を導入した出芽酵母のシアリダーゼ活性と抗インフルエンザ薬の阻害効果

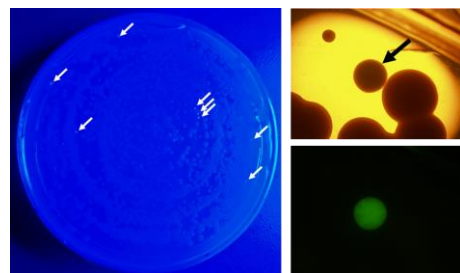


図 6 GFP 発現酵母コロニー

(5) BTP3-Neu5Ac をベースとする薬剤耐性インフルエンザウイルスの簡易迅速検出法の開発

酵母によるシアリダーゼ発現系の構築が遅れていたことから、薬剤耐性化機構の効率的な解析を目的とする別の方法を開発することにした。未知の薬剤耐性変異であっても薬剤耐性を簡易、迅速に検出できるシステムを開発することで、自然界で発生する薬剤耐性変異や人工的に薬剤耐性を獲得させる実験で生じた薬剤耐性変異を、効率的で網羅的に捕えることが可能となる。そこで、遺伝子検出に依存しない、BTP3-Neu5Ac ベースの薬剤耐性検出システムの開発を試みた。ウイルス検出感度の向上と検出時間の短縮のため、簡易なウイルス濃縮を実施した。タンパク質遠心濃縮膜フィルターを使用して、1 分間、2,000×*g* の遠心によりフィルター膜上にウイルスを濃縮した。IAV の H1N1 型株、H3N2 型株と IBV 株のシアリダーゼ反応条件としてカルシウムイオン、温度、pH の最適化を行った。最終的に、ウイルス遠心濃縮に 1 分間、100 μM BTP3-Neu5Ac を添加したシアリダーゼ反応に 15 分間の計 16 分間で、遺伝子検出器などの特殊な機器を使用せず携帯型紫外線ライト照射により、遠心フィルター膜上のウイルスを容易に蛍光検出できた。この検出システムにより、各抗インフルエンザ薬（オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビル、ラニナミビル）と BTP3-Neu5Ac を同時に反応させることで、2014 年に分離されたオセルタミビル耐性 A30 のオセルタミビル耐性と共に、ペラミビル耐性も新たに蛍光検出された（図 7、図 7 中の赤枠内が薬剤耐性検出）。本検出システムは抗体を使用せず、抗原性の変化に影響しないことから、新型 IAV 発生時にも問題なく使用できるものと期待される。

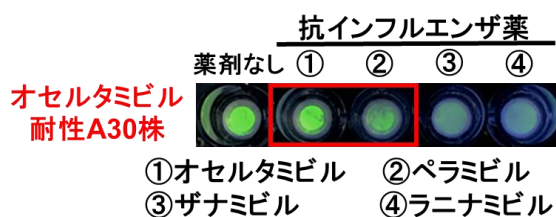


図 7 BTP3-Neu5Ac をベースとする薬剤耐性 IAV の簡易迅速検出法（オセルタミビルとペラミビルに対する耐性検出）

(6) まとめ

代表者らが開発したシアリダーゼ蛍光イメージング剤を利用して、薬剤耐性インフルエンザウイルスを感染細胞レベルで蛍光検出し、薬剤耐性株を選択的に分離する技術を確認した。この技術の論文はオープンアクセス誌に刊行され、インターネットから誰でも閲覧することができる。シアリダーゼ蛍光イメージング剤 BTP3-Neu5Ac はすでに製品化されている。多くの研究機関や衛生検査機関で、本技術を利用した薬剤耐性の検出や薬剤耐

性化機構の解析を実際に行うことができる。

BTP3-Neu5Ac をシアリダーゼの薬剤耐性化機構の効率的、網羅的解析に応用するため、酵母による IAV のシアリダーゼ発現系構築を試みた。酵母自身が発現すると思われるシアリダーゼ活性や、エレクトロポレーションによる形質転換効率の低下から発現系構築は遅れていた。そこで別の方法として、BTP3-Neu5Ac をベースとする薬剤耐性インフルエンザウイルスの簡易迅速検出法を開発した。この検出システムは、薬剤耐性株の効率的な検出と薬剤耐性化機構の効率的な解析に利用できる。現在、ザナミビル耐性株が自然界でほとんど発生していないことから、ザナミビルによる蛍光阻害によりインフルエンザ特異性を担保できる。将来、ザナミビル耐性株の流行が発生すると、別の手法でインフルエンザ特異性を判定する必要があると考えられる。本検出システムは今後、多くのウイルス株の検出確認や、検出感度の評価を行っていく。

<引用文献>

- ① Takahashi, et al. Low-pH Stability of Influenza A Virus Sialidase Contributing to Virus Replication and Pandemic. *Biol. Pharm. Bull.* 38, 817-826, 2015
- ② Takahashi. Properties of and a new technique for fluorescent detection of influenza virus sialidase. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* 27 (158), E49-E60, 2015
- ③ Takahashi, et al. Histochemical imaging of alkaline phosphatase using a novel fluorescent substrate. *Biol. Pharm. Bull.* 37, 1668-1673, 2014
- ④ Kurebayashi\*, Takahashi\* (\*These authors contributed equally to this work), et al. Imaging of influenza virus sialidase activity in living cells. *Sci. Rep.* 4, 4877, 2014
- ⑤ Takahashi, et al. Histochemical fluorescent staining of Sendai virus-infected cells with a novel sialidase substrate. *Virology* 464-465, 206-212, 2014
- ⑥ Takahashi, et al. A novel method for detection of Newcastle disease virus with a fluorescent sialidase substrate. *J. Virol. Methods* 209, 136-142, 2014
- ⑦ Takahashi, et al. Rapid fluorescent detection assay for human parainfluenza viruses. *Biol. Pharm. Bull.* 38, 1214-1219, 2015
- ⑧ Takahashi, et al. Easy and Rapid Detection of Mumps Virus by Live Fluorescent Visualization of Virus-Infected Cells. *PLoS One* 10, e0144038, 2015

- ⑨ Kurebayashi\*, Takahashi\* (\*These authors contributed equally to this work), et al. High efficiency capture of drug resistant influenza virus by sialidase activity. PLoS One 11(5), e0156400, 2016

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 17 件)

代表的な論文・総説 5 件

- ① Tadanobu Takahashi, Saori Unuma, Sawako Kawagishi, Yuuki Kurebayashi, Maiko Takano, Hiroki Yoshino, Akira Minami, Takashi Yamanaka, Tadamune Otsubo, Kiyoshi Ikeda, Takashi Suzuki. Substrate specificity of equine and human influenza A virus sialidase to molecular species of sialic acid. Biol. Pharm. Bull. 39, 1728-1733, 2016 doi.org/10.1248/bpb.b16-00345, 査読有
- ② Yuuki Kurebayashi\*, Tadanobu Takahashi\* (\*These authors contributed equally to this work), Chihiro Tamoto, Keiji Sahara, Tadamune Otsubo, Tatsuya Yokozawa, Nona Shibahara, Hirohisa Wada, Kiyoshi Ikeda, Takashi Suzuki. High efficiency capture of drug resistant influenza virus by sialidase activity. PLoS One 11(5), e0156400, 2016 doi.org/10.1371/journal.pone.0156400, 査読有
- ③ 高橋忠伸、紅林佑希、大坪忠宗、池田 潔、南 彰、鈴木 隆、シアリダーゼを利用したウイルス感染細胞の蛍光イメージング、公益社団法人 日本分析化学会「分析化学」総説論文 65 (12), 689-701, 2016 doi.org/10.2116/bunsekikagaku.65.689, 査読有
- ④ 高橋忠伸、インフルエンザウイルスが結合する糖鎖分子の機能解明、日本ウイルス学会誌「ウイルス」66 (1), 101-116, 2016 doi.org/10.2222/jsv.66.101, 査読無
- ⑤ 高橋忠伸、紅林佑希、大坪忠宗、池田 潔、南 彰、鈴木 隆、薬剤耐性インフルエンザの蛍光検出単離法、BIO Clinica 33 (3), 38-44, 2018 doi 無, 査読無

[学会発表] (計 86 件)

代表的な発表 5 件

- ① 高橋忠伸、紅林佑希、大坪忠宗、池田 潔、南 彰、鈴木 隆、シアリダーゼを利用したインフルエンザウイルスの蛍光イメージング剤の開発、日本分析化学会 第 76 回分析化学討論会(岐阜)(招待講演)、2016 年 5 月 28 日
- ② 高橋忠伸、ウイルス酵素をライブイメージングする蛍光プローブの開発、

BioJapan2016 一般財団法人バイオインダストリー協会 化学・生物素材研究開発奨励賞受賞講演(横浜)(招待講演)、2016 年 10 月 12 日

- ③ 高橋忠伸、インフルエンザウイルスの感染を可視化するシアリダーゼ蛍光イメージング剤の開発、第 21 回静岡健康・長寿学術フォーラム「生命科学研究を基盤としたモノづくり」セッション(静岡)(招待講演)、2016 年 11 月 25 日
- ④ 高橋忠伸、インフルエンザウイルス感染とシアル酸分子種、第 31 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム シンポジウム I「糖鎖とウイルス」セッション(静岡)(招待講演)、2017 年 6 月 8 日
- ⑤ 高橋忠伸、インフルエンザウイルス形成を制御するスルファチド結合機構の解明と感染細胞を蛍光イメージングするシアリダーゼ蛍光化剤の紹介、薬力学研究会 講演会(東京)(招待講演)、2018 年 2 月 8 日

[図書] (計 1 件)

- ① 鈴木 隆、高橋忠伸、南江堂、ウイルス学総論、ウイルス学各論、ウイロイド、プリオン、微生物学 病原微生物と治療薬 改訂第 7 版、2016、241-299

[産業財産権]

- 出願状況(計 0 件)  
○取得状況(計 0 件)

[その他]

- (1) ホームページ  
静岡県立大学薬学部生化学分野 HP、<http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/~biochem/index.html>
- (2) 受賞  
高橋忠伸、一般財団法人バイオインダストリー協会 2016 年度 化学・生物素材研究開発奨励賞、[http://www.jba.or.jp/pc/activities/research\\_encouragement/info/002312.html](http://www.jba.or.jp/pc/activities/research_encouragement/info/002312.html)
- (3) 新聞報道等
- ① 「耐性ウイルス判別試薬販売 インフルエンザ 県立大などが研究」朝日新聞(静岡版)、p. 20、2016 年 4 月 7 日
- ② 「インフル紫外線で確認 広島国際大チーム ウイルス反応試薬」中国新聞、2016 年 5 月 9 日(月)

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 忠伸 (TAKAHASHI, Tadanobu)  
静岡県立大学薬学部・准教授  
研究者番号：20405145

(2) 連携研究者

池田 潔 (IKEDA, Kiyoshi)  
広島国際大学薬学部・教授  
研究者番号：40168125