

## 糖鎖ナノバイオテクノロジーを基盤とした家畜家禽ウイルスの 迅速高感度検査法の確立・普及とワクチン製造技術開発

プラットフォーム名: 革新的病原体制御技術研究開発プラットフォーム

コンソーシアム名: 糖鎖ナノバイオコンソーシアム

研究代表機関名: 国立大学法人鹿児島大学大学院理工学研究科

**背景とわらい:** 家畜家禽のウイルス性疾病は全世界で大きな被害をもたらしている。その被害を最小限にするための危機管理には、農場へのウイルスの侵入防止と農場内でウイルスを「見」ながら飼育することが重要である。そのためには、生産現場で実施可能な、正確、迅速、簡便、高感度の検出法が必須であり、本研究開発において、糖鎖ナノバイオ技術と携行型高速高感度の PCR 機器開発によって検出法を完成させた。さらに、同技術により副作用フリーのワクチンアジュバントとしてのナノ粒子を開発した。

**成果の概要:** 以下の4つのテーマに沿って研究開発を行った。うち、2つの成果を紹介する。

- ① 野鳥の鳥インフルエンザウイルス (AIV) のオンサイト検査による早期防御態勢の構築と養鶏業の保護
- ② 豚流行性下痢ウイルス (PEDV) と豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) を「見」ながら養豚するシステムの実証と普及
- ③ ICTを組合わせた牛呼吸系発疹ウイルス (BRV) を「見」ながら養牛するシステムの構築、実証と普及
- ④ ワクチン製造法開発

### ②における SMGNP 法の改良と PRRSV の高脂血清の検査比較、および携行型高速高感度の PCR 機器開発

SMGNP 法における第二磁性体を改良し、特に脂質を多く含む黒豚やミニブタの血清を用いた実験において、SMGNP 法がキアゲン法よりも優れた前処理法であり、かつ処理時間は 3 分/検体であることからオンサイト検査に適していること、さらに、子豚肺胞マクロファージを用いたウイルス分離培養の実験によって、SMGNP 法が『生きて』ウイルスを、測定するための前処理法であることを明らかにした(右写真参照)。オンサイト検査のため、高速高感度多検体同時測定型 PCR (CHIM と命名) を完成させた(写真 1)。以下の特徴を有する。i) 携行可能: オンサイトでの使用可能なサイズ・重量(8 kg)。ii) 8 多検体同時検出。iii) 測定時間は約 20 分。iv) 中温領域の設定による高感度化)。v) インターカレーター法にも使用可能。



### ④における新規ワクチンアジュバントの開発

自然免疫受容体の1つTLR7の低分子リガンド1V209と糖鎖を固定化した金ナノ粒子を調製し、マウスを用いた in vivo 実験に供した。マウスの脾臓は全く腫れず、炎症作用が無く、PRRSV 培養上精を混合してマウス皮下に投与したところ、抗 PRRSV 抗体 (IgG) の産生が優位に増加し(図 1)、このナノ粒子は優れたワクチンアジュバントになりうることを示唆された。

表 1 H 社から供与された豚血清検体を用いた RT-PCR 検査における前処理法 (改良 SMGNP 法とキアゲン法)、ウイルス分離培養法、並びに検査会社のデータとの比較。改良 SMGNP 法はウイルス分離培養法の結果と一致。

検体番号	キアゲン法 (希釈無し)	キアゲン法 (10倍希釈)	改良SMGNP 法 (10倍希釈)	ウイルス分離培 養法(CPE)	検査会社の結果 RT-PCR
#1	-	-	-	-	-
#2	-	-	+	+	-
#3	-	-	+	±	+
#4	-	+	+	+	2+
#5	-	-	-	-	-
#6	+	+	+	+	2+
#7	-	-	+	+	-
#8	-	-	-	Not done	-
#9	+	-	-	-	-

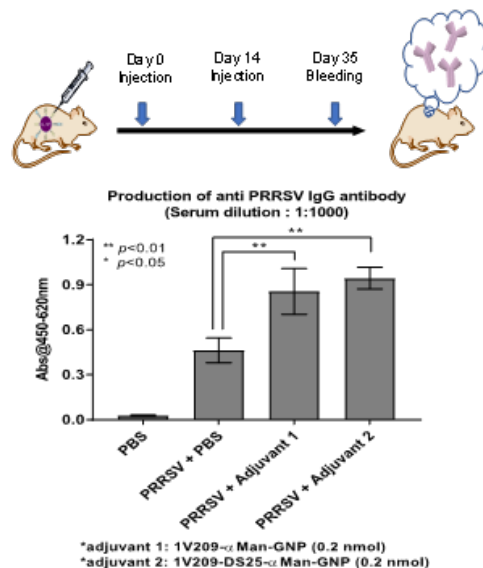


図 1 ナノ粒子と PRRSV 培養上精を同時投与した際の PRRSV 抗体価

### 商品化と社会実装の構想:

商品化と社会実装は、(株)スティックバイオテックにより、オンサイトウイルス遺伝子検査として、本事業で得られた実証結果を元に全国の養豚場や獣医、JA、家畜保健衛生所等へ営業活動を行う。この際、(株)グリーン環境マテリアル、(株)サン・ダイコーや(株)ファイネス等と連携を密にし、すでに開始している。

### 参考文献:

- (1) M. Okamatsu, M. Ozawa, 他 18 名, Characterization of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus A(H5N6), Japan, November 2016, Emerg. Infect. Dis., 23(4), 691-695 (2017).
- (2) K. Okuya, M. Ozawa, 他 7 名, Genetic characterization of an avian H4N6 influenza virus isolated from the Izumi plain, Japan, Microbiol.Immunol., 61(11), 513-518 (2017)
- (3) H. Nakagawa, M. Ozawa, 他 7 名, Genetic characterization of low-pathogenic avian influenza viruses isolated on the Izumi plain in Japan: possible association of dynamic movements of wild birds with AIV evolution, Arch. Virol., 163(4), 911-923 (2018)
- (4) H. Shinchi, Y. Suda, 他 7 名, Gold nanoparticles co-immobilized with small molecule toll-like receptor 7 ligand and  $\alpha$ -mannose for vaccine adjuvants, Bioconj. Chem., 30(11), 2811-2821 (2019)
- (5) M. Baba, M. Wakao, Y. Suda, 他 6 名, Synthesis and Immunostimulatory Activity of Sugar-conjugated TLR7 ligands, Bioorg. Med. Chem. Lett., 30, 126840 (2020)

### 構成員名:

国立大学法人鹿児島大学、国立大学法人鹿児島大学大学院理工学研究科、国立大学法人鹿児島大学共同獣医学部、国立大学法人鹿児島大学大学院医歯学総合研究科、株式会社ジャパンファーム、農事組合法人清和畜産、杏林製薬株式会社、株式会社スティックバイオテック、株式会社グリーン環境マテリアル、合同会社メディハNZ、株式会社システム技研

### お問い合わせ先

- 1) 商品化・事業化に関する問い合わせ先：  
株式会社スティックバイオテック (TEL 0798-47-6612)
- 2) 研究開発内容に関する問い合わせ先：  
鹿児島大学大学院理工学研究科 (TEL 099-285-8369)