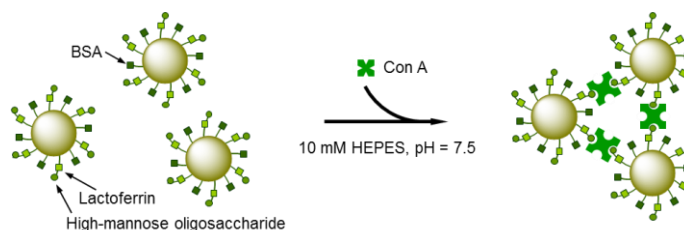


糖タンパク質ラクトフェリン修飾金ナノ粒子を利用した レクチンの凝集比色・光散乱検出

(高知大院理)○清岡千尋・波多野慎悟・渡辺 茂

【緒言】

金ナノ粒子は、凝集体の形成にともない赤から赤紫色へと劇的な色調変化を引き起こし、散乱光強度を増大させることから、これを分子認識現象とリンクさせることで高感度な凝集比色・光散乱検出薬への応用が活発に進められている。本研究では、抗菌・抗ウィルスをはじめ免疫調節や抗腫瘍作用など様々な生理活性を示す糖タンパク質(“ラクトフェリン”)をチオ



Scheme 1.

グルコース還元金ナノ粒子^{1,2)}の粒子表面に固定化し、糖鎖/糖タンパク質-タンパク質間の相互作用について調べるとともに、高選択的・高感度なレクチン検出薬への応用について検討した。

【結果・考察】

ラクトフェリン修飾金ナノ粒子(bLf-AuNP)は、チオグルコース還元金ナノ粒子を活性化後、牛ラクトフェリン(bLf)と室温で2時間反応させ合成した。このbLf-AuNPの緩衝液にマンノース特異性を示すレクチン(Con A)を添加し、スペクトル変化を観察した。溶液は赤から赤紫へと変化し、散乱光強度の著しい増加が見られた(Fig. 1a)。一方、このようなスペクトル変化は、マンノースに特異性を示さないレクチンでは観察されなかった。ラクトフェリンは、高マンノース型糖鎖を有する糖タンパク質であり、粒子表面に固定化したラクトフェリンの糖鎖とCon A間の特異的な結合によって金ナノ粒子が凝集し、局在表面プラズモンカップリングを通じてスペクトルが変化したと考えられる。実際、bLf-AuNPをグリコシダーゼ(PNGase F)で処理し、ラクトフェリンの糖鎖を除去するとCon Aを添加しても全くスペクトル変化を示さなくなった(Fig. 1b)。

さらに、スペクトルフィッティング解析からbLfとCon A間の結合定数(K_a)を算出した。算出した K_a は、単糖(マンノース)とCon A間の K_a よりもはるかに大きく、糖鎖クラスター効果を通じてCon AはbLfと結合していることを突き止めた。このような糖鎖クラスター効果は、糖鎖-レクチン間の結合力を飛躍的に高めることから、bLf-AuNPは高感度なレクチン検出薬として応用が期待できる。

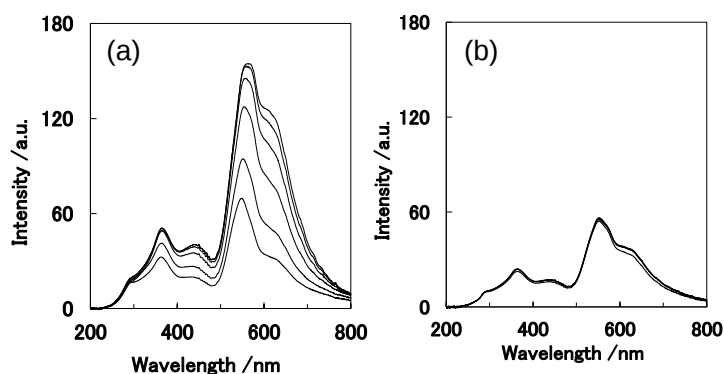


Figure 1. The LSPR light scattering spectral changes of 42.3 nm bLf-AuNPs upon addition of 0 - 133 nM of Con A (a) before and (b) after deglycosylation of the bLfs on the AuNPs with PNGase F digestion in 10 mM HEPES buffer (pH=7.5) at 25 °C.

[1] S. Watanabe, *et al.*, *Colloids Surf. B*, **2010**, 81, 570. [2] S. Watanabe, *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 8827.

Optical Detection of Lectins Using Glycoprotein Lactoferrin - Conjugated Gold Nanoparticles

C.KIYOOKA, S.HADANO, S.WATANABE (Kochi Univ, watanabe@kochi-u.ac.jp)

We have been developing optical nanoprobes based on lactoferrin-conjugated gold nanoparticles (AuNPs) that selectively and sensitively detect carbohydrate-protein interactions. Nanoparticle aggregations induced by specific carbohydrate-protein interactions shift plasmon absorption to longer wavelengths and increase plasmon light scattering. The dissociation constants (K_d) for carbohydrate-protein interactions were calculated from UV-Vis spectral data by performing computer simulations. We found that carbohydrates of lactoferrin immobilized on AuNP surfaces significantly show the much higher affinity for carbohydrate-binding proteins than monosaccharides do. Lectins can be detected with a high sensitivity using such glycoprotein-conjugated AuNPs.