

## 研究成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		会合発光色素のレクチン複合体による糖質の蛍光検出			
研究テーマ (欧文) AZ		Specific Detection of Saccharides Based on the Complexation of Aggregate Emission Dyes with Lectins			
研究氏 代 表 名 者	カタナ CC	姓)イシイ	名)ツトム	研究期間 B	2016 ~ 2017 年
	漢字 CB	石井	努	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Ishi-i	Tsutomu	研究機関名	久留米工業高等専門学校
研究代表者 CD	所属機関・職名	久留米工業高等専門学校生物応用化学科・教授			

概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)

生体内の糖質検出は、生命活動の解明や疾病診断の観点から非常に重要である。本研究では、ドナー・アクセプター色素を基盤とした糖質の蛍光検出の可能性を探求する。検出対象としては、レクチン・糖質の汎用モデル系であるコンカナバリン A (Con A) とマンノース誘導体との組合せに着目した。まず、当研究グループで開発した会合発光性ドナー・アクセプター色素にマンノース部位を導入し、Con A に結合させ、モノマー消光状態を発現させる。次に、本 Con A 複合体に対し標的糖質であるマンノース多量体を結合させ、ドナー・アクセプター色素を遊離する。その結果、遊離した色素がモノマー消光から会合発光に変わる「蛍光 OFF-ON 変化」を評価することで、糖質の蛍光検出の可能性を探求した。

まず、マンノース部位を導入したベンゾチアジアゾール・トリフェニルアミン蛍光色素を合成した。本色素は、糖質蛍光検出の鍵となるモノマー状態での消光特性及び会合状態で発光特性を有していた。更に、本色素が Con A と複合体を形成できることも判明した。しかしながら、予想に反して Con A との結合により、発光強度の向上が認められた。つまり、マンノース部位の結合により、色素部位はモノマー状態として親水性環境に放出されたのではなく、色素部位が自己会合した状態で Con A との結合が進行していた。色素部位の高い疎水性に起因した結果である。

疎水性に基づく本問題点は、申請提案時に予想できていた。そこで色素部位の疎水性の低下を目的として、アミン・ドナー側に水溶性官能基「オリゴエチレンギリコール」を導入した新規色素を設計・合成した。合成した色素に Con A を添加したところ、蛍光強度の低下が認められた。疎水性低下により自己会合体の安定性が低下し、Con A との結合により会合体の解離が進行した結果である。更に、過剰のマンノース単量体の添加により、発光特性の向上が認められた。マンノース単量体が Con A と結合することで、遊離された色素が会合し発光特性を再現したと判断できる。現在、マンノース単量体に加え、標的糖質であるマンノース多量体でも、発光特性が向上することが判明しつつある。今後は、更なる分子設計により顕著な会合発光とモノマー消光を示す色素を開発することで、マンノース多量体の結合の前後で OFF-ON 型の大きな発光変化を示す糖質蛍光検出が期待できる。

キーワード FA	会合発光	糖質	レクチン	
----------	------	----	------	--

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA							
研究機関番号 AC					シート番号							

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）							
雑誌	論文標題 GB						
	著者名 GA		雑誌名 GC				
	ページ GF	～	発行年 GE				巻号 GD
雑誌	論文標題 GB						
	著者名 GA		雑誌名 GC				
	ページ GF	～	発行年 GE				巻号 GD
雑誌	論文標題 GB						
	著者名 GA		雑誌名 GC				
	ページ GF	～	発行年 GE				巻号 GD
図書	著者名 HA						
	書名 HC						
	出版者 HB		発行年 HD				総ページ HE
図書	著者名 HA						
	書名 HC						
	出版者 HB		発行年 HD				総ページ HE

#### 欧文概要 EZ

Saccharide plays an important role in physiological and pathological processes, such as cell growth regulation and cancer cell metastasis. Thus, the saccharide detection in biological systems is a challenging task. In this study, we have proposed a strategy for the saccharide fluorescence detection based on a reversible change in fluorescence emission and quenching arising from a dynamic complexation of lectins with donor-acceptor type fluorescent dyes bearing saccharide moieties.

Triphenylamine-benzothiadiazole donor-acceptor type dyes indicated an aggregate-induced emission behavior that is related to the aggregation of the dye molecules to restrict the quenching in the monomer state arising from nonradiative deactivation in the polar aqueous environment. When the aggregates of donor-acceptor type dyes were mixed with Concanavalin A that is lectin with a mannose specificity, the fluorescence intensity was reduced. The mannopyranose moieties introduced in the dye molecules are trapped with the specific binding pocket of Concanavalin A, leading to the aggregate dissociation. In this dynamic exchange, the resulting dye-Concanavalin A conjugated complex afforded the fluorescence reduction, as found in the monomer state. The fluorescence emission was recovered reversibly by addition of excess amounts of methyl mannopyranose, because the dye-Concanavalin A conjugate was dissociated by the new complexation of Concanavalin A with methyl mannopyranose. The present reversible exchange in fluorescence emission and quenching can be applied to the saccharide fluorescence detection.