

Title	糖修飾金微粒子の合成と生体機能解析
Author(s)	豊島, 雅幸; 大矢, 健; 三浦, 佳子; 小林, 一清
Citation	粉体および粉末冶金, 54(12): 843-848
Issue Date	2007-12
Type	Journal Article
Text version	author
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10119/7942">http://hdl.handle.net/10119/7942</a>
Rights	Copyright (C) 2007 粉体粉末冶金協会. 豊島雅幸、大矢健、三浦佳子、小林一清, 粉体および粉末冶金, 54(12), 2007, 843-848.
Description	

研究

## 糖修飾金微粒子の合成と生体機能解析

豊島 雅幸<sup>1</sup>, 大矢 健<sup>2</sup>, 三浦 佳子\*<sup>1,2</sup>, 小林一清<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 北陸先端科学技術大学院大学, 〒 923-1292 能美市旭台 1-1, <sup>2</sup> 名古屋大学大学院工学研究科, 〒 464-8603 名古屋市千種区不老町

Preparation and Biological Properties of Saccharide-Modified Gold Nanoparticles.

<sup>1</sup>Masayuki Toyoshima, <sup>2</sup>Ken Ooya, <sup>1,2</sup>Yoshiko Miura\*, and <sup>2</sup>Kazukiyo Kobayashi

<sup>1</sup>School of Materials Science, Japan Advanced Institute of Science and Technology, 1-1 Asahidai, Nomi, Ishikawa 923-1292, JAPAN. <sup>2</sup>Department of Applied Chemistry, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603, JAPAN.

### SYNOPSIS

The gold nanoparticels were modified by biological active saccharides, and the properties of gold nanoparticle including protein recognition abilities were investigated.

First, the gold nanoparticle with about 8nm diameter was modified by lactose-substituted mercapto oligoethylene, The gold nanoparticle was water soluble, and aggregated by addition of the specific recognition lectin.

Then, the gold nanoparticle with 40 nm diameter was prepared by glycopolymer cattyng  $\alpha$ -mannoside. The gold nanoparticle with mannose was readily water soluble , and showed pink colour. The UV-adsorption of the gold nanoparticle was increased by addition of the specific recognition lectin of Concanavalin A though other protein didn't change the UV spectra.

### KEY WORDS

Gold nanoparticle, Saccharide, Biosensing, Lectin

## 1 緒言

細胞表層の生理活性糖鎖は、細胞の接着や分子認識、免疫システムなど多様な生命現象に関与することが知られている。<sup>1)</sup>それ故、糖鎖—タンパク質間の相互作用を感知することで、生命現象の解明、タンパク質や病原体の検出などに大きな威力を発揮するものと期待できる。<sup>2)</sup>それ故、糖鎖—タンパク質間の相互作用を感知することはプロテオーム解析に大きな役割を果たし、生命現象の解明に大いに役立つに違いない。同時に、糖鎖とタンパク質の相互作用はインフルエンザウイルスやエイズウイルス、大腸菌 O157、コレラ菌の感染、アルツハイマー病の発症など多くの疾病に関わっていることも分かってきた。それ故、糖鎖とタンパク質の相互作用を病原体の検出へと応用することも可能と期待されている。

しかしながら、糖鎖—タンパク質の相互作用は一般的に弱く、糖鎖が光電子特性を殆ど持たないために、検出することが難しい。この2つの欠点を克服した材料を創出できれば、生体機能材料として有用に違いない。第一の欠点である、糖鎖—タンパク質の微弱な相互作用は、糖鎖を密集させた化合物による、多価結合の利用によって増幅することが知られている。<sup>3)</sup>第二の欠点である、糖鎖の光電子特性の欠如は、それらの特徴を有する金属<sup>4)</sup>や微粒子<sup>5)</sup>、蛍光色素<sup>6)</sup>と結合させることで克服が可能である。我々はこれまで、糖鎖と金や半導体基板を接合させた材料の創製を行ってきた。それにより、密集した糖鎖の多価効果による優れた生体認識能と、基板の持つ電気化学的な特性を生かすことで、病原体の検出、疾病の解析が可能であることを実践的に示してきた。

こうした糖鎖修飾基板を用いた検出方法は、電気化学測定装置や表面プラズモンなどのデバイスを利用可能である。近年、金基板ではなく、金微粒子を用いることで、新しい生体デバイスの創製が可能であることが明らかになってきたことから注目を集めている。<sup>7)</sup>糖鎖を金微粒子に密集して結合させた糖鎖修飾金微粒子は、多価効果による強いタンパク質結合性と、金微粒子の強い発色性を併せ持ち、糖鎖—タンパク質の相互作用を鋭敏に検出するのに適した材料になる。<sup>8)</sup>

糖鎖修飾金微粒子はその強い発色性を生かして、イムノ沈降を利用したバイオセンサーやイムノクロマトグラフィー<sup>9)</sup>に用いることができるだけでなく、電気化学測定<sup>10)</sup>や局所プラズモン<sup>11)</sup>を利用したバイオセンシングなど、種々の方法によってタンパク質との相互作用を鋭敏に測定することが可能である。糖鎖修飾金微粒子による、バイオセンシングを確立する上では、この微粒子を調製する手法を確立すると同時に、溶解性、光学特性などの基礎的な物性を把握することが重要である。金微粒子は金属の強い疎水的性質によって水溶液中に安定に存在させ、かつ糖鎖の分子認識能を持たせることは容易ではないため、種々の分子設計が行われている。

本研究では、水溶性を安定的に付与するためにオリゴエチレングリコール鎖を介して糖鎖を結合させた微粒子の調製、また、糖鎖の多価効果を発揮する糖鎖高分子を用いた糖鎖修飾金微粒子の調製を行い、微粒子の基本的な物性について検討を行った。また、この金微粒子に対して、糖認識タンパク質であるレクチンを加えた時の物性及び光学的な性質の変化についても詳細に述べる。

## 2 試料および実験方法

### 2.1 試薬類

次の試薬類は購入した状態で用いた。ラクトース、マンノース (キシダ化学、大阪), [2-(2-クロロエトキシ)エトキシ]エタノール, アクリロイルクロライド (東京化成、東京), p-ニトロフェノール, 無水酢酸, 臭化水素, Pd/C, 無水DMF, メタノール, ナトリウムメトキシド (関東化学、東京), コンカナバリンA(ConA), 小麦胚芽 Wheat germ(WGA), *Ricinus Communis* Agglutinin 120 (RCA<sub>120</sub>) (オイルミルズ、東京), 牛血清アルブミン (シグマアルドリッチ、アメリカ)。

アクリルアミド (関東化学、東京) はクロロホルムとメタノールの混合溶媒(CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10 : 3) によって再結晶して精製した<sup>12)</sup>。

### 2.2 測定方法

分子の同定については、核磁気共鳴装置 ( $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, 500MHz)) (いずれも Varian Inova), フーリエ変換赤外線分光光度計(FT/IR-4200)(JASCO), FAB-MS によって行った. 分子の純度については, TLC(Merk)によって少なくとも 2 種類の溶媒系において同定した. 高分子の分子量については JASCO800 シリーズの高速液体クロマトグラフィーを用いて, Shodex Ohpak の SB-803 HQ を用いて, PBS バッファーを溶離液として測定し, 分子量はプルラン標準サンプルを元に算出した. 金微粒子の粒径は動的光散乱 (DLS, ゼータナノ、シスメックス社製) によって測定を行った.

### 2.3 吸光度測定

吸光度測定は (JASCO 製: V-550) , 光路長 10 mm のセルで行った. 溶媒として PBS (+) を用いた金コロイド溶液の濃度を 0.40mg/ml として, 溶媒として PBS (+) を用いたレクチン (ConA, BSA, WGA) 溶液の濃度を調節しながら加え, 2.00 $\mu\text{M}$  までの吸光度を測定した.

### 2.4 イムノクロマトグラフィー<sup>13)</sup>

ニトロセルロース (アドバンテック) 上に  $\text{RCA}_{120}$  1.0  $\mu\text{M}$  の溶液を 10  $\mu\text{l}$  塗布して, 1 時間インキュベートした. 金微粒子を用いてクロマトグラフィーを操作を行った後, スキャナーによって取り込んだ(EU-34,セイコーエプソン、日本).

### 2.5 透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察

TEM 撮影は (日立ハイテクノロジーズ製: H-9000NAR) で, 銅メッシュに炭素コートしたグリッド(応研商事製: STEM150Cu-A)を用いて, 行った. 金コロイド溶液 (田中貴金属、東京) と 1.0  $\mu\text{M}$  のコンカナバリン A を含む金コロイド溶液を用いて, サンプルを調製し, 測定を行った.

### 2.6 分子の合成

***p*-N-{2-[2-(2-mercaptoethoxy)ethoxy]}amidophenyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1-4)- $\beta$ -D-glucopyranoside**

(2)

*p*-Nitrophenyl- $\beta$ -lactoside (**1**) は定法によって合成した。 **1** (200 mg, 0.432 mmol)を水：メタノール混合溶液に溶解させ、Pd(OH)<sub>2</sub>/C (20 mg)を加え、フラスコ内を水素置換し、水素雰囲気下で 30 分磁気攪拌した。 30 分後、グラスファイバーろ紙でろ過し、減圧濃縮後、真空乾燥し、白色固体を得た。 この白色固体を DMF (10 ml)を加えて溶解し、定法で合成した[2-(2-Acetylsulfanylethoxy)ethoxy]acetic Acid (100 mg, 0.45 mmol), HATU (246 mg, 0.648 mmol), DIEA (112 ml, 0.648 mmol)の順に加えて 5 時間磁気攪拌した。 溶液を減圧濃縮した後、残渣を逆層シリカゲルカラムクロマトグラフィー (水 only→水：メタノール=10：1→3：1)で精製し、白色固体を得た。 この白色固体を脱水メタノールに溶解し、窒素雰囲気下で NaOMe を触媒量加えて磁気攪拌した。 反応の進行を TLC (クロロホルム：メタノール=1：1)で追跡した。 30 分後、アンバーリストで中和した後、ガラスフィルターでろ過し、ろ液を減圧濃縮して白色固体を得た。 (Scheme1)

<sup>1</sup>H NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$ 7.24 (d, 2H, H-meta of pNP group), 6.98 (d, 2H, H-ortho of pNP group), 4.96 (d, 1H, GlcH-1), 4.30 (d, 1H, GalH-1), 4.05 (s, 2H, H-2 of linker), 3.82 (d, 1H, GlcH-5), 3.77 (d, 1H, GalH-4), 3.53~3.69 (m, 13H, GlcH-3, GlcH-4, GalH-5, GlcH-6 x 2, GalH-6 x 2, H-3 of linker, H-4 of linker, H-5 of linker), 3.49 (dd, 1H, GalH-3), 3.45 (t, 1H, GlcH-2), 3.40 (dd, 1H, GalH-2), 2.52 (t, 2H, H-6 of linker).

#### ラクトースを有する金微粒子の調製<sup>14)</sup>

HAuCl<sub>4</sub> を出発物質として、還元した後、ヘキサチオールで被覆した金微粒子を、B Brust-Shiffrin 法に従い、真空下、140°Cで 1 時間加熱してアニーリングした。 金微粒子をクロロホルムに溶解させた上で、2-[2-(2-Methoxyethoxy)ethoxy]ethanethiol に置換し、分液操作によって水中分散する金微粒子を得た。 その上で、**2** を加えて、72 時間攪拌して、ラクトース修飾金コロイドの調製を行った。 (Scheme 2)

#### *p*-(*N*-Acrylamido)phenyl $\alpha$ -D-mannoside の重合<sup>15)</sup>

*p*-Aminophenyl  $\alpha$ -D mannose は定法によって合成した。 *p*-Aminophenyl  $\alpha$ -D mannose (50 mg, 0.15 mmol), アクリルアミド (95 mg, 1.35 mmol), (*S*-(thioenzoyl)thioglycolic acid)

(1.6 mg, 7.5  $\mu$ M) を DMSO (750  $\mu$ l), H<sub>2</sub>O (750  $\mu$ l) に溶解させ, 2,2'-Azobis(2-amino propane)-Dihydrochloride(AAPD) (1.2 mg, 4.5  $\mu$ M) を H<sub>2</sub>O (25  $\mu$ l) に溶解させ双方を重合管に入れ、脱気後、真空状態のまま封管し, 60°C, 3h で振とうさせ, 重合を行った。重合管を開管し, 溶液を遠沈管に入れたアセトン溶液中へ滴下した。3000rpm, 30min, 遠心分離した後, 透析して凍結乾燥させ, 白色の重合体 (12) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  = 7.35 (d, 2H, Ar), 7.08 (d, 2H, Ar), 5.48 (d, 1H, J = 1.8 Hz, H-1), 4.02 (dd, 1H, J = 1.8 Hz, J = 3.2 Hz, H-2), 3.89 (dd, 1H, J = 3.6 Hz, J = 8.7 Hz, H-3), 3.63 (t, 1H, J = 11.4 Hz, H-4), 3.59 (dd, 2H, J = 1.8 Hz, J = 5.4 Hz, H-6), 2.10 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-CH-), 1.45 (m, 8H, -CH<sub>2</sub>-CH-)

M<sub>w</sub> : 0.70 x 10<sup>4</sup> (GPC)、糖含有率 30.0 %

### $\alpha$ -マンノース含有糖鎖高分子を用いた金微粒子の修飾<sup>16)</sup>

$\alpha$ -マンノースを有する糖鎖高分子 (6) に NaBH<sub>4</sub> を加えて末端を還元してチオール基に変換した。マイクロチューブに 7 と 40 nm 金微粒子(田中貴金属、0.5 mg:1 ml) を入れ、遮光して1晩振とうさせた。振とう後, 超遠心分離 (120000 rpm, 2h) した後上澄みを取り除き, 凍結乾燥させ, 赤紫色の粉末 (8) を得た。(Scheme 2)

## 3 実験結果および考察

### 3.1 オリゴエチレングリコール-ラクトース誘導体による金微粒子の調製 (4)

Brust-Shiffrin 法によって生成された, 金微粒子ははじめ 2~3nm であったが, 140°C でアニーリングすることによって, 約 6-8nm まで拡大した(Figure 1)。また, 化合物 2 によって修飾したところ, 水溶性の高い金微粒子が得られた。金微粒子による修飾については, <sup>1</sup>H-NMR に, 化合物 2 のピークが存在することから確認した。得られた金微粒子を用いることで, ピンク色の色を呈し, UVスペクトルに 520nm に吸収の見られる水溶液が調製された。また, 市販の金微粒子によって, 20nm, 30nm の大きさの金微粒子の修飾を行ったが, 水溶性を得ることはできず, 沈殿が生じた。

### 3.2 ラクトース修飾金微粒子の生体認識性の検討

濃度 0.25 mg/ml のラクトース修飾金微粒子溶液 (10nm, 4) では、金コロイドは均一に分散し赤色を呈した。この状態で数日放置したあとも凝集や色変化が見られなかったことから安定に分散していることが確認された。

ラクトースは Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1 の構造を持ち、 $\beta$ -Gal 認識レクチンである、*Ricinus communis* agglutinin 120(RCA<sub>120</sub>)と結合性を有する。そこで、0.25 mg/ml のラクトース修飾金微粒子溶液に 1.0  $\mu$ M 加えたところ 10 秒後には明らかな凝集が見られ、30 秒後、3 分後と時間の経過に伴い凝集物が沈殿を生じた(Figure 2)。凝集は 1.0nM のレクチンの添加によっても見られることから、生体認識性に優れていることが示された。色調の変化は観察されなかった。糖鎖修飾金微粒子では、糖鎖が密集して存在するために、多価効果によって、効率のよい生体認識性を示すと考えられた。

金微粒子溶液では分子の凝集などにより、色調の変化が見られることが多いが、今回の実験で RCA<sub>120</sub>を加えても色調や吸収スペクトルの変化は見られなかった。金微粒子の大きさが比較的小さい (10nM 以下) ため、発色性に乏しく、金微粒子の溶解状態や、タンパク質の付加による局所プラズモンによる変化が少なかったためと考えられる。

### 3.3 金微粒子をマーカーとしたタンパク質の検出

金微粒子をマーカーとして、RCA<sub>120</sub>を固定化したニトロセルロース上でのクロマトグラフィーを行った。すると、RCA<sub>120</sub>を固定化した部位に金微粒子の堆積による色調の変化が見られ、クロマトグラフィー上でも糖鎖修飾金微粒子が、タンパク質を効率よく認識することがわかった。しかしながら、0.25 mg/ml 以下の希薄な金微粒子では明確な色調変化が観察されなかった (Figure 3)。

糖鎖修飾金微粒子では、金微粒子上に糖鎖が密集して存在するために、タンパク質と強い認識性を示し、クロマトグラフィー上でも効率よく維持される。しかしながら、金微粒子粒径が小さく、発色性が弱いために、イムノクロマトグラフィーを行う上では、その精度には難があり、大きな微粒子を使うことが必要と考えられた。

### 3.4 糖鎖高分子で修飾した金微粒子の調製

ここまでにオリゴエチレングリコール糖鎖誘導体を用いて、糖鎖修飾金微粒子の調製を行った。高い生体分子認識性があることがわかったが、金微粒子の粒径が小さいものしか溶解させることができないために、発色性に富む 20–100nm の金微粒子を利用したに基づく認識材料の調製が困難であった。そこで、より大きな金微粒子を溶解させるために、水溶性の糖鎖高分子による修飾を検討した。

マンノースを側鎖に有する糖鎖高分子を用いて、金微粒子と共に混合することで、糖鎖修飾金微粒子を得た。この手法で 40nm の粒径の金微粒子を安定的に水溶液に溶解させることが可能であった。金の付加は DLS によって、粒径が 40nm から 110nm に増大することから、観察された。また、金微粒子の NMR や IR スペクトルを測定することによっても、糖が修飾されていることもわかった。

このようなポリアクリルアミド–糖鎖共重合体はモノマーユニットの水溶性が高く、金微粒子と結合させることで、疎水性の高い金微粒子に水溶性を付与させることが可能であった。ここでは 40 nm の微粒子を用いているが、より大きな金微粒子についても溶解させることが可能であった (Figure 4)。

### 3.5 糖鎖高分子で修飾の生体認識性

濃度 0.5 mg/ml の糖鎖高分子で修飾した金微粒子 (8) は均一に分散し、赤紫色を呈した。この状態で一週間以上放置した後も凝集や色変化が見られなかったことから安定に分散していることが確認された。金微粒子のピーク波長は 533nm であった。

この金微粒子溶液に対して、 $\alpha$ –マンノース認識レクチンである、コンカナバリン A (ConA) を加え、認識による変化について調べた。0.1  $\mu$  ずつ ConA を加えていったところ、吸光度が上昇することが確認された (Figure 5)。一方で、マンノース構造を認識しない、Wheat germ agglutinin (WGA、 $\beta$ -GlcNAc 認識レクチン)を加えた時にも吸光度は上昇したが、その割合は少なかった。また、糖鎖構造を殆ど認識しない、牛血清アルブミン (BSA)

加えた時は殆ど吸光度の大きさが変化しなかった。また、 $1.0\ \mu\text{M}$ 以上のレクチンを加えた場合にはレクチンの添加によって、金コロイドがすばやく凝集することがわかった。

金微粒子を用いて、バイオセンサーを創出する上では、金微粒子の持つ、分散性とプラズモン効果によってその色調などが決まる。マンノースを有する高分子では、マンノースの認識性に基づき、ConAを加えた時に、微粒子上での局所プラズモン効果によって、吸光度の上昇が見られると考えられた。吸光度について、タンパク質特異性が見られることから、金微粒子を固定化した、基材による局所プラズモン効果を利用した高感度バイオセンサーや免疫クロマトグラフィーに応用可能であると考えられる。

#### 4 結論

生理活性糖鎖によって修飾した金微粒子を合成した。金微粒子はチオール化合物と混合することによって、容易に修飾することができた。オリゴエチレングリコール鎖で金微粒子を修飾した場合には約 10nm までの金微粒子を可溶化することができた。アクリルアミドを有する糖鎖高分子についてはリビングラジカル重合法を応用することで、末端にチオールを導入することが可能で、40nm の金微粒子を容易に可溶化することができた。得られた糖鎖修飾金微粒子は水溶液中で、糖鎖認識タンパク質のと強く結合することがわかった。また、免疫クロマトグラフィーなどへの応用が可能であることが確かめられた。

#### 文献

1. Varki A. : "Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct.", *Glycobiology*, **3** (1993) 97-130.
2. Jelinek R., Kolusheva S.: "Carbohydrate Biosensors.", *Chem. Rev.*, **104** (2004) 5987-6015.
3. Lee Y. C. : "Synthesis of some cluster glycosides suitable for attachment to proteins or solid matrices.", *Carbohydr. Res.* **67** (1978) 509-514.
4. Miura Y., Sasao Y., Dohi H., Nishida Y. and Kobayashi K. : "Self-assembled monolayers of globotriaosylceramide (Gb3) mimics: surface-specific affinity with shiga toxins.", *Anal. Biochem.*, **310**(2002) 27-35.

5. Takae, S.; Akiyama, Y.; Yamasaki, Y.; Nagasaki and Y.; Kataoka, K. :” Colloidal Au Replacement Assay for Highly Sensitive Quantification of Low Molecular Weight Analytes by Surface Plasmon Resonance”, *Bioconjugate Chem*, **18** (2007) 1241-1245.
6. Bai C., Ohru H., Nishida Y. and Meguro H. “A fluorometric determination method for D,L configurations of per-O-methylated monosaccharides by anomeric 2-methyl-2-beta-naphthyl-1,3-benzodioxole 4-carboxylation and high-performance liquid chromatography.”, *Anal. Biochem.* **246** (1997) 246-252.
7. Daniel M.-C., Astruc D.: “Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology”, *Chem. Rev.*, 104 (2004) 293-346.
8. Otsuka H., Akiyama Y., Nagasaki Y. and Kataoka K.: “Quantitative and Reversible Lectin-Induced Association of Gold Nanoparticles Modified with  $\alpha$ -Lactosyl- $\omega$ -mercapto-poly(ethylene glycol)”, *J.Am.Che.Soc.* 123 (2001) 8226-8230
9. Ahn-Yoon S., DeCory T. R., Baeumner A. J.and Durst R. A., : “Ganglioside-Liposome Immunoassay for the Ultrasensitive Detection of Cholera Toxin” ,*Anal. Chem.* **75** (2003) 2256-2261.
10. Zayats M., Baron R., Popov I. and Willner I. : “Biocatalytic Growth of Au Nanoparticles: From Mechanistic Aspects to Biosensors Design”, *Nano Lett.*, **5** (2005) 21-25.
11. Haes A. J., Zou S., Schatz G. C. and Van Duyne R. P. : “A Nanoscale Optical Biosensor: The Long Range Distance Dependence of the Localized Surface Plasmon Resonance of Noble Metal Nanoparticles”, *J. Phys. Chem. B.*, **108** (2004) 109-116.
12. Armarego W.L.F. : Purification of laboratory chemicals, 4, (1996) 77
13. Klewitz, T., Gessler, F., Beer, H., Pflanz, K., Scheper, T., “Immunochromatographic assay for determination of botulinum neurotoxin type D”, *Sens. Act.B*, **113**(2006) , 582-589.
14. Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R. “Synthesis of thiol-derivatized gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system” *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1994), 801-802.

15. Mayadunne, R. T. A.; Rizzardo, E.; Chiefari, J.; Chong, Y. K.; Moad, G.; Thang, S. H., "Living Radical Polymerization with Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer (RAFT Polymerization) Using Dithiocarbamates as Chain Transfer Agents" *Macromolecules*, **32** (1999) 6977-6980.
16. Housni, A.; Cai, H.; Liu, S.; Pun, S. H.; Narain, R." Facile Preparation of Glyconanoparticles and Their Bioconjugation to Streptavidin" *Langmuir*, 23(2007) 5056-5061.

### Figure Legend

Figure 1 TEM image of the lactose-substituted gold nanoparticle.

Figure 2 The observation of the lactose-substituted gold nanoparticle with addition of RCA<sub>120</sub>.

Figure 3 The immunochromatography using the lactose-substituted gold nanoparticle with RCA<sub>120</sub>.

Figure 4 TEM images of the gold nanoparticles modified with glycopolymer (**8**). (a) The gold nanoparticle transferred from the aqueous solution, and (b) transferred from the aqueous solution with Con A.

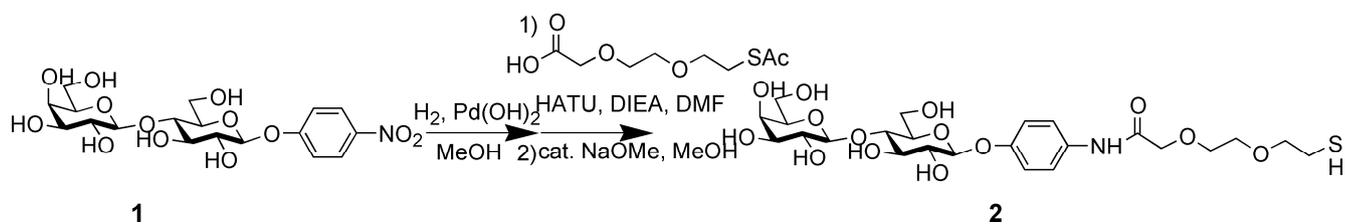
Figure 5 The UV adsorption of the gold nanoparticle (**8**) with addition of Con A. (a) The UV spectra, and (b) the change of absorbance of the gold nanoparticle with changing the concentration of lectins ((a) Con A, and (b) Con A, WGA and BSA)),.

### Schemes

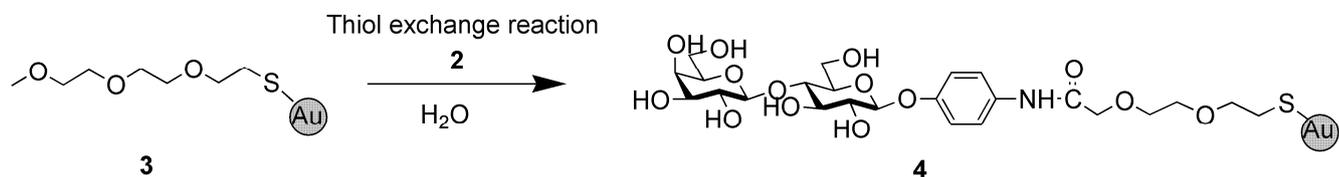
Scheme 1 Synthesis of lactose-substituted organomercaptan.

Scheme 2 Preparation of the lactose-substituted gold nanoparticle

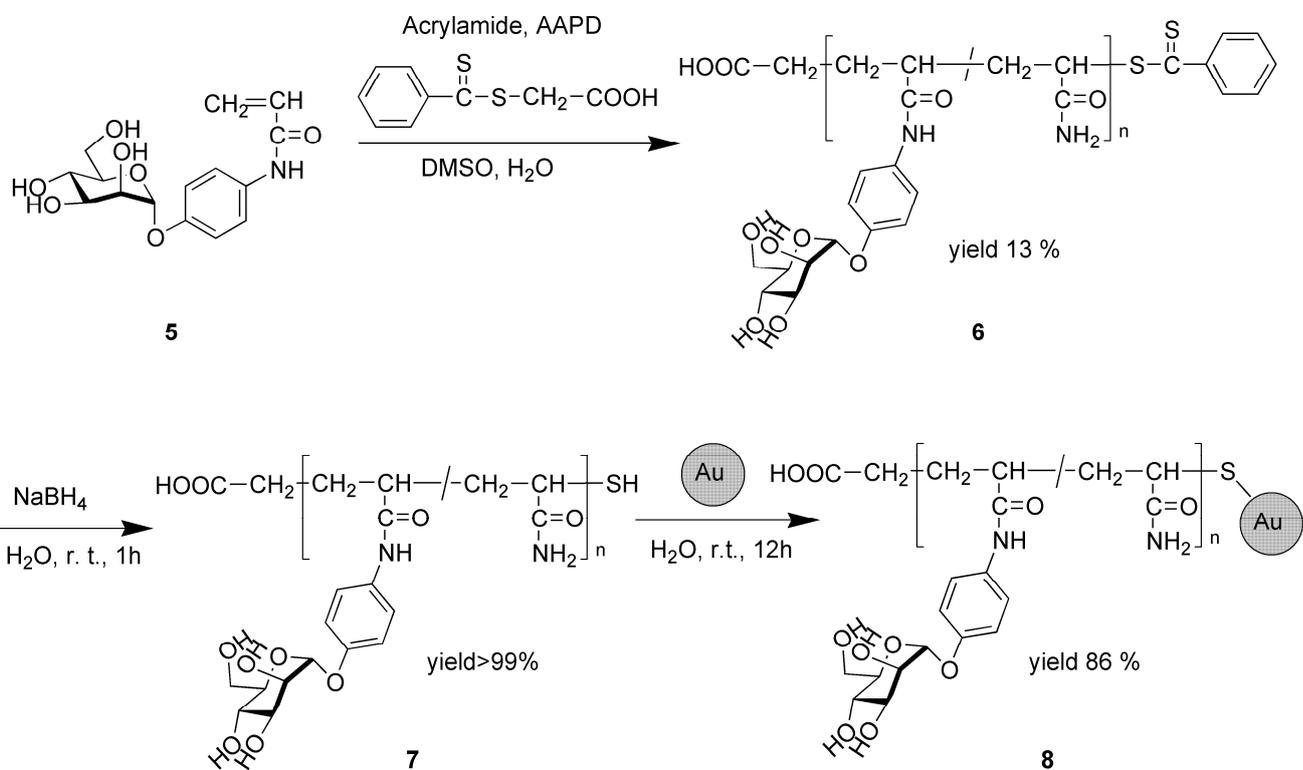
Scheme 3 Preparation of the glycopolymer modified gold nanoparticle via a living radical polymerization.



(Scheme 1)

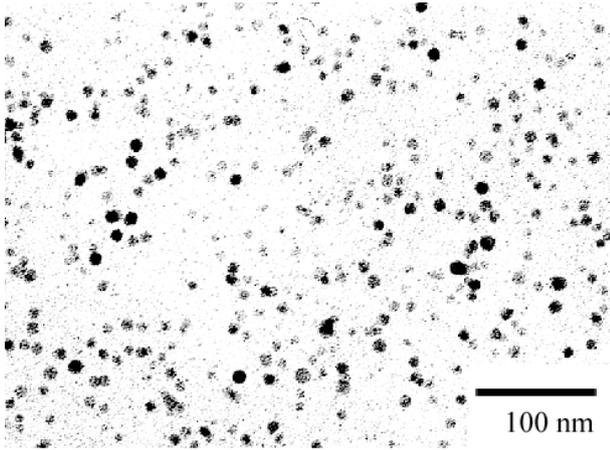


(Scheme 2)

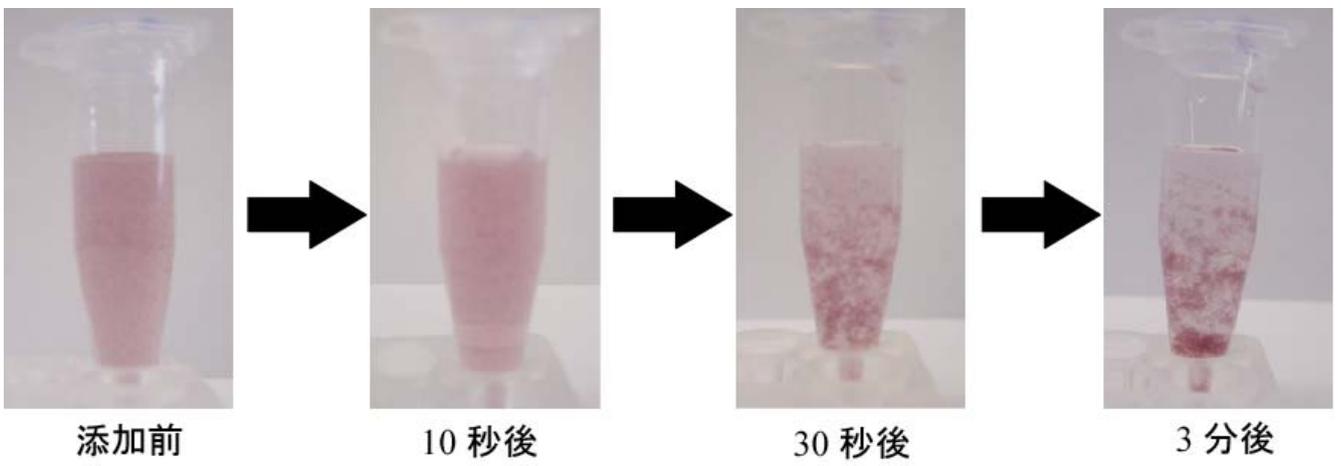


(Scheme 3)

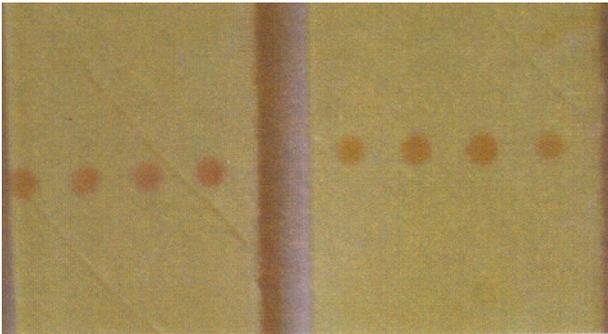
Figure



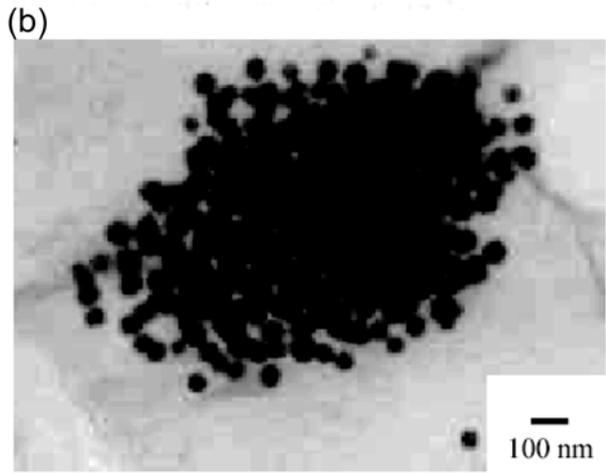
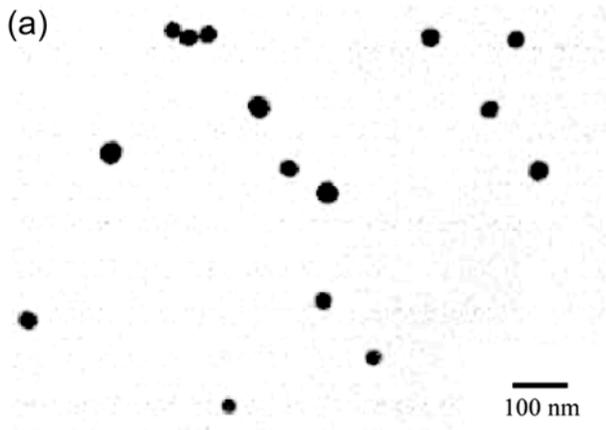
(Figure 1)



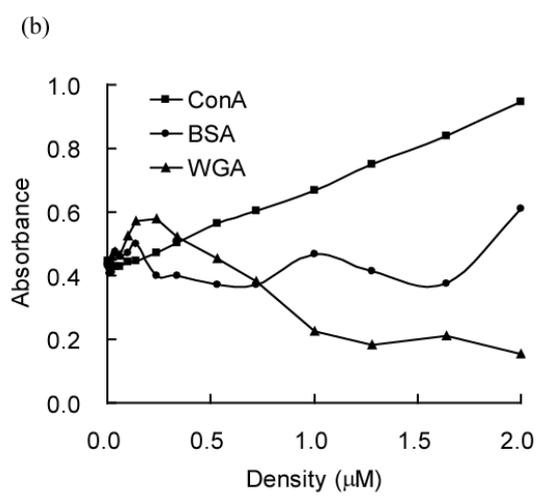
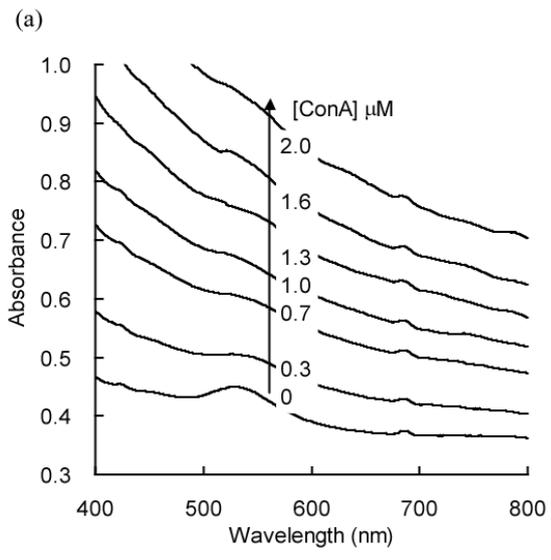
(Figure 2)



(Figure 3)



(Figure 4)



(Figure 5)

## アブストラクト

生理活性糖鎖によって金微粒子を修飾し、その物性と生体機能について検討を行った。

まず、オリゴエチレン鎖をもつラクトースによって、直径約 8nm の金コロイドを修飾した。この金微粒子は水溶性であるが、特異的に認識するレクチン（糖認識タンパク質）を加えると凝集した。

また、40nm の直径をもつ金微粒子について、 $\alpha$ -マンノースを有する糖鎖高分子によって修飾を行った。糖鎖高分子については、リビングラジカル重合によって合成し、チオール基を末端に導入した。糖鎖高分子で修飾した金微粒子は水溶性で、赤紫色を呈した。この金微粒子溶液に対して、タンパク質を加えていくと、特異的な認識を示すレクチンの時に吸光度の上昇が観察された。