

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
FS ステージ シーズ顕在化タイプ 事後評価報告書

研究開発課題名	: 一波長励起型パターンオーダーメイド蛍光プローブ群の開発
プロジェクトリーダー	: 京都電子工業(株)
所属機関	: 京都電子工業(株)
研究責任者	: 椿一典 (京都府立大学)

1. 研究開発の目的

本課題はフローサイトメトリーにおける多重染色法によるマルチカラー解析の際、適切な抗体と蛍光色・蛍光強度をユーザーが自由に選択し、細胞あたりの蛍光強度を容易に調整できる、これまでにない製品コンセプトを備えた単一励起光源型蛍光プローブ群を開発することを目指している。シーズ顕在化タイプにおいては、作製した蛍光化合物ライブラリから2種類以上を選抜、蛍光標識抗体を調製して特性を評価すると共に、新規にフロー系に適した抗体2種類以上を作製し、フローサイトメトリーへの適性を評価することで、単一励起光源型蛍光プローブ群の開発可能性を検討する。

2. 研究開発の概要

①成果

研究責任者が考案した9種の(ジ)ベンゾキサントン骨格を鍵中間体とする合成方法により、短期間に50種以上の蛍光化合物の合成に成功し、本合成方法の有効性を示すことが出来た。さらに、2種類の蛍光化合物の混合溶液を三次元蛍光スペクトルにより解析した結果、メタノール溶液中ではあるが、本課題が目指す一波長励起／多波長発光が原理的に可能であることが確かめられた。一方で本実施期間に評価した蛍光化合物はいずれも水溶液中での蛍光特性に問題があることがわかり、今後、実用化に向けての課題が明確になった。

また、細胞表面蛋白質に対する抗体開発に関して、継続的な作製の技術的見通しが得られた。

研究開発目標	達成度
① 50 種以上の蛍光化合物を合成する。	① 3 種類の基本となる蛍光化合物を選択し、その物量確保と、誘導体化を行った。50 種類以上の誘導体を合成した。
② 2 種以上のリンカーを導入した蛍光化合物を合成する。	② 一次評価用に5種類のリンカーを導入した蛍光化合物を合成した。評価結果に基づき、問題点の改良を意図した蛍光化合物を合成した。
③ 標識抗体の特性及び機能を確認する。	③ 2 種類の蛍光化合物により抗体を標識し、標識後の抗体の反応性等を評価した結果、標識方法に問題ないことが確認できた。ただし、実用化に向けては水溶液中での蛍光量が不足していた。
④ フローの系に適した免疫誘導能を有する抗体産生マウスを選抜する。	④ 免疫マウス血清中に標的蛋白質特異的 IgG が産生されていることを、CD44 発現細胞を用いたウエスタンブロッティングにより確認した。次いで血清とCD44 発現細胞によるフローサイトメトリーの系構

	築を試みた結果、細胞表面の CD44 と反応性を有すると考えられるマウス血清を見出した。
--	--

②今後の展開

本課題が目指す単一励起光源型蛍光プローブ群の開発において、緩衝溶媒中で十分に機能する蛍光色素の合成が課題であることが明確になった。本研究開発を通し、既に、具体的な改良を加えるアイデアも得ることが出来ており、研究開発を継続し、目標を達成したい。

事業化の第一歩として、一波長励起／多波長発光の蛍光化合物による標識抗体をフローサイトメトリー用として製品化することを想定しているが、将来的にはライフサイエンス分野で用いられている種々の蛍光検出技術とのマッチングの可能性を考えている。

3. 総合所見

目標通りの成果が得られ、イノベーション創出が期待される。水溶性や蛍光強度など、改良に向けての課題やその解決方法が明確になりつつあるので、今後の進展に期待したい。

以上