

シクロデキストリン包接によるピレン骨格蛍光色素の光退色挙動

○紋川 亮^{*1)}、中川 朋恵^{*2)}

1. 目的・背景

イメージングやセンシング技術は、複雑な生体物質の機能を解明するバイオテクノロジーの分野において重要な技術である。特に、蛍光色素は、バイオ関連研究において不可欠なツールとして用いられている。蛍光色素の問題点は、蛍光顕微鏡による経時的観察や、共焦点レーザー顕微鏡による3次元立体観察のような同一視野を何度も励起する必要がある観察において、照射する励起光により、分子構造が破壊され、蛍光強度が劣化する点にある。このため、長時間試料を観測し続けることは困難であり、その改善策が求められていた。本研究では、分子の包接現象を利用して蛍光部位の破壊を防ぐことで、長期間安定な蛍光強度を保つことができる蛍光色素の開発を目指す。

2. 研究内容

(1) 実験方法

本研究では、ピレン骨格蛍光色素として、ジアミノピレンを用いた。ジアミノピレンを DMSO 中に溶解させ、1mM のジアミノピレン溶液を作製した。ジアミノピレン溶液に、 β -シクロデキストリン (CD) を 0.5 当量加え、超音波処理により溶解後、蛍光分光光度計を用いて蛍光スペクトルを測定した。この操作をシクロデキストリンがジアミノピレンに対して 15 当量に達するまで繰り返し、蛍光スペクトルの変化を観察した。ジアミノピレンの光退色挙動は、励起光 345 nm の光を照射による波長 350-550 nm の蛍光スペクトル変化の観察から明らかにした。光照射には、キセノン光源を用い、サンプルと光源の距離は 20 cm に固定した。

(2) 結果及び考察

図 1 にシクロデキストリン当量と蛍光強度の相関関係を示す。この結果、4.5 当量付近を極大として蛍光強度が減少する。蛍光強度の減少は、過剰なシクロデキストリンにより、蛍光発光が妨害されたことを示唆している。一方、2.5 当量付近に変曲点が存在する。これは、変曲点付近で会合形態が 1:1 から 1:2 へと変化していることを示している。

蛍光スペクトル観察により、シクロデキストリン添加によるジアミノピレンの退色挙動に与える影響を明らかにした。図 2 に照射時間と蛍光ピーク強度間の相関関係を示す。シクロデキストリンを添加した蛍光強度は、照射を初めて 20 分間、徐々に減少していくが、それ以降、蛍光強度に変化は見られなかった。一方、ジアミノピレンのみでは、照射から 20 分で蛍光強度がほぼ 0 になった。この結果から、シクロデキストリンによる退色防止効果が明らかとなった。

3. 今後の展開

今後は、シクロデキストリン包接現象をピレン骨格だけでなく、ローダミンや FITC などのフルオラン骨格に適用させる予定である。これにより、本技術を幅広い蛍光波長を有する蛍光物質に適用させることができ、バイオセンサー及びバイオモニタリングの認識物質としての利用が期待される。

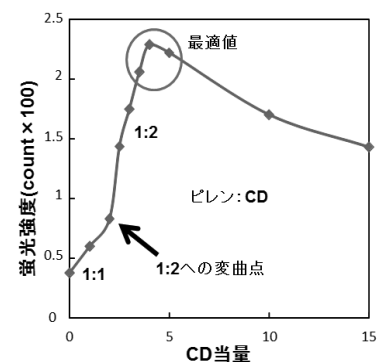


図 1. CD 濃度と蛍光強度の相関

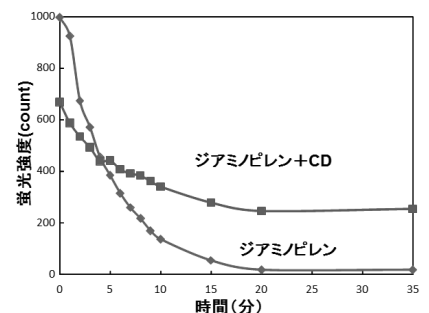


図 2. ジアミノピレンの退色挙動

*1)バイオ応用技術グループ、*2)交流連携室