

機関番号：34310

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20750135

研究課題名 (和文) 細胞内イメージングを指向した発光性金属ナノクラスタの選択合成

研究課題名 (英文) Selective synthesis of luminescent metal nanoclusters for intracellular imaging

研究代表者

人見 穰 (HITOMI YUTAKA)

同志社大学・理工学部・准教授

研究者番号：20335186

研究成果の概要 (和文) : ポルフィリンから伸びたジスルフィド基を同一方向に二つの有する金表面保護配位子を小さな金ナノクラスタを得ることに成功した。これらの小さな金ナノクラスタはポルフィリン由来の強い蛍光を発することを見いだした。また、マンガンイオンをポルフィリン中心に有する金表面保護配位子を用いて調製した金ナノ粒子は水の緩和を高効率に加速し、MRI 造影剤として機能することが明らかとなった。

研究成果の概要 (英文) : A new porphyrin-based passivant was synthesized which has two disulfide bonds in the same direction. Small gold nanoclusters were easily obtained when gold(III) ion was reduced in the presence of the passivants. Resulting gold nanoclusters exhibited an intense fluorescence due to the porphyrin molecules. Gold nanoparticles prepared with manganese-inserted porphyrin passivants accelerated the relaxation of water protons, indicating that the nanoparticles could be used as a MRI contrast agent.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：金ナノ粒子, イメージング

1. 研究開始当初の背景

(1) 金属ナノ粒子は、蛍光団をはじめとする機能性分子により表面修飾が可能であるため、生体イメージング材料として着目を集めている。このような機能性金ナノ粒子の合成にはクエン酸やホスフィンを保護剤として金ナノ粒子を調製した後に必要とする機能性分子を配位子交換により導入する手法が採用されていた。しかし、金属ナノ粒子上での配位子交換の程度や修飾基の表面分布を制御することは困難であり、均一かつ再現性の

良く機能性分子を金属ナノ粒子の表面へ導入する方法が求められていた。

(2) 生体イメージングの目的に金属ナノ粒子を用いる際、金属ナノ粒子の粒子径が重要であることも指摘されていたが、クエン酸やホスフィンを表面保護材として用いる方法では、血中滞在時間が十分に長く、尿中に排出もされ、生体イメージングに最適とされる5.5 ナノメートルの粒子径を有する粒子径の分散度の低い金属ナノ粒子を合成することは困難であり、これを解決する手法も望まれ

ていた。

(3) 金属ナノ粒子の表面に導入された蛍光団は、金属ナノ粒子によって著しい蛍光消光を受けることも判明しており、これを解決する方策も求められていた。

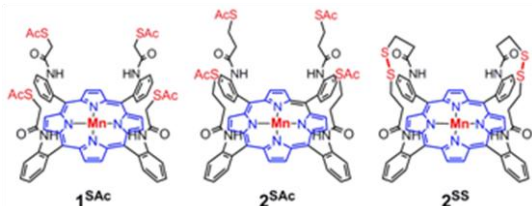
2. 研究の目的

(1) 本研究では、金属表面と強く相互作用する官能基を予め機能性分子に導入することにより、一段階で均一に機能性分子被覆金ナノ粒子を合成することを試みた。また、金属表面と強く相互作用する官能基を4つ、機能性分子の任意の固定された位置に導入された金属表面保護配位子を合成することで、金属表面保護配位子のサイズと形状によって、粒子径の制御を行うことも目的とした。具体的には機能性分子として光学特性に優れ、金属イオンの挿入により磁性、触媒機能の付与が可能なポルフィリン分子に着目し、メゾ位フェニル基からアミド結合を介して4つのアルカンチオールを有する金属表面保護配位子を合成し、ポルフィリン表面が金属ナノ粒子の表面に平行になるように金属ナノ粒子の表面を被覆し、この配向のもとポルフィリン由来の蛍光が金属ナノ粒子によってどれほどの蛍光消光をうけるか評価し、蛍光性金属ナノ粒子の合成の基礎的知見を得ることを目的とした。

(2) 任意の粒子径を有するポルフィリン被覆金ナノ粒子の合成が可能になったために、この特性を活かして金属ポルフィリン被覆金ナノ粒子を調製し、金属ポルフィリンによる水分子の緩和促進を利用した非ガドリニウム系 MRI 造影剤の開発を目的に研究を開始した。

3. 研究の方法

(1) ポルフィリンおよび4つのアルカンチオール基を有する金表面保護配位子として、以下の3つの分子を合成した。3種類のフリーベースポルフィリンの存在下、 HAuCl_4 の DMF 溶液を水素化ホウ素ナトリウムによって還元することで、目的とするポルフィリン保護金ナノ粒子を得た。また、ポルフィリン分子と金イオンとの比率を変化させ、得られる金ナノ粒子の粒子径に仕込み比が与える影響を評価した。また、蛍光強度依存性もあわせて測定した。



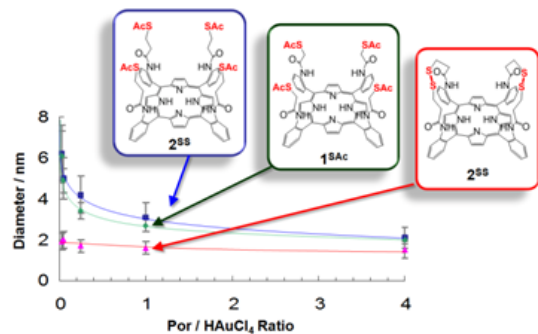
(2) 開発した金表面保護配位子が高い粒子径制御能を発現するメカニズムを探るため

に、時間分解 XAFS 測定により金ナノ粒子生成過程を追跡した。

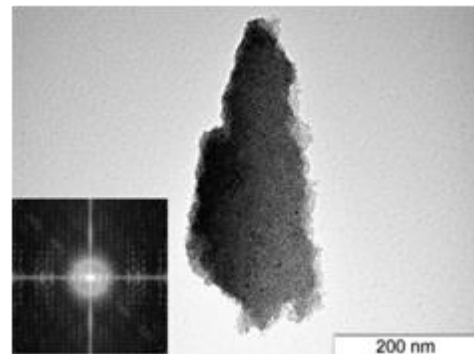
(3) マンガンポルフィリン錯体を合成し、様々な比率で HAuCl_4 と混合し、 NaBH_4 を用いて還元し、得られた金ナノ粒子による水分子の緩和速度を評価した。

4. 研究成果

(1) 合成した表面保護分子はポルフィリン環に対してフェニル基が自由回転しない特徴をもつ。このため、常に4つの硫黄原子が同じ方向を向いており、この事前組織化のために金ナノ粒子表面への高い相互作用が期待される。右上に示した3種類のフリーベースポルフィリンの存在下、 HAuCl_4 の DMF 溶液を NaBH_4 により還元することで、目的とするポルフィリン保護金ナノ粒子を得た。TEM 観察により粒子径分布を評価した結果、通常用いられる単座のアルカンチオールに比べ、いずれの場合も小さな金ナノ粒子が生成することが明らかとなった。また、用いる HAuCl_4 と表面保護分子との比率を増大させると、得られる金ナノ粒子の粒子径が小さくなり、ポルフィリンと同じサイズである 2 nm まで収斂すること判明した。



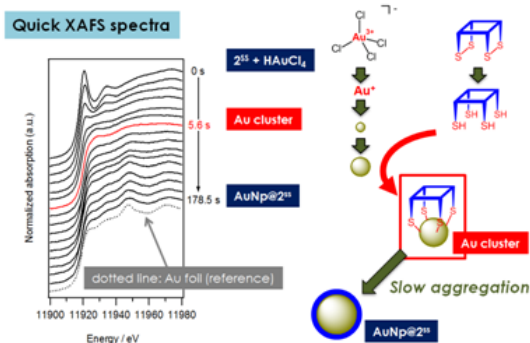
XPS 測定の結果、表面保護分子の4つの硫黄原子すべてが等価な Au-S 結合を形成していることから、ポルフィリン平面が金表面に対して平面的に配列し、目的とするポルフィリンの単層膜を形成していることが判明した。得られるポルフィリン被覆金ナノ粒子は極めて安定である。また、溶媒条件によってナノ粒子が自己組織的に集合し、超格子構造物を与える。



用いた3つの表面保護分子のうち、ジスル

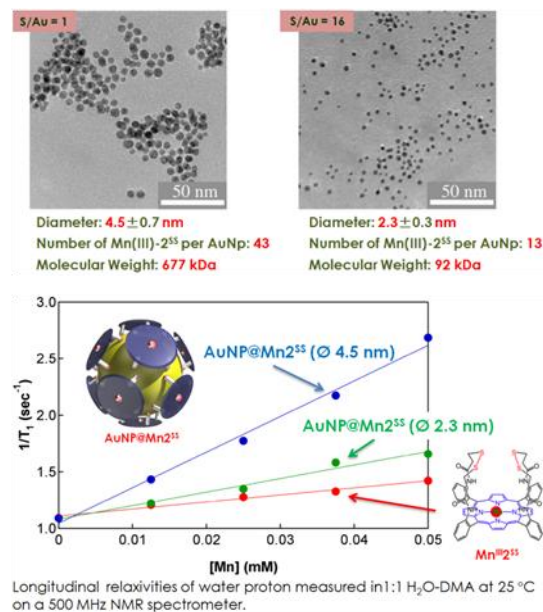
フィード結合を有する 2SS はアセチル保護基を有する保護配位子よりも小さな金ナノ粒子を与えた。

(2) 時間分解 XAFS 測定により金ナノ粒子生成過程を追跡した結果, NaBH₄ による還元により, 約 6 秒で小さな金クラスターが生成し, この金クラスターに 2SS が相互作用し安定化することで金ナノ粒子の成長が速度論的に抑制されていることが明らかとなった。この結果は, 金ナノ粒子の粒子径は速度論的に支配されており, この点を考慮した金表面保護分子の設計により, 粒子径さらには形状をも自在に制御できることを示唆している。



(3) マンガンポルフィリン錯体 Mn(III)-2SS を合成し, 様々な比率で HAuCl₄ と混合し, NaBH₄ を用いて還元した。得られた金ナノ粒子は S/Au 比が 0.1 から 16 に増加するに従い, 粒子径は 8 nm から 2.3 nm まで減少することが TEM 測定により明らかとなった。この結果は, ポルフィリン骨格中心に金属イオンを有しない場合とは大きく異なる。Mn(III)-2SS は中心金属の価数が 3 価であるため, ポルフィリン錯体の電荷はプラス 1 価となっている。このため, 正電荷を帯びていると考えられる金ナノクラスターと正電荷を有する Mn(III)-2SS との接触が遅くなり, 電荷を持たないフリーベースポルフィリンである 2SS よりも粒子径が多くなったと考察している。粒子径が 4.5 nm と 2.3 nm のマンガンポルフィリン被覆金ナノ粒子の TEM 画像を右下に示す。ICP 発光測定により金とマンガンの含有比率を求め, 金ナノ粒子 1 個あたりの Mn(III)-2SS の数を算出したところ, それぞれ 43 個, 13 個であった。これらの値は, マンガンポルフィリンが金ナノ粒子表面全体をほぼ隙間無く平面的に覆っている分子モデルと一致する。また, これらの値から算出されるナノ粒子の分子量は, 677 kDa と 92 kDa となった。粒子径が 4.5 nm と 2.3 nm のマンガンポルフィリン被覆金ナノ粒子, および, Mn(III)-2SS の水分子の縦緩和 T₁ を 500 MHz NMR を用いて測定した結果を右に示す。横軸はマンガン濃度, 縦軸は水の縦緩和の逆数であり, 傾きはマンガン換算の緩和能(Relaxivity)に相当する。粒子径

が約 2.3 nm のマンガンポルフィリン被覆金ナノ粒子では Mn(III)-2SS 単体と比べて緩和能が約 2 倍に, 4.5 nm の金ナノ粒子では約 5 倍に向上することが判明した。これらの値は従来の Gd 錯体修飾金ナノ粒子よりも高い値である。



5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Junya Ohyama, Kentaro Teramura, Yasuhiro Higuchi, Tetsuya Shishido, Yutaka Hitomi, Kazuki Aoki, Takuzo Funabiki, Masahito Kodera, Kazuo Kato, Hajime Tanida, Tomoya Uruga, and Tsunehiro Tanaka, "An in situ quick XAFS spectroscopy study on the formation mechanism of small gold nanoparticles supported by porphyrin-cored tetradentate passivants", *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2011, 13, 11128-11135. 査読有
- ② Junya Ohyama, Kentaro Teramura, Tetsuya Shishido, Yutaka Hitomi, Kazuo Kato, Hajime Tanida, Tomoya Uruga, Tsunehiro Tanaka, "In situ Au L3 and L2 Edge XANES Spectral Analysis during Growth of Thiol Protected Gold Nanoparticles for the Study on Particle Size Dependent Electronic Properties", *Chemical Physics Letters*, 2011, 507(1-3), 105-110. 査読有
- ③ Junya Ohyama, Kentaro Teramura, Yasuhiro Higuchi, Tetsuya Shishido, Yutaka Hitomi, Kazuo Kato, Hajime

Tanida, Tomoya Uruga, and Tsunehiro Tanaka, "In-situ Observation of Nucleation and Growth Process of Gold Nanoparticles by Quick XAFS Spectroscopy", *ChemPhysChem*, 2010, 12 (1), 128-131. 査読有

- ④ Yutaka Hitomi, Junya Ohyama, Yasuhiro Higuchi, Kazuki Aoki, Tetsuya Shishido, Takuzo Funabiki, Masashito Kodera, Tsunehiro Tanaka "Efficient Capping of Growing Gold Nanoparticles by Porphyrin Having Two Disulfide Straps over One Face", *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2010, 83(11), 1392-1396. 査読有
- ⑤ Junya Ohyama, Yutaka Hitomi, Yasuhiro Higuchi, Tsunehiro Tanaka, "Size-controlled synthesis of gold nanoparticles by porphyrin with four sulfur atoms", *Topics in Catalysis*, 2009, 52(6-7), 852-859. 査読有
- ⑥ Junya Ohyama, Yutaka Hitomi, Yasuhiro Higuchi, Masashi Shinagawa, Hidefumi Mukai, Masahito Kodera, Kentaro Teramura, Tetsuya Shishido, Tsunehiro Tanaka, "One-phase synthesis of small gold nanoparticles coated by a horizontal porphyrin monolayer", *Chemical Communications*, 2008, 6300-6302 査読有

[学会発表] (計9件)

- ① 青木 一樹, マンガンポルフィリン錯体により被覆された金ナノ粒子の合成と機能 第4回バイオ関連化学シンポジウム, 平成22年9月26日(日), 大阪大学豊中キャンパス
- ② 青木 一樹, 金ナノクラスターを有するポルフィリン金属錯体の合成と物性, 日本化学会日本化学会第90春季年会, 平成22年3月29日(月), 近畿大学本部キャンパス
- ③ 樋口 泰弘, ポルフィリン誘導体に保護された金および白金ナノ粒子の構造解析, 第104回 触媒化学討論会, 平成21年9月29日(火), 宮崎県宮崎市 シーガイヤ, 宮崎大学工学部等
- ④ 青木 一樹, ポルフィリン金属錯体被覆金ナノ粒子の合成と物性, 第59回 錯体化学討論会, 平成21年9月26日(土), 長崎大学文教キャンパス
- ⑤ 大山 順也, 四つの硫黄を同一方向に有するポルフィリン誘導体保護金ナノ粒子, 第62回コロイドおよび界面化学討論会, 平成21年9月17日, 岡山理科大学
- ⑥ 大山 順也, 四つの Au-S 結合を介してポ

ルフィリン誘導体に保護された金ナノ粒子の調製, 第103回触媒討論会, 平成21年3月31日, 埼玉大学

- ⑦ 樋口 泰弘, 四脚型ポルフィリン保護配位子による金ナノ粒子の粒径制御, 第103回触媒討論会, 平成21年3月31日, 埼玉大学
- ⑧ 人見 穰, ヘムモデル錯体を有する金ナノ粒子, 日本化学会日本化学会第89春季年会, 平成21年3月27日(金), 日本大学理工学部船橋キャンパス
- ⑨ 樋口 泰弘, ポルフィリン骨格を有する四座表面保護配位子による金ナノ粒子の粒径制御, 日本化学会日本化学会第89春季年会, 平成21年3月29日(日), 日本大学理工学部船橋キャンパス

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 金属ナノ粒子及びそれを含む造影剤
発明者: 人見 穰, 青木一樹
権利者: 同志社大学
種類: 特許
番号: 特願 2011-053879 号
出願年月日: 平成23年3月11日
国内外の別: 国内

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

6. 研究組織

(1) 研究代表者

人見 穰 (HITOMI YUTAKA)
同志社大学・理工学部・准教授
研究者番号: 20335186

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし