

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：34204

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25410152

研究課題名(和文) バイオ分析のための800nmを超える高輝度蛍光色素の開発

研究課題名(英文) Development of fluorescent dyes in the near-infrared region for bio-analysis

研究代表者

佐々木 真一 (SASAKI, Shin-ichi)

長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・准教授

研究者番号：50317294

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：天然の光合成色素である(バクテリア)クロロフィルを原料として有機合成変換を行い、バイオ分析への応用を指向した機能性蛍光色素の開発を行った。主な成果として、1) 特定のアニオン濃度に対して蛍光応答するクロリン誘導体の合成、2) アミンに対して吸収・蛍光応答するクロリンカルボン酸類の合成、3) バッファー中でヒスチジン応答するクロリン会合系の構築、および4) 800nmを超える長波長領域に蛍光極大を有する新規なバクテリオクロリン誘導体の合成に成功した。

研究成果の概要(英文)：Aiming at the analytical applications in the field of biochemistry, functional fluorescent dyes were synthesized based on naturally occurring (bacterio)chlorophylls. 1) The synthetic C3-ureidochlorin showed fluorescence emission spectral responses with the addition of anions in dichloromethane, 2) a series of carboxylated chlorins were synthesized and the detection of additional amine in THF was demonstrated by both visible absorption and fluorescence emission spectroscopies, 3) the selective detection of histidine was demonstrated using monomeric/oligomeric zinc chlorins in an aqueous buffer solution, and 4) bacteriochlorophyll-a derivatives possessing different substituents at the C13-position were synthesized, which showed fluorescence emission maxima in the longer wavelength region (>800nm).

研究分野：化学

キーワード：蛍光 分子認識 超分子 光合成

1. 研究開始当初の背景

蛍光色素を用いてバイオ分析を行う際には、生体試料による光吸収の影響が少ない近赤外領域の波長利用が求められる。そこで、見かけ上のストークスシフトが大きな(バクテリア)クロロフィル-*a* を原料に有機合成変換を行うことで、近赤外領域に強い蛍光強度と安定性をもつ誘導体の開発と、生体関連試料を定量するための蛍光色素の機能化に取り組んだ。

2. 研究の目的

クロロフィル-*a* を出発原料に官能基変換を行い、アニオンやアミン・アミノ酸など生体関連試料を長波長領域で分析できる蛍光色素を開発する。またバクテリアクロロフィル-*a* を原料に基本骨格の修飾を行い、800nmを超える高輝度蛍光色素を開発する。

3. 研究の方法

(バクテリア)クロロフィル-*a* を出発原料として、次のような誘導体を合成し、その特性を評価する。

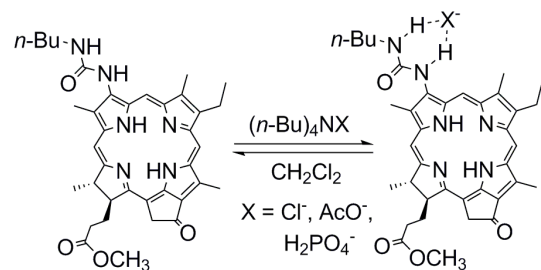
- (1) 特定のアニオンを認識できるサイトを持つ誘導体の設計と合成
- (2) アミン応答部位としてのカルボン酸を有する誘導体の設計と合成
- (3) バッファ中でのアミノ酸配位能を有する誘導体の設計と合成
- (4) 新規なバクテリアクロロリン類の設計と合成

4. 研究成果

方法(1)～(4)の各項目に対して次に示すような一定の成果が得られた。

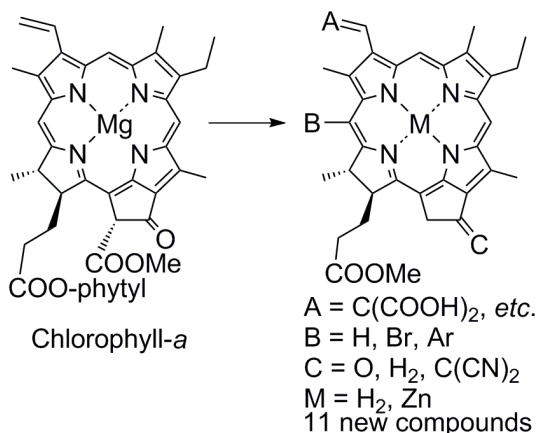
- (1) クロロフィル骨格にアニオン補足部位としてウレアを導入した誘導体を合成した。ジクロロメタン溶液中に酢酸テトラブチルアンモニウム塩を加えたところ、可視吸収スペクトルにおいて等吸収点を有するス

ペクトル変化が見られ、 Q_y 吸収帯は 665 nm から 658 nm へとブルーシフトした。また、蛍光スペクトルでも酢酸イオンの添加に伴い極大が 668 nm から 660 nm へと変化した。アニオン添加量と吸光度変化を解析することにより、クロリンと酢酸イオンの 1:1 の会合定数は $4.0 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ と算出された。リン酸二水素イオンおよび塩化物イオンの添加に対しても同様のスペクトル応答が見られ、会合定数は $2.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ および $3.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ となった。以上のように、機能性クロロフィルの例として、クロリン特有の Q_y ピークを利用した長波長領域でのアニオンセンシングができることを明らかにした。

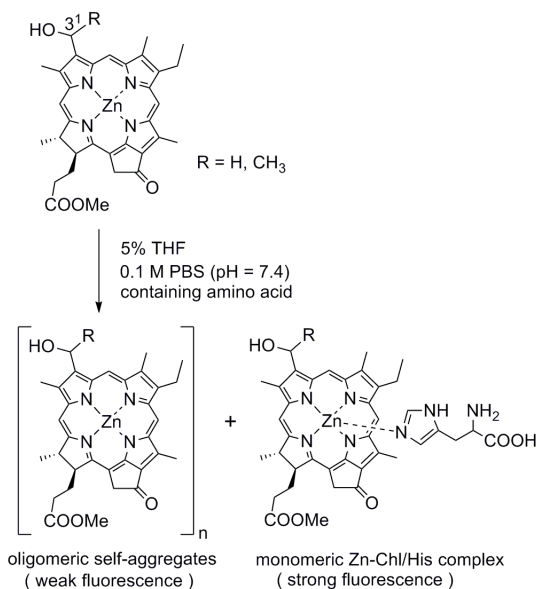


- (2) クロリン環の様々な位置にカルボキシル基を導入した一連の誘導体を合成し、酸・塩基反応を利用したアミン定量試薬としての可能性を検討した。 Q_y 軸上の 3 位に官能基を持つ誘導体は、7 位あるいは 8 位カルボン酸よりもアミン添加に伴うピークシフトの幅が大きかった。また 3 位にアクリル酸部位を持つ誘導体を用いて THF 中におけるトリエチルアミン濃度の測定を行ったところ、約 2% (v/v) までのアミン濃度変化に伴い吸収の Q_y ピークは 681nm から 677nm へとシフトし、Soret 帯付近の 417nm で励起することにより蛍光ピークは 685nm から 681nm への変化として、アミン濃度変化に対応した応答をすることが分かった。更にカルボン酸部位を持つクロリン類を酸化チタン上に固定させ色素増感太陽電池の特性を調べたところ、3 位はアクリル酸・1 3 位はケトカルボニル基・2 0 位は水素原子・中心金属はなし (フリーベ-

ス体)の組み合わせが最も高い光電変換効率を示すことが明らかとなった。

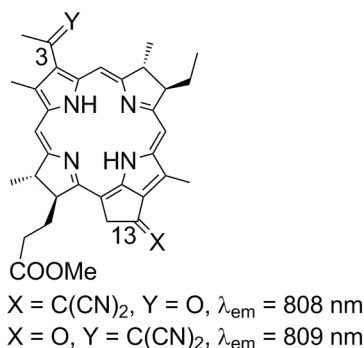
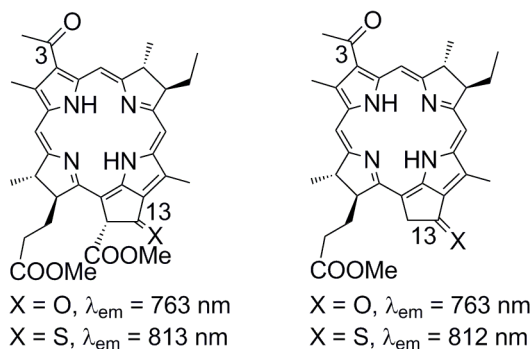


(3) 3位にヒドロキシメチルまたはヒドロキシエチル基を有する亜鉛クロリンを合成し、5%THF / 0.1M PBS (pH=7.4) 中でアミノ酸共存下に自己会合体を形成させたところ、ヒスチジン特異的に濃度に応じてモノマーの強い蛍光が観測された。中心の亜鉛にイミダゾールが配位することにより、会合体の形成を妨げるためと考えられ、ヒスチジン濃度の検出限界は約 1mM であった。



(4) バクテリオクロリン環の Q_y 軸上である 13 位ケトカルボニルの酸素原子を硫黄に置換したところ、蛍光は 763nm から 812nm へと長波長シフトしたが重原子効果

のため蛍光強度は著しく弱くなった。そこで電子吸引基であるジシアノメチレンを 3 位または 13 位に導入すると蛍光強度を保ったまま波長はそれぞれ 808nm および 809nm となり、800nm を超える蛍光色素骨格の開発に成功した。



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12件)

Synthesis of Chlorophyll Derivatives Possessing an S-Substituted Thiomethyl Group at the 3-Position and Their Optical Properties

Kifa Kim, Mari Yoshizato, Shin-ichi Sasaki, and Hitoshi Tamiaki

Tetrahedron, **2016**, 72, 504-511. 査読有
DOI: 10.1016/j.tet.2015.11.066

クロロフィルを利用した有機系太陽電池の開発

佐々木 真一、民秋 均

化学工業、Vol.66, No.7, 27-33 (2015).
査読無

Zinc Chlorophyll Aggregates as Hole Transporters for Biocompatible, Natural-Photosynthesis-Inspired Solar Cells

Yue Li, [Shin-ichi Sasaki](#), [Hitoshi Tamiaki](#), Cheng-Liang Liu, Jiaxing Song, Wenjing Tian, Enqiang Zheng, Yingjin Wei, Gang Chen, Xueqi Fu, and Xiao-Feng Wang *J. Power Sources*, **2015**, 297, 519-524. 査読有

DOI: 10.1016/j.jpowsour.2015.08.045

Natural-Photosynthesis-Inspired Photovoltaic Cells Using Carotenoid Aggregates as Electron Donors and Chlorophyll Derivatives as Electron Acceptors

Taojun Zhuang, [Shin-ichi Sasaki](#), Toshitaka Ikeuchi, Junji Kido, and Xiao-Feng Wang *RSC Adv.*, **2015**, 5, 45755-45759. 査読有

DOI: 10.1039/c5ra07099f

Synthesis of Carboxylated Chlorophylls and Their Application as Functional Materials

[Shin-ichi Sasaki](#), Xiao-Feng Wang, Toshitaka Ikeuchi, and [Hitoshi Tamiaki](#) *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2015**, 19, 517-526. 査読有

DOI: 10.1142/S1088424615500418

Synthesis and Photophysical Properties of Phenyl-Sulfanylated Chlorophyll Derivatives

Natsuki Takei, Misaki Morioka, Mari Yoshizato, Takuya Tanaka, [Shin-ichi Sasaki](#), Satoshi Ito, [Hitoshi Tamiaki](#), and Toru Oba *Tetrahedron* **2014**, 70, 5109-5113. 査読有

Doi: 10.1016/j.tet.2014.05.115

Esterification of Indoline-Based Small Molecule Donor for Efficient Co-Evaporated Organic Photovoltaics

Zhongqiang Wang, Xiao-Feng Wang, Daisuke Yokoyama, Hisahiro Sasabe, Junji Kido, Zhaoyang Liu, Wenjing Tian, Osamu Kitao, Toshitaka Ikeuchi, and [Shin-ichi](#)

[Sasaki](#)

J. Phys. Chem. C, **2014**, 118, 14785-14794. 査読有

Doi: 10.1021/jp5030608

Cycloaddition to a C3-Ethynylated Chlorophyll Derivatives and Self-Aggregation of Zinc Chlorin – Pyrazole/Triazole Conjugates

[Shin-ichi Sasaki](#), Keisuke Mizutani, Michio Kunieda, and [Hitoshi Tamiaki](#)

Tetrahedron **2013**, 69, 9772-9778. 査読有

Doi: 10.1016/j.tet.2013.09.007

Synthesis of Chlorophyll Derivatives Directly Connecting Amino-Derived Functional Groups at the C3-Position

[Shin-ichi Sasaki](#), Keisuke Mizutani, Michio Kunieda, Kimiko Azuma, and [Hitoshi Tamiaki](#)

Chem. Lett., **2013**, 42, 1212-1213. 査読有

Doi: 10.1246/cl.130564

Molecular Engineering on a Chlorophyll Derivative, Chlorin e_6 , for Significantly Improved Efficiency in Dye-Sensitized Solar Cells

Xiao-Feng Wang, [Hitoshi Tamiaki](#), Osamu Kitao, Toshitaka Ikeuchi, and [Shin-ichi Sasaki](#)

J. Power Sources, **2013**, 242, 860-864. 査読有

Doi: 10.1016/j.jpowsour.2013.05.191

Dicyano-Functionalized Chlorophyll Derivatives with Ambipolar Characteristic for Organic Photovoltaics

Yu-Wei Wang, [Shin-ichi Sasaki](#), Taojun Zhuang, [Hitoshi Tamiaki](#), Jian-Ping Zhang, Toshitaka Ikeuchi, Ziruo Hong, Junji Kido, and Xiao-Feng Wang

Org. Electronics, **2013**, 14, 1972-1979. 査読有

Doi: 10.1016/j.orgel.2013.04.034

Chemosensitive Chlorophyll Derivatives:

Optical Detection of Various Amines by Synthetic 3-Trifluoroacetyl-13¹-Deoxy-Pyropheophorbides in Solution

Hitoshi Tamiaki, Kimiko Azuma, Yusuke Kinoshita, Rie Monobe, Tomohiro Miyatake, and Shin-ichi Sasaki

Tetrahedron, **2013**, 69, 1987-1993. 査読有
Doi: 10.1016/j.tet.2012.12.072

[学会発表](計9件)

3位上に硫黄官能基を有するクロロフィル誘導体の合成と物性

日本化学会第95春季年会

2015年3月26日~29日、日本大学(船橋)

民秋均、金貴和、佐々木真一

C13-Substituent Effects on Synthetic Bacteriochlorophyll Derivatives

11th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCPP15)

May 29th – 31st, 2015, Shiga, Japan, P-23

Shin-ichi Sasaki, and Hitoshi Tamiaki

Selective Detection of Histidine in Aqueous Solution Based on Disassembly of Chlorophyll Self-Aggregates

11th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCPP15)

May 29th – 31st, 2015, Shiga, Japan, P-21

Kotowa Sakai, Hitoshi Tamiaki, Toshitaka Ikeuchi, and Shin-ichi Sasaki

Synthesis of Chlorophyll Dimers Linked with a Disulfide Bond and Their Intramolecular Energy Transfer

2014 International Conference on Artificial Photosynthesis (ICARP2014)

November 24th – 28th, 2014, Hyogo, Japan, P1-25

Kifa Kim, Mari Yoshizato, Shin-ichi Sasaki, and Hitoshi Tamiaki

Construction of Organic Photovoltaic Cells Using Carotenoid as Electron Donor and

Chlorophyll Derivatives as Electron Acceptors

2014 International Conference on Artificial Photosynthesis (ICARP2014)

November 24th – 28th, 2014, Hyogo, Japan, P1-24

Shin-ichi Sasaki, Taojun Zhuang, Toshitaka Ikeuchi, and Xiao-Feng Wang

Effects on Esterification of Indoline-Based Carboxylic Dyes for Fabrication of Organic Solar Cells

10th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCPP14)

May 30th – June 1st, 2014, Shiga, Japan, P-22

Shin-ichi Sasaki, Toshitaka Ikeuchi, and Xiao-Feng Wang

Application of Photosynthetic Pigments in Organic Photovoltaic Cells

10th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCPP14)

May 30th – June 1st, 2014, Shiga, Japan, O-7

Xiao-Feng Wang, Shin-ichi Sasaki, and Hitoshi Tamiaki

スルファニルクロリン類の合成と物性

第7回バイオ関連化学シンポジウム

2013年9月27日~29日、名古屋大学東山キャンパス(名古屋) 2P-B-16

大庭亨、武居夏生、館野雄備、伊原未沙希、森岡みさき、福住高則、伊藤智志、吉里麻理、佐々木真一、民秋均

Synthetic Study of Carboxylated Chlorins for Application to Dye-Sensitized Solar Cells

9th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCPP13)

June 28-30, 2013, Shiga, Japan, P-27

Shin-ichi Sasaki, Xiao-Feng Wang, Toshitaka Ikeuchi, and Hitoshi Tamiaki

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 真一 (SASAKI, Shin-ichi)
長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・
准教授
研究者番号：50317294

(2) 連携研究者

鈴木 孝治 (SUZUKI, Koji)
慶應義塾大学・理工学部・教授
研究者番号：80154540

民秋 均 (TAMIAKI, Hitoshi)
立命館大学・薬学部・教授
研究者番号：00192641