

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K04969

研究課題名(和文) システイン結合金微粒子の蛍光特性に及ぼす光学純度の影響の解明と不斉識別材料の開発

研究課題名(英文) Elucidation of fluorescence properties of gold nanoparticles bonded with cysteine and development of chiral recognition materials

研究代表者

上原 伸夫 (Uehara, Nobuo)

宇都宮大学・工学部・教授

研究者番号：50203469

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：「システインの光学純度が金ナノクラスターの蛍光特性に影響するメカニズムの解明」と「システインの光学純度の低下による旋光度の増大現象にもとづく不正識別材料の開発とその周辺技術の開発」とについて、検討した。光学活性を有するホモシステイン、N-アセチルシステイン、システインルグリシン、グルタチオンを用い金ナノクラスターとの反応性について検討したところ、370 nmに極大波長を持つ吸収スペクトルを与えたものは、システインだけであった。D,L-システインの混合比を変えることにより光学純度を調整し、得られる金ナノクラスターの蛍光特性についても検討したところ、ラセミ状態のとき、蛍光強度は最も小さくなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義：チオール化合物の光学純度がナノクラスターの光学特性に影響を与えることはこれまで知られておらず、本課題研究はナノクラスターのサイエンスに新しい領域を拓く端緒となる。

社会的意義：光学異性体の化学的な反応性は互いに同じであるものの、医薬品として用いられた場合に、D体は毒性を示すことがありため、純度管理が重要である。本課題研究により生理活性物質の光学純度の管理にあたる手法を提案する知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：We investigated a mechanism about the effects of an optical purity of cysteine on the fluorescence properties of gold nanoclusters attached with cysteine and development of probes to discriminate optical purity.

研究分野：分析化学

キーワード：金ナノ粒子 光学純度 不斉識別

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

粒子径が約 2 nm 以下の金ナノ粒子は金ナノクラスターと呼ばれ、可視領域に消光バンドを持たないものの、キラリティーの発現、発蛍光性といったユニークな光学特性を本質的に持つことから novel nano-materials として期待されている。

金ナノクラスターのキラリティーはキラルなチオールを共存させて合成することでも発現できる。チオールを共存させて合成される Au_nSm ($n = 25, 28$ など) 型の金ナノクラスターについては、DFT 理論計算も行われている。しかしながら、これら金ナノクラスターの光学特性の研究は全て、discrete された金ナノクラスターを対象に行われており、金ナノクラスター間の相互作用と光学特性との関連に関する知見は知られていない。連続的なプラズモン共鳴バンドをもつようなより大きな金ナノ粒子において、粒子間の相互作用が Mie 理論により取り扱われているのとは対照的である。

我々は、もともと非蛍光性であった金ナノクラスターが、システインが結合することにより蛍光性を発現することを見出した(この蛍光特性もまたシステインの光学純度に大きな影響を受ける)。システインの光学純度が蛍光特性に及ぼす影響を明らかにすることにより、蛍光特性の変化に基づいた不斉識別能を持つ材料の創製的设计指針を得ることができると着想した。

2. 研究の目的

この研究では以下の 2 項目について検討した。

1) システインの光学純度が金ナノクラスターの蛍光特性に影響するメカニズムの解明

システインの官能基 (-COOH と -NH₂) 間の水素結合を通じた隣接システイン同士の立体的な配座の変化が LMCT に影響することで、蛍光特性を変化させていると推測している。そこで、ナノクラスター表面に結合している隣接したシステインの位置関係と蛍光スペクトルとの関係を実験とモデルのシミュレーションから検証する。

2) 光学活性物質の不斉識別を蛍光特性の変化として出力するナノ材料を開発

上記の検討から、金ナノクラスターに結合したチオール化合物の立体構造と蛍光特性との系統的な関係が明らかにする。これに基づいて蛍光材料のデザインするために、金ナノクラスター表面に結合しているシステインと測定対象とするチオール化合物との交換反応について検討する。得られた知見から、ナノ材料についての設計指針を確立する。

3. 研究の方法

2.3×10^{-4} mol/L H₂AuCl₄ 溶液 100 mL に 0.1 mol/L NaBH₄ 溶液 1 mL を加えることで金ナノクラスター溶液を調製した。遠心沈殿管に金ナノクラスター溶液 2 mL、所定濃度のシステイン溶液 2 mL を加えた後、水で全容を 5 mL とした。この溶液の加熱前後における消光スペクトルを測定した。

4. 研究成果

金ナノクラスター溶液にシステインを添加し、加熱すると 370 nm に極大を持つ特異的な消光バンドが出現する。(Fig.1) この吸収バンドは、システインの濃度が 6×10^{-5} mol/L 以上になると発現する。一方、システインに構造が類似しているホモシステインやシスチンなど他のチオール化合物を添加してもこの消光バンドは出現しなかった。

この消光バンドは、L-システインあるいは D-システインいずれを添加しても同様に出現した。ところが、ラセミ体(5:5)としてシステインを添加した場合には、この消光バンドはわずかしか観察されなかった。そこで、システインの D/L 混合比を変化させスペクトルを測定した。370 nm における吸光度をシステインの D/L 混合比の関数としてプロットしたものを Fig. 3 に示す。システインの D/L 混合比が(L:D)=(10:0), (0:10)から(5:5)のラセミ条件に向かうにつれて対称的に吸光度が減少した。このことから、この消光バンドの出現は、システインの光学純度が影響していると考えられる。以上の結果から、この系はシステインの D,L の識別に応用できるものと考えられる。

光学活性を有するホモシステイン, N-アセチルシステイン, システイニルグリシン, グルタチオンを用い金ナノクラスターとの反応性について検討したところ, 370 nm に極大波長を持つ吸収スペクトルを与えたものは、システインだけであった。D,L - システインの混合比を変えることにより光学純度を調整し、得られる金ナノクラスターの蛍光特性についても検討したところ、ラセミ状態のとき、蛍光強度は最も小さくなった。

粒子径が 5-6 nm の金ナノ粒子を含む溶液にキラルなシステインを添加して加熱冷却すると、新たに 370 nm 付近の吸収バンドが生じる。このとき金ナノ粒子はシステインによりエッチングされ、粒子径が 2nm 程度のナノクラスターになっている。370 nm 付近の吸収バンドの発現はチオール特異性が高く、システインの他、3-メルカプトプロピオン酸と 2-メルカプトエタノールでのみでしか生じない。

370nm の吸収バンドはシステインの光学純度の低下とともに小さくなり、ラセミ体のシステインを用いたときには生じない。システインの光学純度の変化に伴う DLS から測定される金ナノ粒子の集積体のサイズの変化は、吸収バンドの大きさの変化によく一致した。370 nm における CD スペクトルは D, L-システインで反転する。最大の CD 値は光学純度 100 ではなく、反対のキラリティーを持つシステインを 20% 含む条件で得られた。(Fig.3)

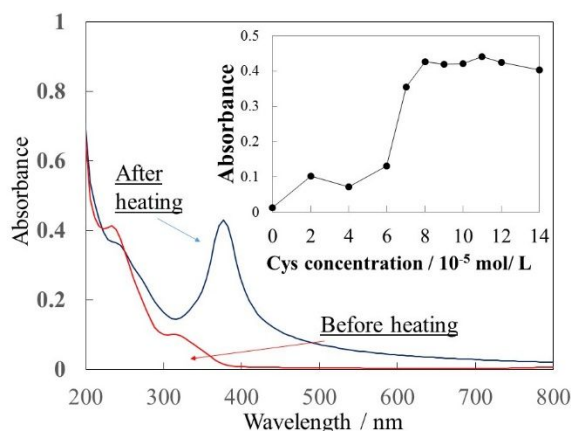


Fig. 1 加熱前後の金ナノクラスターの吸収スペクトル

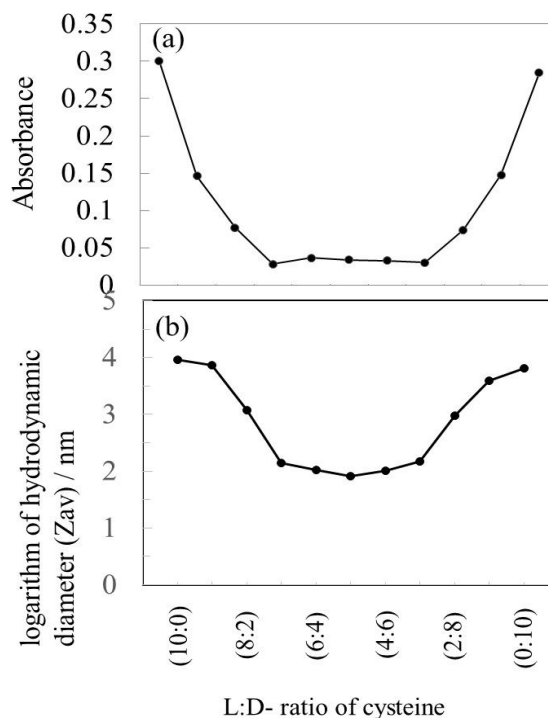


Fig. 2 システインの D/L 比が吸光度と金ナノクラスターのサイズに及ぼす影響

表面に存在するシステインを媒介として集積した金ナノクラスター粒子間の相互作用による新たなバンドを出現させる。このプラズモンバンドはシステインの chirality を反映した旋光性を示す。表面に吸着した分子が金ナノクラスターの光学特性の開発のための新しい制御因子として作用する。この結果は金ナノクラスターの粒子間相互作用のための新しいモデルの構築を促すだけでなく、金ナノ粒子の光学素子としての新たな可能性を拓く。

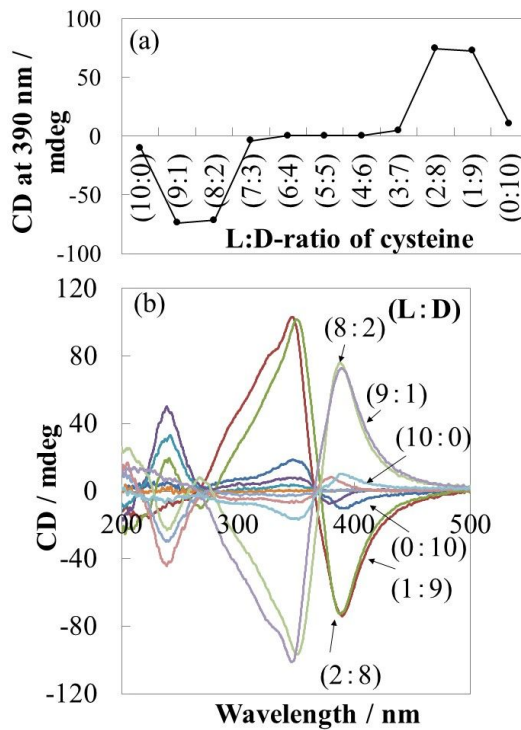


Fig. 3 金ナノクラスターの a) CD 収スペクトルと b) CD 値と D/L 比との関係

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nobuo Uehara, Natsumi Sonoda	4. 巻 538
2. 論文標題 Specific Turn-on Infra-red Fluorescence from non-fluorescent gold nanoclusters by reaction with sulfhydryl-oligopeptides	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Colloids and Surfaces A	6. 最初と最後の頁 14-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.10.057	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nobuo Uehara, Yoshikuni Numanami	4. 巻 247
2. 論文標題 Fabrication of thermoresponsive near-infrared fluorescent gold nanocomposites for cell imaging	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sensors and actuators B	6. 最初と最後の頁 188-196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.03.020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nobuo Uehara, Masatoshi Takita	4. 巻 58
2. 論文標題 Extraction of Free-magnesia in Steel-making Slags with Iodine-Ethanol Solution	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ISIJ International	6. 最初と最後の頁 1474-1479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.2355/isijinternational.ISIJINT-2018-166	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nobuo Uehara	4. 巻 560
2. 論文標題 Formation of hydrophobic aggregates of ionic thermoresponsive polymers with oppositely-charged ionic surfactants under phase transition temperature	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Colloid Surface A	6. 最初と最後の頁 98-105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.10.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takeshi Morita, Yuki Ogawa, Hiroshi Imamura, Kouki Ookubo, Nobuo Uehara, Tomonari Sumi	4. 巻 21
2. 論文標題 Interaction potential surface between Raman scattering enhancing nanoparticles conjugated with a functional copolymer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 16889-16894
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1039/C9CP01946D	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takeshi Morita, Takuya Suzuki, Yoshimi Itoh, Takehisa Konishi, Chikara Haneishi, Natsumi Sonoda, Tsutomu Itoh, Hyuma Masu, Toshihiro Okajima, Hiroyuki Setoyama, Nobuo Uehara	4. 巻 19
2. 論文標題 Impact of Temperature on the Fusion Growth of Bimetallic Au-Pt Nanoparticles from Each Nanocluster Conjugated with a Thermoresponsive Polymer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Crystal Growth & Design	6. 最初と最後の頁 6199-6206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b00647	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nobuo Uehara, Natsumi Sonoda, Tsubasa Iwamatsu, Chikara Haneishi, Arinori Inagawa	4. 巻 585
2. 論文標題 Spontaneous formation of gold nanoparticles from gold nanoclusters in the presence of highly-molecular-weight poly(ethyleneglycol)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Colloid Surface A	6. 最初と最後の頁 124113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.124113	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 稲川有徳・上原伸夫・岡田哲男
2. 発表標題 氷グレインパウダリーを用いる不凍たんぱく質と氷の相互作用の定量的評価
3. 学会等名 第79回分析化学討論会、講演番号：P2049
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上原 伸夫
2. 発表標題 鉄鋼および関連材料を評価するための分析技術を下支えする分析化学の新展開
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会講演要旨集, I3001R (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 増淵 由樹, 上原 伸夫
2. 発表標題 刺激応答型蛍光性金ポリマーの創製とそれを用いる生体高分子および界面活性剤の分析
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会講演要旨集, Y1059
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩松 翼, 上原 伸夫
2. 発表標題 オキシエチレン類に誘起される金ナノ粒子の生成とそれに基づくチオール化合物の分析
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会講演要旨集, Y1107
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲川有徳・上原伸夫・岡田哲男
2. 発表標題 氷マイクロチャネルによる氷ゼータ電位測定と氷表面へのイオン吸着挙動の解明
3. 学会等名 北海道大学低音研究所・氷化学研究会共同研究集会「H2Oを科学する・2018」、講演番号：P-8
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shoya Kurihara, Nobuo Uehara
2. 発表標題 Separation and concentration of bio-active substances from salty solutions with thermoresponsive polymer-coated gold nanoparticles
3. 学会等名 RSC Tokyo International Conference2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshiki Masubuchi, Nobuo Uehara
2. 発表標題 Fabrication and application of organic-inorganic hybrid composed of stimulation-responsive polymers and fluorescent gold polymers
3. 学会等名 RSC Tokyo International Conference2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上原伸夫
2. 発表標題 正しい溶液調製法, -何をどう取り, どう溶かすか-
3. 学会等名 日本分析化学会第66年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上原伸夫, 園田夏美
2. 発表標題 含硫ペプチドとの反応による金ナノクラスターの近赤外蛍光特性の発現
3. 学会等名 日本分析化学会第66年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 増淵 由樹, 遠藤 大介, 上原 伸夫, 五十嵐 淑郎
2. 発表標題 鉄-クロロフィリン錯体を発光基質とするルテニウム()の時間計測-化学発光分析
3. 学会等名 日本分析化学会第66年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上原伸夫
2. 発表標題 自信の持てる溶液調製 - 何をどのように溶解するか -
3. 学会等名 JAIMAセミナー5 「初めての機器分析」(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上原伸夫
2. 発表標題 鉄鋼スラグ中フリーMgOのスペシエーション
3. 学会等名 日本鉄鋼協会第175回春季講演大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	岩井 秀和 (Iwai Hidekazu) (10311599)	宇都宮大学・工学部・助教 (12201)	