

平成22年 5月26日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20750103
 研究課題名（和文） 環境応答性金属ナノ粒子を用いた光増感機能制御システムの構築
 研究課題名（英文） Control of photosensitization system by metal nanoparticles responsive to external environment
 研究代表者
 新森 英之 (SHINMORI HIDEYUKI)
 山梨大学・大学院医学工学総合研究部・准教授
 研究者番号：40311740

研究成果の概要（和文）：金属ナノ粒子表面における糖質認識に伴った光増感機能の制御について検討した。塩基性条件下、糖質還元金属ナノ粒子に一重項酸素発生能を有するボロン酸修飾光増感物質を添加したところ、複合化による新たな蛍光帯が観測された。この複合体にグルコース等の単糖類を加えると蛍光挙動が変化した。これは光増感物質が金属ナノ粒子から解離することを意味した。従って、金属ナノ粒子-ボロン酸複合体による光特性制御が可能であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The photosensitization controlled by saccharide recognition on the metal nanoparticles was investigated. The boronic acid appended photosensitizers were introduced into the sugar-protected metal nanoparticles in the basic medium. In fluorescence spectra of the metal nanoparticles complex with the photosensitizers, the new emission bands were observed. When sacchrides such as glucose were added to the complex, the fluorescence spectra were changed remarkably. This means that the photosensitizers are dissociated from the surface of the metal nanoparticles with the interaction of sacchrides. Therefore, the optical properties of the metal nanoparticles-photosensitizers complexes are capable of control by molecular recognition on surface of particles.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：金属ナノ粒子・光増感物質・一重項酸素・ボロン酸・糖質・分子認識

1. 研究開始当初の背景

近年のナノテクノロジーの発展に伴い、自発的な自己組織化によるボトムアップ型ナ

ノ材料の構築に関する研究開発が進められてきている。また先端研究では、ライフサイエンスやバイオテクノロジー、エレクトロニ

クス分野等との融合による新しい技術開拓に興味を持たれている。その中で、臨界サイズを有するナノ構造体は、材料に対してユニークかつ極めて優れた化学・物理的性質や機能を付与できるために、数多くの新規材料創出への応用が期待されている。しかしながら、これらナノテクノロジー分野では最近になって克服すべき課題が出されてきている。その一つに実用化に向けた数十～数千 nm のメゾスコピック領域での微細構造体の創製と機能化技術の確立がある。この問題点を解決できる有力な素材のひとつとして金属ナノ粒子が挙げられる。金属ナノ粒子は表面を有機分子で保護することで、粒子径が約 1～100 nm の有機-無機ハイブリッド微粒子を創出することができる。例えば、金属ナノ粒子の作製法では、保護剤存在下において溶液中の金属イオンを化学的に還元する方法が報告されている。また、金属ナノ粒子表面へ機能性官能基を導入することによる分子認識能の発現やバイオセンシング、さらにはメゾスコピックサイズの構造体を得るための金属ナノ粒子の集積挙動に関する研究もなされてきている。特に、金属ナノ粒子の生命工学への展開は、人工的生体機能制御の観点から非常に興味深い。

これまで、我々は金属ナノ粒子の生命工学への応用という視点から、生体関連物質を用いた金属ナノ粒子の合成に着手した。実際に、様々な糖質やペプチドを保護剤および還元剤とした金属ナノ粒子の調製を行い、それらの光学特性等を調査した。ここでは特に、金属ナノ粒子としての報告例が比較的多い金(Au)と銀(Ag)を金属コアとして選択した。金ナノ粒子の場合は表面プラズモン由来の光吸収によって赤紫色を呈しているが、銀ナノ粒子では淡黄色の溶液となっており、さらに用いた糖質の種類によっても変色していた。これらの色変化はそれぞれの光特性の違いを反映したものであり、光誘起電子・エネルギー移動の制御に有用であると期待できる。また、今まで我々は多様なポルフィリン誘導体を合成し、それらの光化学的挙動の評価を行ってきた。その中で、分子認識能を伴った外部刺激に対する応答によって光誘起電子・エネルギー移動のコントロールが可能であることを明らかにした。次いで、様々なポルフィリン類の光増感機能について検討を行い、活性酸素種の一つである一重項酸素の発生効率がポルフィリン骨格に依存して変化することを証明した。このような活性酸素種に関する研究は、環境浄化や細胞傷害、疾患治療法への適用など多彩な分野への応用が期待される重要な課題である。

そこで今回は、金属ナノ粒子表面に分子認識能を有する光増感物質を導入し、外部環境に応答した光増感機能に伴う活性酸素種の

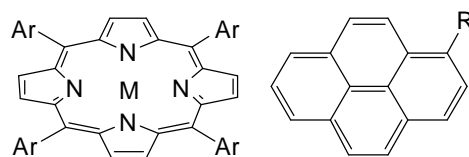
発生をコントロールを目指した。特に外部環境因子として、急激な増殖能力を持つ癌細胞の主なエネルギー源であるグルコース等の糖質を選択することで、本研究の医工学や生命工学などの幅広い分野における重要性の向上を図った。

2. 研究の目的

金属ナノ粒子は、量子サイズ効果による特異な物性のためにナノテクノロジー基幹材料のひとつとして幅広い分野への応用が期待されている。中でも、金属ナノ粒子の光学デバイスや生命工学への展開は微細構造体の機能化技術の確立という観点から非常に興味深い。金属ナノ粒子の特徴ある性質のひとつに、表面プラズモン共鳴現象に由来する発色があり、特異な光化学的機能を有する。そこで本研究では、金属ナノ粒子の表面上に分子認識能を有する光増感物質を導入した有機-無機ハイブリッド金属ナノ粒子材料を合成し、外部環境応答型の光誘起電子・エネルギー移動を利用した光増感機能コントロールシステムの構築を目的とした。ここでの光増感機能としては、生体系への影響を考慮して活性酸素種の一つである一重項酸素発生能を主に選択した。また、外部環境因子として生体内の主なエネルギー源と成り得る糖質を対象とした。従って本研究では、糖質認識機能を伴う外部環境応答型の機能性金属ナノ粒子を創製し、グルコース等の有無によって金属ナノ粒子・光増感物質間の光誘起電子・エネルギー移動をコントロールすることで、光照射における活性酸素種発生の制御を行う人工システムの有効性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 糖質インターフェイスとしてボロン酸部位を有する光増感物質の合成に着手する。実際には、光増感機能を示すポルフィリン類やピレン類にボロン酸基を修飾し、糖質インターフェイスを有するポルフィリン誘導体やピレン誘導体を合成する。次いで、糖質の有無によるボロン酸修飾ポルフィリン誘導体やボロン酸修飾ピレン誘導体の吸収および蛍光スペクトル変化を観測し、糖質との相互作用の定量的評価を行う。また、その際ポルフィリン誘導体やピレン誘導体の光学挙動を詳細に



Ar及びR部位にボロン酸基を導入

解析し、その励起エネルギー移動を伴う光増感機能の検討を行う。

(2) 糖質を保護剤とした金属ナノ粒子の簡便な調製方法を確立する。金属ナノ粒子の中で、特にその特性が良く知られている金(Au)や銀(Ag)に焦点を絞り、単糖や多糖など様々な糖質を用いて金属ナノ粒子を作製し、糖質の保護効果による金属ナノ粒子の安定な分散性を検討する。また、これら金属ナノ粒子の粒子径や形状は光散乱法や電子顕微鏡観察等により確認する。次いで、ここで得られた糖質保護による金属ナノ粒子にボロン酸修飾ポルフィリン誘導体を添加することで、糖質応答性の光増感物質を持つ金属ナノ粒子を合成する。実際には、様々な条件下においてボロン酸修飾ポルフィリン誘導体やボロン酸修飾ピレン誘導体を添加することで、機能性金属ナノ粒子を作製する。この際、それぞれの金属ナノ粒子表面へのポルフィリン誘導体やピレン誘導体の導入率を、高速液体クロマトグラフィー分析を用いて定量的に求める。これによって、糖質濃度等の条件による光増感物質導入率の差を確認し、光増感機能の微調整に関する基礎的知見を得る。また、ボロン酸修飾ポルフィリン誘導体やボロン酸修飾ピレン誘導体を導入した金属ナノ粒子の光学特性をスペクトル的手法を用いて検討し、光誘起電子・エネルギー移動を調査する。

(3) ボロン酸部位を糖質認識部位として有する光増感物質を導入した機能性金属ナノ粒子の合成において、単糖やオリゴ糖を粒子表面保護層に含んだ金属ナノ粒子のライブラリー化を展開させる。生体系で重要視されているグルコースを中心として、その他グルコースユニットを持つオリゴ糖(マルトース、セロビオース、マルトオリオース)を保護剤かつ還元剤として用いる金ナノ粒子の作製法を確立する。さらに、その他の単糖やオリゴ糖(マンノースやガラクトースおよびラクトース等)を用いて金ナノ粒子を作製する。また、同様な手順に従い、中心金属種が異なる糖質保護銀ナノ粒子のライブラリーを構築する。その後、ボロン酸部位を導入した光増感物質であるボロン酸修飾ポルフィリン誘導体やボロン酸修飾ピレン誘導体の糖質保護金ナノ粒子と糖質保護銀ナノ粒子への吸着をスペクトル的手法および高速液体クロマトグラフィー分析により定量的に評価する。この際、それぞれの糖質保護金属ナノ粒子の媒体(特に水)に対する分散能と、保護層に存在する糖質構造との相関関係を詳細に検討する。

(4) 上記で得られた光増感物質を導入した様々な金属ナノ粒子ライブラリーを用いて、

糖質(主に生体系で重要であるグルコース等)添加に伴う光誘起電子・エネルギー移動の変化をスペクトル的手法によって調査し、光化学的な知見を得る。ここでは光増感物質を導入した各種金属ナノ粒子について、スペクトル変化を生じる添加糖質濃度範囲の違いを定量的に検討する。ここまでの機能性金属ナノ粒子の糖質認識に関する光化学的挙動の知見を基に、光増感物質が導入された金属ナノ粒子への光照射による一重項酸素発生能を調査する。この際、糖質の有無によって一重項酸素発生量が変化することを確かめ、環境応答性金属ナノ粒子を利用した活性酸素発生の制御における有効性を立証する。

4. 研究成果

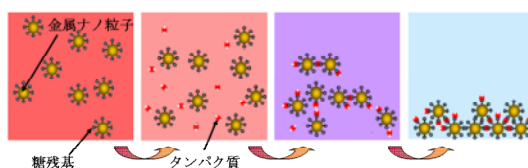
(1) 外部環境に応答する光誘起電子・エネルギー移動を利用して金属ナノ粒子表面上での光増感機能をコントロールする人工システムの構築を目指して、まずは効率的な光増感物質の探索を行った。光増感機能として、生体系に多大な影響を与える活性酸素種の一つである一重項酸素の発生について検討した。ここでは、光機能性色素骨格としてピレンやポルフィリンを選択し、糖質と可逆的な共有結合や水素結合等の相互作用が可能なボロン酸修飾ピレン誘導体やピリジン縮環型ポルフィリン誘導体を設計・合成した。これら光増感物質の一重項酸素発生の量子収率を求めた結果、ピレン誘導体とポルフィリン誘導体での値はそれぞれ約0.9及び0.5となり、ピレン骨格を有する光増感物質が高効率な一重項酸素発生能を示すことを実証した。

(2) 機能性金属ナノ粒子の合成において、まず、これまでに報告例が多い金ナノ粒子に焦点を当てた。様々な糖質を保護層に有する金ナノ粒子の合成は、それぞれの糖質自体を還元剤及び保護剤として用いることで成功した。これらの金ナノ粒子を精製後、各種コロイド分散液として調製した。この際、糖質の金ナノ粒子への導入率や粒子径及び形状は、高速液体クロマトグラフィー分析や電子顕微鏡観察によって評価した。その結果、粒子径が数十nmであることが確認できた。さらに、この金ナノ粒子の光化学的知見を得るために、それぞれの金ナノ粒子コロイド分散液の吸収スペクトルを調査したところ、540nm付近に極大吸収波長を持った吸収帯が観測された。

上記の金ナノ粒子合成を参考にして、糖質を用いた銀ナノ粒子を合成した。ここで得られた銀ナノ粒子コロイド分散液の吸収スペクトルを測定した結果、420nm付近に極大吸収波長を持った吸収帯が現れた。これは、金ナノ粒子の場合とは異なり、短波長シフトし

ていた。従って、金ナノ粒子と銀ナノ粒子の使い分けで吸収域が調節可能となることが明らかとなった。

(3) 得られた金ナノ粒子コロイド分散液の分子認識能を検討した。一定条件下において、各コロイド分散液に生体関連物質であるタンパク質を添加した際、明らかなスペクトル変化を伴う溶液の変色がタンパク質選択性と共に観測できた。この変化には金属ナノ粒子の凝集性が関わっていることが示唆された。すなわち、金ナノ粒子表面へ添加したタンパク質が相互作用することで、粒子表面の特性が変化し、金ナノ粒子の凝集を生じることが分かった。



タンパク質添加による金ナノ粒子の凝集

(4) 金属ナノ粒子表面にボロン酸修飾ピレン誘導体を導入する手法を調査した。ボロン酸修飾ピレン誘導体は一重項酸素発生効率が高かったために選択した。塩基性水溶液中において蛍光スペクトルを測定したところ、金ナノ粒子にボロン酸修飾ピレン誘導体を一定量添加することで450nm付近に極大波長を示す新たな蛍光バンドが観測された。関連の参照化合物を用いたコントロール実験の結果を踏まえて、この蛍光スペクトル変化はボロン酸修飾ピレン誘導体が金ナノ粒子表面に存在している糖質と相互作用することで、ナノ粒子に複合化されたためであることが示唆された。

(5) 上記で得られたボロン酸修飾ピレン誘導体と金ナノ粒子との複合体にグルコース、マンノース、ガラクトース、キシロース及び1-O-メチルグルコシドの5種の単糖類をそれぞれ添加し、蛍光挙動の変化を評価した。その結果、糖質添加に伴って複合化によって出現した450nm付近の蛍光バンドが減少し、ピレン誘導体のモノマー発光に由来する387nmの蛍光強度の明らかな増加が観測された。この現象は添加した糖質がボロン酸部位と相互作用することで、光増感物質の金ナノ粒子からの解離に起因すると示唆された。従って、金属ナノ粒子表面でのボロン酸と糖質の相互作用を利用することにより光化学的機能のコントロールが可能なる人工システムが構築できることが明らかとなった。

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4件)

- ① 新森英之「光増感物質を用いた光線力学的療法によるガン治療の展望—超分子組織化を利用した次世代型ガン治療用光増感分子システムの構築を目指して—」, *化学と生物* 2010, 48, 15-21. (査読有)
- ② S. Tokuji, Y. Takahashi, H. Shinmori, H. Shinokubo, A. Osuka, Synthesis of pyridine-fused porphyrinoid: oxopyridochlorin, *Chem. Commun.* 2009, 1028-1030. (査読有)
- ③ H. Shinmori, H. Furukawa, K. Fujimoto, H. Shimizu, M. Inouye, T. Takeuchi, Characteristic Fluorescence Behaviors of Dialkynylpyrene Derivatives in Hydrophobic Cavity of Protein, *Chem. Lett.* 2009, 38, 84-85. (査読有)
- ④ S. Murakami, K. Yamamoto, H. Shinmori, T. Takeuchi, A Molecularly Imprinted Polymer for the Reconstruction of a Molecular Recognition Region, *Chem. Lett.* 2008, 37, 1028-1029. (査読有)

〔学会発表〕(計8件)

- ① 新森英之、 β -1, 3-グルカンにより形成されたヒドロゲルを利用したサルトン系色素の構造制御、日本化学会第90春季年会、2010年3月26日、近畿大学
- ② 新森英之、食物アレルギー物質がナノマテリアルを制御する—金属ナノ粒子型アレルギー人工抗体—、日本農芸化学会関東支部2009年度大会、2009年10月31日、玉川大学
- ③ 新森英之、タンパク質と金属ナノ粒子の相互作用を利用した高感度比色分析システムの開発、第61回日本生物工学会大会、2009年9月24日、名古屋大学
- ④ 徳地澄人、ピリジンが縮環したポルフィリンの合成と性質、日本化学会第89春季年会、2009年3月30日、日本大学
- ⑤ 藤巻慶弘、糖質修飾ピレン誘導体を利用した水中における糖の蛍光検出、日本化学会第89春季年会、2009年3月29日、日本大学
- ⑥ 新森英之、天然色素ポルフィリン類の組織化を利用した次世代型ガン治療システムの開発、日本農芸化学会関東支部2008年度大会、2008年10月11日、山梨大学
- ⑦ 藤巻慶弘、ピレン修飾オリゴ糖を用いた糖質間相互作用の蛍光センシング、日本農芸化学会関東支部2008年度大会、2008年10月11日、山梨大学
- ⑧ 上田理沙、糖質保護金属ナノ粒子の凝集性を利用したタンパク質の微量検出、日

本農芸化学会関東支部 2008 年度大会、
2008 年 10 月 11 日、山梨大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新森 英之 (SHINMORI HIDEYUKI)
山梨大学・大学院医学工学総合研究部・准
教授
研究者番号：40311740

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし