

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 2日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22350065

研究課題名（和文）希土類錯体の近赤外発光を利用したイメージング材料の開発

研究課題名（英文）Development of imaging materials utilizing near-infrared luminescence of lanthanide complex

研究代表者

篠田 哲史（SHINODA SATOSHI）

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：00285280

研究成果の概要（和文）：希土類イオンと遷移金属イオンからなる複核錯体を合成し、両種の金属イオンの特性を活かしたアニオン認識や、希土類イオンからの増感型近赤外発光を実現した。また、希土類錯体ライブラリーやタンパク質—希土類錯体など、様々な金属錯体系において溶液中での近赤外発光やアニオン性基質に対する応答性を明らかにした。これらの分子は優れた近赤外発光プローブとして生体イメージングの高感度化に向けた応用が見込まれる。

研究成果の概要（英文）：Multinuclear complexes containing lanthanide ions and transition metal ions were synthesized, and anion recognition and sensitized near-infrared lanthanide luminescence were realized with these complexes by utilizing characteristic properties of both metal ions. In various systems using a lanthanide complex library and protein-lanthanide complexes, near-infrared luminescence and its response to anionic substrates in solution were studied. These molecules are expected to be applied for bio-imaging as novel near-infrared luminescent probes to enhance the sensitivity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2011年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2012年度	2,600,000	780,000	3,380,000
年度			
年度			
総計	11,100,000	3,330,000	14,430,000

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：分子認識・近赤外発光・希土類錯体

1. 研究開始当初の背景

CCD カメラに代表される光検出器の発達によって、蛍光顕微鏡における検出の高感度化が可能となり、低分子からタンパク質、金属ナノクラスターにいたるまで、広範な発光性物質をプローブとした細胞のイメージング手法が発展している。発光性物質は、細胞内での分子動態の可視化やリアルタイムでの濃度変化の観察など、細胞機能の分子レベ

ルでの解明に大きな威力を発揮しており、化学合成によってそれらの発光分子に分子認識機能、組織選択性、磁性などを付与することにより、さらに高度なイメージングや非破壊検査へと応用が広がりつつある。光検出の高感度化や、基質特異性や選択性の付与により、従来法では見えなかった分子が可視化できるようになるため、新たな機能性発光分子の開発が望まれている。

近赤外光は細胞組織による散乱を受けにくく透過性が高いことや、細胞内に存在する有機物による吸収を受けないことから、可視光を用いる場合に比べてより深部のイメージングへの適用に関心が高まっている。近赤外発光を出し得る分子の数は少なく、化合物自体の化学的安定性や毒性、発光量子収率の向上などに課題が残されている。希土類イオンのネオジムイオンやイッテルビウムイオンはイオン自身から近赤外発光を示すため、発光性希土類錯体は発光プローブ分子として期待されているが、希土類発光は水分子による失活を受けやすく、水溶液中での発光量子収率が低下するという問題が常に存在する。本研究では水溶液中でも強発光する希土類錯体の開発を行うことにより、近赤外発光のイメージングへの応用に突破口を開き、バイオ・医療分野に波及効果をもたらすプローブ分子の開発を目標とした。

2. 研究の目的

水溶液中で高い近赤外発光量子収率を示す希土類錯体を合成し、近赤外発光を利用した細胞イメージングや発光センシングの実現を目指す。これにより、①細胞へのダメージが少なく、皮膚浸透性も高い長波長の可視光を利用した光励起、②自家蛍光や散乱によるバックグラウンドノイズの影響を除去することによる高感度化が実現できる。希土類錯体では発光中心がイオンであり、光に対する安定性が見込めることから、有機物発光体と比べてより長時間の観測が可能となるなど大きな利点が期待できる。また適切な配位空間を有する希土類錯体はアニオンを捕捉する機能を併せもつことから、溶液中の特定の化学種に対して発光応答する機能性のプローブとしての利用も期待できる。そこで、本研究では主に次の3点を目的として研究を実施した。

(1) 希土類—遷移金属複核錯体による近赤外発光の実現

遷移金属錯体の電荷移動吸収帯などを利用した光吸収と分子内励起エネルギー移動を利用して希土類発光の効率よい光増感を達成する。また、両金属錯体の配位特性を利用したアニオン認識を行う。

(2) 希土類錯体の近赤外発光を利用したアニオンセンシング系の構築

希土類錯体は種々のアニオン種と高配位型錯体を形成できる。様々な配位子をもつ希土類錯体を用い、アミノ酸に対して近赤外発光を利用したセンシングを実現する。

(3) タンパク質—希土類錯体を利用した水溶液中の近赤外発光の実現

水溶性希土類錯体としてタンパク質—希土類錯体を用い、水溶液中の近赤外発光性やアニオン応答性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 希土類—遷移金属複核錯体の合成

ビリジンを側鎖にもつ希土類錯体に白金などの高周期遷移金属イオンを配位させて多核錯体を合成する。溶液中や固体中の構造をNMRやX線結晶構造解析により明らかにし、発光機能との相関を明らかにする。また、カルボン酸アニオンの希土類イオンへの配位を利用したレセプター機能についても滴定実験より明らかにする。

(2) 希土類錯体ライブラリーの構築とアミノ酸に対する応答性の解明

芳香族キレート配位子と希土類イオンの組み合わせからなる希土類錯体ライブラリーを構築し、種々のアミノ酸に対する発光や円二色性の応答を調べる。アミノ酸の検出や同定を可能とする新しいセンシング法の開発を行う。

(3) タンパク質—希土類錯体の調製と近赤外発光応答

アポトランスフェリンに希土類イオンを配位させて水に可溶性発光性希土類錯体を調製する。pHや共存アニオンに対する発光応答を調べ、センシング材料としての可能性を探求する。また、ポリスチレンビーズなどに担持させ、蛍光顕微鏡を利用した観察を行い、イメージング材料としての適用性を検討する。

4. 研究成果

(1) 希土類—遷移金属複核錯体によるカルボン酸アニオンのキラリティーセンシング

種々の希土類—白金複核錯体を用いて、カルボン酸アニオンに対する認識能を検討した(図1)。結晶構造解析により、この錯体が希土類イオン周りにらせんキラリティーをもち、白金錯体部位にも配位子の傾きに対応したキラリティーが現れることが分かった。希土類イオンは可逆的にカルボン酸アニオンと配位するため、キラルカルボン酸から複核錯体にキラリティー転写をすることによって、白金錯体の吸収帯に現れる円二色性(CD)をアニオンのキラリティーの検出に用いることができた。モノカルボン酸ではCD誘起が十分に起こらなかったが、ジカルボン酸を作用させると通常置換速度の小さい白金錯体部分においても配位子交換が速やかに進行し、混合直後に強い誘起CDを与えることを見いだした。白金イオンと希土類イオンの位置が固定されているため、ジカルボン酸類の中でコハク酸誘導体に対して高い選択性を示した。希土類—白金錯体においては期待した近赤外発光は得られなかったが、希土類—レニウム錯体では水溶液中で高い発光量子収率での可視—近赤外変換が達成されたため、イメージングへの応用展開を現在図っている。

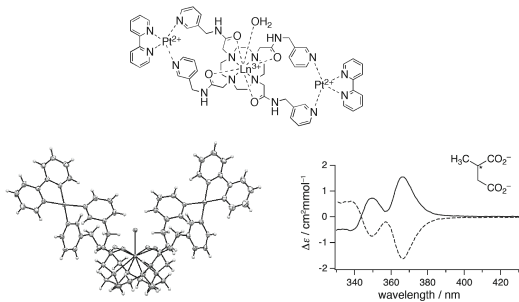


図1. 希土類—白金三核錯体の構造と誘起 CD

(2) 希土類錯体ライブラリーを活用するアミノ酸のセンシング

7種類の芳香族配位子と4種類の希土類イオンを溶液中で混合して得られる28種類の希土類錯体を用いて7種類のアミノ酸に対する応答性を調べた(図2)。1%含水アセトニトリル溶液中でアミノ酸との高配位型錯体の形成を確認し、発光応答に対する条件最適化を行った。これらの錯体の可視・近赤外発光はアミノ酸の添加によって増大を示したが、増大率は希土類錯体の種類やアミノ酸の種類によって異なり、多種類の希土類錯体を利用することにより、アミノ酸のパターン認識が可能であることを実証した。また同様に、希土類錯体の吸収帯にはアミノ酸からの転写によって強い特徴的な誘起 CD も現れたため、希土類錯体ライブラリーが同時に多種類の情報が取り出すことのできるプローブとして機能することを明らかにした。

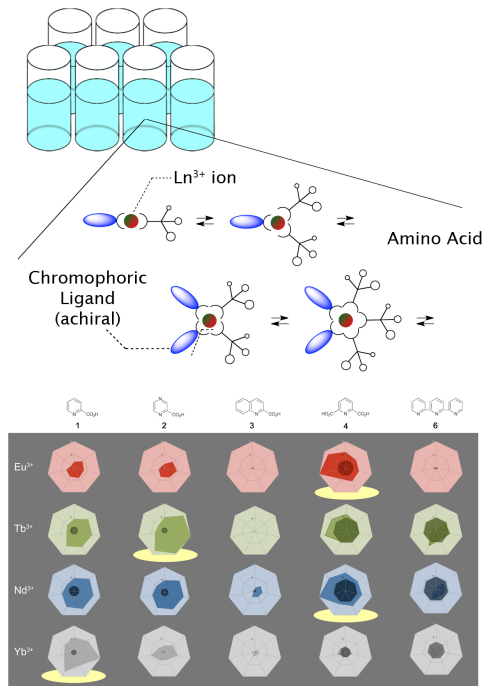


図2. 希土類錯体ライブラリーの構築とアミノ酸に対する発光応答

(3) タンパク質—希土類錯体を利用した水溶液中の近赤外発光センシング

鉄輸送タンパク質であるトランスフェリンから鉄イオンを除去したアポ体に希土類塩を添加すると、ほぼ定量的に鉄イオン結合部位に希土類イオンが置換した希土類錯体を得られた。タンパク質の紫外吸収帯を光励起することによって、希土類中心から近赤外発光が得られることが分かった。希土類イオンとの錯形成は中性付近で大きく変化し、弱酸性では完全に解離することから、中性付近で pH に応答する on-off 型の近赤外発光センサーとして機能することを実証した(図3)。また、炭酸イオン濃度によっても発光強度が大きく変化し、他のイオンに対しては応答性を示さないことから、水溶液中の炭酸イオンセンサーとしても有効であることを見いだした。

生体内のプローブとしても期待がもたれることから、現在他機関との共同研究を進めている。また、ビオチン修飾トランスフェリンを用いてポリスチレンビーズに担持させて蛍光顕微鏡観察を行ったが、光透過性に関する装置上の問題と検出感度の問題によって、十分な像を得ることはできなかった。本研究結果は *Helv. Chim. Acta* 誌に発表したが、その内容により平成24年度の近赤外研究会奨励賞 (NIR Advance Award) を受賞した。

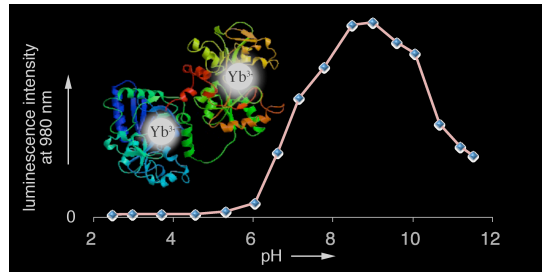


図3. タンパク質—イッテルビウム錯体の pH 応答性近赤外発光

(4) 生体基質に対する発光性バイオプローブの開発

生体基質を認識して錯形成し、発光強度変化を引き起こす希土類錯体の開発を行った。
①希土類イオンを中心としたグアニンオクテット形成

有機溶媒中でグアニン誘導体に希土類トリフレートを作用させると、希土類イオンを中心にもつ環状グアニン8量体が定量的に生成することを明らかにした。グアニンは発光増感性能が高く、ほぼすべての発光性希土類イオンを増感発光させた。溶液中でも錯体が安定に形成されていることをコールドスプレー質量分析法により明らかにし、自己組織化による錯体形成が有効な手法になりう

ることを示した。

② 亜鉛ポルフィリン-希土類錯体によるドーパミンセンサーの開発

亜鉛ポルフィリンと希土類イオンを結合させたハイブリッド型分子を合成し、これがドーパミンに対してレセプターとして働くことを明らかにした。ポルフィリンにより希土類イオンの近赤外発光が増感できたため、生体内での応用を目指して現在も研究を継続している。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① S. Shinoda, Dynamic Cyclen-Metal Complexes for Molecular Sensing and Chirality Signaling, *Chem. Soc. Rev.*, 査読有, 42, 2013, 1825-1835. 【総説】
DOI: 10.1039/C2CS35295H.
- ② S. Shinoda, K. Terada, and H. Tsukube, Induced Circular-Dichroism Chirality Probes for Selective Amino Acid Detection through Screening of a Dynamic Combinatorial Library of Lanthanide Complexes, *Chem.-Asian J.*, 査読有, 7, 2012, 400-405.
DOI: 10.1002/asia.201100618.
- ③ S. Shinoda, K. Terada, M. Eiraku Masaki, Y. Kataoka, and H. Tsukube, Ytterbium-Substituted Transferrin and Lactoferrin for Near-Infrared Luminescent pH Indication, *New J. Chem.*, 査読有, 36, 2012, 1545-1547.
DOI: 10.1039/C2NJ40201G.
- ④ 篠田哲史, 築部 浩, トリス (β -ジケトナト)ランタノイド錯体の三元錯体形成特性を活用する分離分析システムの構築, *分析化学*, 査読有, 61, 2012, 169-176. 【総説】
DOI: 10.2116/bunsekikagaku.61.169.
- ⑤ S. Shinoda, T. Maeda, H. Miyake, and H. Tsukube, Dynamically Capped Rotaxanes: Metal Coordination vs. Acid-Base Pairing in the Chiral End-Capping, *Supramol. Chem.*, 査読有, 23, 2011, 244-248.
DOI: 10.1080/10610278.2010.521838 .
- ⑥ S. Shinoda, T. Noguchi, M. Ikeda, Y. Habata, and H. Tsukube, Luminescent Double-Decker Type Guanine Octets with

Trivalent Lanthanide Cations: In situ Self-Assembling and Stability Evaluation in Homogeneous Organic Media, *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.*, 査読有, 71, 2011, 523-527.

DOI: 10.1007/s10847-011-9937-2.

- ⑦ S. Shinoda, A. Mizote, M. Eiraku Masaki, M. Yoneda, H. Miyake, and H. Tsukube, Mixed-Metal Complexes Incorporating Platinum and Lanthanide Centers for Selective Binding and Chirality Sensing of Succinates, *Inorg. Chem.*, 査読有, 50, 2011, 5876-5878.
DOI: 10.1021/ic200853u.
 - ⑧ S. Shinoda and H. Tsukube, Luminescent lanthanide complexes as analytical tools in anion sensing, pH indication and protein recognition, *Analyst*, 査読有, 136, 2011, 431-435. 【総説】
DOI: 10.1039/C0AN00808G.
 - ⑨ S. Shinoda, K. Yano, and H. Tsukube, Combinatorial Screening of Lanthanide Complex Library for Luminescence Sensing of Amino Acids, *Chem. Commun.*, 査読有, 46, 2010, 3110-3112.
DOI: 10.1039/c000542h.
 - ⑩ 篠田哲史, 希土類錯体の近赤外発光を利用した基質センシング, *光化学*, 査読有, 41, 2010, 140-143. 【総説】
http://photochemistry.jp/journal_j/index.htm.
- [学会発表] (計 25 件)
- ① 篠田哲史, “近赤外発光 pH 指示薬としてのイッテルビウム置換トランスフェリンおよびラクトフェリン”, 第 28 回近赤外フォーラム, 【招待講演】, 2013 年 3 月 7-8 日, 沖縄, 日本.
 - ② 篠田哲史, 徳田千晴, “イッテルビウム錯体の光反応を利用したドーパミンの近赤外発光検出”, 第 28 回近赤外フォーラム, 2013 年 3 月 7-8 日, 沖縄, 日本.
 - ③ S. Shinoda and S. Sakai, “Zn(II) Porphyrin-Appended Lanthanide Complex as a Dual Emissive Molecular Sensor”, *International Symposium on Rare Earths 2012 in Okinawa for the 30th Anniversary*

- of The Rare Earth Society of Japan, 2012年11月8-9日, 沖縄, 日本.
- ④ S. Shinoda, Y. Yasueda, H. Miyake, and H. Tsukube, "Chirality Transfer between a Lanthanide Complex and a Carboxylate Anion on Ternary Complexation", 8th International Conference on f-Elements, 2012年8月26-31日, ウディネ, イタリア.
- ⑤ 安枝裕貴, 篠田哲史, 三宅弘之, 築部 浩, "サイクレンー希土類錯体とカルボン酸アニオン間の相互キラリティー転写", 第29回希土類討論会, 2012年5月15-16日, 札幌, 日本.
- ⑥ 篠田哲史, 徳田千晴, 築部 浩, "キレート配位子と希土類イオンによるライブラリーを用いた芳香族アミノ酸の発光センシング", 日本化学会第92春季年会, 2012年3月25-28日, 横浜, 日本.
- ⑦ 安枝裕貴, 篠田哲史, 築部 浩, "サイクレンー希土類錯体の不斉配位化学を活用したグリシン誘導体アニオンへのキラリティー転写", 日本化学会第92春季年会, 2012年3月25-28日, 横浜, 日本.
- ⑧ 篠田哲史, 寺田径子, 築部 浩, "タンパク-希土類錯体の近赤外発光による水溶液のpHセンシング", 第27回近赤外フォーラム, 2011年11月10-11日, 東京, 日本.
- ⑨ S. Shinoda, "Luminescent Lanthanide Complexes as Analytical Tools", 3rd Asian Conference on Coordination Chemistry, 【招待講演】, 2011年10月17-20日, ニューデリー, インド.
- ⑩ 篠田哲史, 正木深雪, 寺田径子, 築部 浩, "希土類イオンに置換したトランスフェリン類によるアニオンの発光センシング", 第5回バイオ関連化学シンポジウム, 2011年9月12-14日, つくば, 日本.
- ⑪ S. Shinoda and H. Tsukube, "Luminescence and Circular Dichroism Sensing of Anionic Substrates in Aqueous Solutions", 23th Rare Earth Research Conference, 【招待講演】, 2011年6月19-23日, サントフェ, アメリカ.
- ⑫ 篠田哲史, 御前仁美, 築部 浩, "サイクレンー希土類錯体による水中でのキラリティースイッチング", モレキュラー・キラリティー2011, 2011年5月20-21日, 東京, 日本.
- ⑬ 篠田哲史, 御前仁美, 築部 浩, "アニオンの配位を利用した希土類錯体キラリティーのスイッチング", 日本化学会第91回春季年会, 2011年3月26-29日, 日本.
- ⑭ 篠田哲史, 安枝裕貴, 築部 浩, "9配位希土類錯体の発光および円二色性のpH依存性", 日本化学会第91回春季年会, 2011年3月26-29日, 日本.
- ⑮ 篠田哲史, 矢野径子, 築部 浩, "希土類錯体の近赤外発光を利用したアミノ酸のセンシング", 第26回近赤外フォーラム, 2010年12月1-3日, 東京, 日本.
- ⑯ S. Shinoda, H. Misaki, and H. Tsukube, "Chirality Induction and Enhanced Near-Infrared Luminescence of Cyclen-Lanthanide Complexes by Chiral Carboxylate Anions", Molecular Sensors and Molecular Logic Gates (MSMLG-2010), 2010年10月22-25日, アンタリア, トルコ.
- ⑰ 篠田哲史, 御前仁美, 安枝裕貴, 築部 浩, "pHに応答した希土類錯体のキラリティー発現および発光増大", 第60回錯体化学討論会, 2010年9月27-30日, 大阪, 日本.
- ⑱ S. Shinoda, "Near-Infrared Luminescence Sensing of Biological Substrates Based on Lanthanide Coordination Chemistry", First International Conference on Luminescence of Lanthanides, 【招待講演】, 2010年9月5-9日, オデッサ, ウクライナ.
- ⑲ S. Shinoda, Y. Yasueda, and H. Tsukube, "pH-Controlled Anion Responsive Luminescence of Pyridine-Containing Cyclen-Eu³⁺ Complex", The 6th International Conference on Rare Earth Development and Application, 2010年8月2-6日, 北京, 中国.

- ⑳ T. Maeda, S. Shinoda, H. Miyake, and H. Tsukube, "Dynamic Capping in Rotaxane Formation by Coordinate Bond", 39th International Conference on Coordination Chemistry, 2010年7月25-30日, アデレード, オーストラリア.
- ㉑ S. Shinoda, K. Yano, and H. Tsukube, "Combinatorial Optimization of Lanthanide Complexes as CD Probes for Amino Acids", 22nd International Symposium on Chirality (ISCD-22, Chirality2010), 2010年7月12-15日, 札幌, 日本.
- ㉒ S. Shinoda, A. Mizote, M. Eiraku Masaki, M. Yoneda, H. Miyake, and H. Tsukube, "CD Sensing of Dianions by Lanthanide-Platinum Multi-Nuclear Complex", Joint Symposium of Post 5th International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry and the 6th Symposium on Host-Guest Chemistry, 2010年6月11-12日, 大阪, 日本.
- ㉓ T. Maeda, S. Shinoda, H. Miyake, and H. Tsukube, "Dynamically Capped Rotaxanes by Coordination Bonds with Metal Complexes", Joint Symposium of Post 5th International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry and the 6th Symposium on Host-Guest Chemistry, 2010年6月11-12日, 大阪, 日本.
- ㉔ S. Shinoda, Y. Yasueda, and H. Tsukube, "Anion-Enhanced Luminescence of Nona-Coordinated Cyclen-Eu³⁺ Complex at Neutral pH", 5th International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry, 2010年6月6-10日, 奈良, 日本.
- ㉕ 篠田哲史, "希土類イオンの配位化学を活用した分子認識・センシング", 第27回希土類討論会, 【招待講演】, 2010年5月27-28日, 北九州, 日本.

[図書] (計1件)

- ① Y. Kataoka, S. Shinoda, and H. Tsukube, Springer, Encyclopedia in Metalloproteins,

2013, in press. ISBN 978-1-4614-1534-3.

[その他]

ホームページ等

<http://www.sci.osaka-cu.ac.jp/chem/func>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

篠田 哲史 (SHINODA SATOSHI)

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：00285280

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし