

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		微小領域内酸素濃度計測を目指した蛍光・燐光同時測定による分子酸素計の開発			
研究テーマ (欧文) AZ		Development of molecular oxygen sensor based on the simultaneous measurement of fluorescence and phosphorescence for determination of oxygen concentration in small region			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)ヨシハラ	名)トシタダ	研究期間 B	2009 ~ 2010 年
	漢字 CB	吉原	利忠	報告年度 YR	2011 年
	ローマ字 CZ	Yoshihara	Toshitada	研究機関名	群馬大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		群馬大学大学院工学研究科応用化学・生物化学専攻 ・ 助教			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>本研究では、脂質二分子膜、細胞、組織などの微小領域における酸素濃度を非侵襲的に計測、イメージングするための分子酸素計の設計、開発を行った。開発した分子酸素計は、青色蛍光を示すクマリン 343 と赤色りん光を示すイリジウム錯体(BTP)をテトラプロリンで連結した構造(C343Pro4BTP)である。</p> <p>C343Pro4BTP の発光スペクトルをアセトニトリル中で測定したところ、クマリン 343 の蛍光と BTP のりん光が異なる波長域に同時に観測された。次に、トリス塩酸緩衝液中、リン脂質(DMPC)膜存在下において、同様に C343Pro4BTP の発光スペクトルの測定を行った。C343Pro4BTP はリン脂質膜中に取り込まれ、クマリン 343 の蛍光と BTP のりん光が異なる波長域に同時に観測された。また、溶液中の酸素分圧を 0 から 160mmHg (0.21atm) の範囲で変化させたところ、酸素分圧の減少に伴い、蛍光強度はほぼ一定であったのに対して、りん光強度は減少した。蛍光強度に対するりん光強度比(レシオ比)を酸素分圧に対してプロットすることにより、Stern-Volmer 定数を決定した。この値は、BTP のりん光寿命から得られた値と一致しており、C343Pro4BTP が膜中において分子酸素計として機能することが明らかとなった。</p> <p>培養細胞中の酸素濃度を測定するために、C343Pro4BTP を細胞培養液に最終濃度 2μM になるように添加し、2 時間培養し蛍光顕微鏡で観察を行った。細胞からの C343Pro4BTP の発光は非常に微弱であるが観測することができた。また、低酸素(2.5%)条件下で培養した場合、細胞中において C343Pro4BTP のりん光強度のみが増加することが明らかとなった。しかしながら、発光が微弱であるため定量的な解析は困難であった。今後、リンカーの分子構造を工夫することで細胞膜透過性の向上を行う。</p>					
キーワード FA	蛍光	りん光	酸素	細胞	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入して下さい）									
雑誌	論文標題 GB								
	著者名GA		雑誌名GC						
	ページGF	～	発行年GE					巻号 GD	
雑誌	論文標題 GB								
	著者名GA		雑誌名GC						
	ページGF	～	発行年GE					巻号 GD	
雑誌	論文標題 GB								
	著者名GA		雑誌名GC						
	ページGF	～	発行年GE					巻号 GD	
図書	著者名HA								
	書名HC								
	出版者HB		発行年HD					総ページ HE	
図書	著者名HA								
	書名HC								
	出版者HB		発行年HD					総ページ HE	

欧文概要EZ（ワープロ作成原稿の切り貼りで結構です。）

An optical molecular probe consisting of a fluorophore (coumarin 343) and a phosphor (BTP), which is connected by a tetraproline linker, was designed and synthesized, in order to measure the oxygen levels of lipid membrane, living cells, and tissues. C343Pro4BTP showed both the C343 fluorescence and BTP phosphorescence in acetonitrile and under a presence of lipid membrane in Tris-HCl buffer solution. The fluorescence of C343Pro4BTP is almost insensitive to oxygen, while the phosphorescence intensity decreases remarkably with an increase of the oxygen partial pressure. Based on the quantitative analyses, Stern-Volmer constant was determined in lipid membrane. To examine cellular oxygen levels, C343ProBTP was added into the medium at final concentration of 2 μ M, and cells were incubated for 2 hr. The luminescence images of the living cells observed. The fluorescence intensities from cells are almost the same under 20% and 2.5% oxygen concentration. In contrast, the phosphorescence intensities under 2.5% oxygen concentration are higher than those under 20% oxygen condition. To analyze quantitatively, the improvement of the molecular structures of the linker group of C343Pro4BTP are required.

会計報告書

研究(代表)者 吉原 利忠 印

単位 円

使 途 別	助成金支出 計画書 (a)	実 績 (b)	差 異 (a) - (b)	差 異 の 理 由
国内旅費	100,000	91,980	8,020	消耗品費補填のため
資料費	50,000	33,452	16,548	消耗品費補填のため
印刷複写費	50,000	0	50,000	投稿論文準備中のため
消耗品費	680,000	807,761	-127,761	消耗品費の過剰使用のため
機械・器具。備品費	420,000	366,807	53,193	消耗品費補填のため
合 計	1,300,000	1,300,000	0	合計額は助成金額と一致するように記入してください。

*助成金支出計画書の費目名を用途欄に、費目別金額を(a)欄に、下部合計欄に助成金額を記入。

*本報告書に領収書を添付する必要はありません。