



Title	ラベル化可能な蛍光ソルバトクロミック色素の合成と化学センサーポリマーの開発 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	岸, 和樹
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	乙第7174号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/89679">https://hdl.handle.net/2115/89679</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Kishi_Kazuki_abstract.pdf, 論文内容の要旨



# 学位論文内容の要旨

博士 (環境科学)

氏名 岸 和樹

## 学位論文題名

ラベル化可能な蛍光ソルバトクロミック色素の合成と化学センサーポリマーの開発  
(Synthesis of labelable fluorescent solvatochromic dyes and development of chemical sensor polymers)

蛍光色素を利用した化学センサーは幅広い場面で利用されている。しかし、芳香族部位を含むことで $\pi$ 電子共役系が分子内に多く存在することから、親油性が高い分子構造をしている。このため、多くの蛍光色素は有機溶媒中には安定的に溶解して存在することができるが、水中では溶解性の問題から利用できないことが多い。そこで、本研究の目的は、メルフィードレジンやアルギン酸ゲルを固相として、蛍光ソルバトクロミック色素を修飾した化学センサーの開発を行うことと設定した。つまり、固液界面上において利用可能なセンシングシステムの開発を考えた。

また、蛍光ソルバトクロミック色素は固相への固定が容易にできるようなラベル化部位を持つものを開発することを目指す。さらに、アルギン酸ゲルを利用することで開発した化学センサーについては、その目で見ても色鮮やかな蛍光色変化を利用し、水中でも目的物を測定することができるように画像解析を利用した化学センサーの評価を行うこととした。

第1章では、本論文における研究の背景と目的を述べた。

第2章では、ポリペプチド合成などに用いられているメルフィードレジンを用いて、エチニル基が導入された蛍光ソルバトクロミック色素で修飾することによりレジンセンサーを開発することに成功した。この際には、等量制御を用いてFT-IRの測定結果から段階的に蛍光ソルバトクロミック色素をクリック反応で導入することに成功した。また、同様にイオン認識部位となるアミド基を持ったエチニル化合物を導入する際にも段階的な反応を示すことを観測することができた。特に、エチニル化合物を導入する場合には、先にクリック反応をした状態であっても同様に反応させることができたことから、メルフィードレジンを用いたクリック反応での複数の目的物を別々に合成させていくことで、同時にメルフィードレジン上に存在させることが可能であることが分かった。

レジンセンサーの性能評価には光導波路分光装置を用いた測定を行った。この測定の結果、0.1Mの $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$ のアセトニトリル溶液に対して蛍光色が大きくブルーシフトする (538 nmから511 nm) ことを観測することができた。この観測の際には、イオン認識部位が含まれているかどうかで蛍光色がどのように変化するかも確認した。この結果、イオン認識部位が含まれていない場合、蛍光色があまり変化しない (510 nmから500 nm) ことが分かった。この結果から、蛍光ソルバトクロミック色素の周囲に導入されたイオン認識部位が持つアミド結合の溶媒和が大きく影響していることが分かった。しかし、目的としていた水中での観測では蛍光が発せられず、その変化を見ることができなかった。これは、メルフィードレジンにはポリスチレンを主鎖に持つポリマーであり、有機溶媒中の方がより膨潤率が高くなることから、水中では自己消光してしまったことが原因として考えられる。このことから、より親水性の高い固相を用いる必要があることが分かった。

第3章では、親水性の高いポリマーとしてアルギン酸を用いることとした。アルギン酸はほぼ水にしか溶解しないが、その構成にはカルボニル基を持った糖鎖が含まれていることから、蛍光ソルバトクロミック色素の導入はしやすいと考えられた。実際、本研究では蛍光ソルバトクロミック色素の供与基側にアミノ末端を導入することで容易に蛍光ソルバトクロミック色素の導入に成功した。このようにして作製したゲルセンサーのCPCに対する応答を観測する際には、画像解析を用いた比色法で確認することとした。これは、当研究室で研究・開発してきた蛍光ソルバトクロミック色素の特徴として、周囲の環境変化に色鮮やかに変色してその変化を見ることができるということから、人間の色彩変化の感覚に合わせて数値化を行うHSV形式の評価方法でより簡便に、また直感的にその蛍光色変化を示すことができると考えたからである。この評価を行うために、まずはただのアルギン酸ゲルビーズとゲルセンサーの挙動が同様になるかを確認した。この結果、蛍光ソルバトクロミック色素を0.5 %e.q.反応させた場合のゲルセンサーのCPC吸着量はほぼただのアルギン酸ゲルビーズの吸着量と変化しないことが分かったため、同様な挙動を示すことができるとわかった。次に、静置した状態での吸着挙動とその蛍光色変化を観察した。この結果、静置した状態でも吸着が可能であることが確認されが、平衡状態に達するまでの振とう時間に関しては2時間であるが、静置した状態での測定では平衡に達するまでに13時間を必要とした。また、振とう式では、1000  $\mu\text{M}$ の濃度まではほぼ全てのCPCが吸着されたが、静置した状態での測定では約64  $\mu\text{M}$ のCPCが水溶液中に残った。このことから、機械的強度の強いとされるアルギン酸ゲルを用いる場合、振とう式を用いるほうが良いことがわかった。さらに、この実験において観察する場合には倒立顕微鏡を用いた画像よりも正立型顕微鏡を用いた方が良いことが分かった。最後に、CPC水溶液中でゲルセンサーの実際に色変化が濃度によってどのように変化するかを振とう条件下で確認した。この結果、水溶液中のCPC濃度が1 mMまで増える中で蛍光発光色はライム色(約580 nm)から緑黄色(約540 nm)に変化し、波長極大がブルーシフトした。両方の現象は、共有結合した蛍光ソルバトクロミック色素を取り巻く環境の極性の低下を引き起こすアルギン酸錯体へのCPC吸収の結果である可能性が高い。また、その際の標準偏差は小さいもので0.23となった。さらに、0~50  $\mu\text{M}$ の範囲のこれらのプロットの傾きを使用して、CPC濃度の定量下限が小さいもので0.035  $\mu\text{M}$ であることがわかった。このことから、界面活性剤濃度とHue値との間に相関関係が存在することは、ゲルセンサーがCPCに対して良好なセンサーであることを示した。CPCのCMCは900  $\mu\text{M}$ 程度であるため、水溶液中にミセルが存在しない範囲でも、本研究で開発したゲルセンサーはCPC濃度に定量的に応答することが示唆された。一方で、CPC水溶液の低濃度(0~50  $\mu\text{M}$ )と高濃度(80  $\mu\text{M}$ 以上)の間で吸着機構に変化があると考えられる。つまり、低濃度領域ではCPC分子は静電相互作用により優先的にアルギン酸のカルボニル基に近づく。そして蛍光ソルバトクロミック色素が導入されたカルボニル基が近傍に存在する場合、蛍光波長に応答する。しかし、高濃度領域では、ビーズ中のCPC濃度が増加し、より多くのCPCがビーズ中でミセルを形成する。このミセル中に取り込まれる蛍光ソルバトクロミック色素が増加することで、定量的な変化が見られたと考えられる。また、その蛍光色変化の観察結果を調べると吸着量と蛍光色変化の間にほぼ直線的な関係があることが分かった ( $R^2=0.97$ )。

以上から、本研究で目的としていた水中での利用可能な蛍光波長のレシオメトリックな変化を定量的に観察するセンサーの開発ができたと考えられる。このことから、適切な素材を固相として用いることで、水中に溶解して存在する他の界面活性剤や生体物質に応答性の高い部位を導入することで、蛍光発光を利用した定量的なセンサーの更なる開発が可能になることが期待される。