

レドックス制御型蛍光 blinking を用いた生体還元剤の定量

(阪大産研¹・東工大生命理工²) ○土取 章太郎¹・米澤 祐基¹・范 姝璽¹・丸山 厚²・藤塚 守¹・川井 清彦²

Quantification of Bio-Reductants by Redox Kinetic Analysis Based on Control of Fluorescence Blinking (¹SANKEN (*The Institute of Scientific and Industrial Research*), *Osaka University*, ²*Department of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology*)
○Shotaro Tsuchitori,¹ Yuki Yonezawa,¹ Shuya Fan,¹ Atsushi Maruyama,² Mamoru Fujitsuka,¹ Kiyohiko Kawai²

We developed a technique which controls the rate of "blinking," a phenomenon unique to single molecule observation of fluorescence, by modulating the microenvironment around the fluorescent dye. Fluorescence blinking occurs when a redox agent induces electron transfer to the excited fluorescent dye, causing it to cycle between a non-luminescent state (OFF-state) and a fluorescent state (ON-state). In this study, we have developed a technique to control the blinking triggered by a redox agent and applied it to the quantification of bio-reductants.

Keywords : Fluorescence; Blinking; Electron Transfer; Single molecule measurement; Fluorescence Correlation Spectroscopy

我々は、蛍光の1分子観察特有である blinking と呼ばれる点滅現象を、蛍光色素周辺の微小環境を変化させることで制御する解析法 “Kinetic Analysis based on Control of fluorescence Blinking” (KACB 法) を開発してきた¹⁻³⁾。本研究では、生体還元剤の定量を目的として、還元剤に対し、酸化剤を高濃度に用いて制御する酸化型 blinking を検討した。酸化型 blinking では、まず励起状態の蛍光分子と酸化剤の間で電子移動が起こり、蛍光分子は無蛍光のラジカルカチオンとなる (OFF-state)。この OFF-state の蛍光分子が還元剤と反応すると、再び発光できる ON-state となり、この繰り返しにより blinking する。この blinking 速度は、還元剤濃度を変化させることで制御される。言い換えると、blinking 測定から還元剤の濃度を求めることができる (Fig. 1A)。blinking を蛍光相関分光 (FCS) により観察したところ (Fig. 1B)、光安定性に優れた蛍光分子である JF646 の blinking における OFF-state の長さの逆数が、Glutathione や Ascorbic acid に対して、直線的な濃度依存性を示したことから、blinking 測定を生体還元剤の定量に活用できることが示唆された。

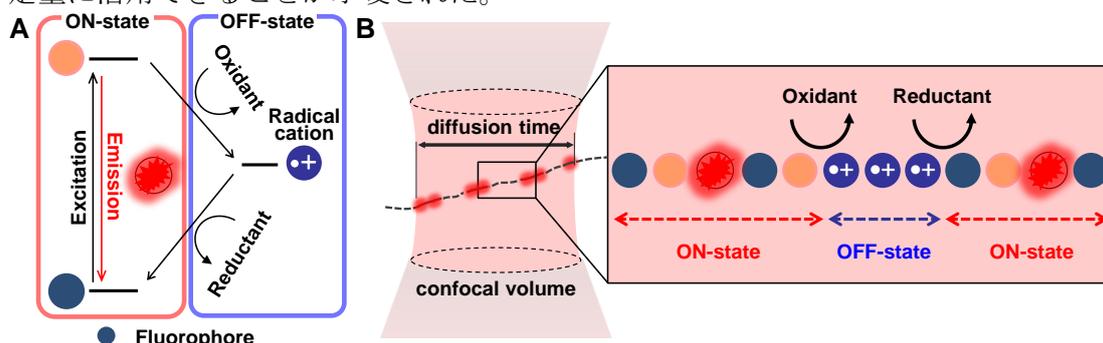


Fig. 1. (A) 酸化型 blinking の概念図。(B) FCS による酸化型 blinking 観察。

- 1) K. Kawai, T. Miyata, N. Shimada, S. Ito, H. Miyasaka, A. Maruyama, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 15329
- 2) T. Miyata, N. Shimada, A. Maruyama, K. Kawai, *Chem. Eur.-J.* **2018**, *24*, 6755.
- 3) K. Kawai, M. Fujitsuka, A. Maruyama, *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54*, 1001.