

アパタイト/Eu 錯体複合粒子の葉酸誘導体修飾による光機能化

Photofunctionalization by immobilization of folic acid derivative on

apatite/Eu-complex hybrid particles

長岡技科大工¹ ○片岡 卓也¹, 多賀谷 基博¹

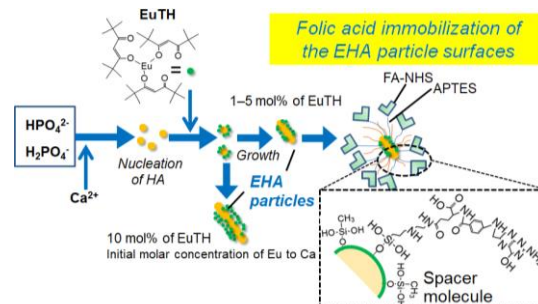
Nagaoka Univ. Tech.¹, ○Takuya Kataoka¹, Motohiro Tagaya¹

E-mail: takuya_kataoka@mst.nagaokaut.ac.jp

【緒言】特定の細胞を安全に可視化する標識材料の開発において、生体親和性に加え、発光強度と水への分散性の向上が課題であった。硬組織の主成分である水酸アパタイト (HA) は生体親和性に優れ、医療材料として実用されている。我々は、HA と Eu 錯体 (トリス (2,2,6,6-テトラメチル-3,5-ヘプタンジオナト) ユロビウム(III): EuTH) を複合 (EHA) し、HA の光機能化を実現した。前記の諸課題を解決するためには、EHA の表面状態を設計する必要がある。本研究では、がん細胞へ特異結合する葉酸活性化エステル (FA-NHS) を 3-アミノプロピルシラン (APTES) を介して EHA 表面へ固定した。FA-NHS の修飾量を調整し、葉酸分子間および葉酸-EHA 間の相互作用を制御し (Scheme 1), FA-NHS の修飾固定に伴った光物性を評価した。

【実験】EHA は、 K_2HPO_4 水溶液へ $CaCl_2$ 水溶液と EuTH エタノール溶液を滴下して晶析させた。Ca に対する Eu の添加濃度 X は $X=1.0, 2.5, 5.0, 10$ mol% とし、Ca/P 比を 1.65 とした。晶析物を XEHA と称す。次いで、5.0EHA へ APTES をスペーサー分子と共修飾し (Scheme 1), リン酸緩衝液で FA-NHS を修飾した。FA-NHS の分子占有断面積から、5.0EHA 表面の葉酸分子占有率 Y (%) が $Y=0, 5, 25, 50, 100$ となるように調整し、試料名を FAY-EHA とした。評価は、TEM, PL, 内部量子効率 (η_{int}) により行った。水系への分散性は、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中で電気抵抗ナノパルス法 (電圧: 0.6 V, 電流: 120 nA) により粒度分布を評価した。

【結果・考察】EHA の TEM 観察結果 (Fig 1) より、全試料がロッド状形態であり、1.0EHA, 2.5EHA, 5.0EHA の平均粒径は短軸径 (a 軸方向) が 18-19 nm で長軸径 (c 軸方向) が 49-50 nm であった。10EHA では、短軸径が 19 nm で長軸径が 92 nm であり、 c 軸方向へ特異成長した。EHA の EuTH 分子は、 a 面と選択的に相互作用し、未被覆の c 面側が特異成長した。PL 及び η_{int} 結果 (Fig. 2) から、粒子は赤色発光を示した。具体的に、FA-NHS 分子占有率が 3~5 % において、 Eu^{3+} イオンの $f-f$ 遷移に由来した強い発光に加え、518 nm 付近に新規発光帯が観測された。類似の発光帯は FA-NHS 固相では観測されず、FA-NHS 水溶液においてプテリンとイミン部位の π 電子共役系の S_1-S_0 間電荷移動に起因して 550 nm に観測された。このことから、EHA へ FA-NHS を低濃度に修飾した場合、EuTH-FA (モノマー) 間で電荷移動が起こり、両分子間で励起錯体を形成したと考えられる。その結果、水溶液系に比して蛍光極大波長がブルーシフトしたと考えられる。更に、FA-NHS の修飾に伴って η_{int} が増大し、特に、励起波長 464 nm における η_{int} は修飾前に比して 12 倍増加した。PBS での粒度分布測定の結果 (Fig. 3) から、EHA の平均粒径 144 nm から、修飾に伴って粒径が減少し、変動係数が増大した。正電荷をもつ FA-NHS の修飾により粒子表面の電荷が反発する方向に働き、分散が促進された。以上により、葉酸分子修飾に伴う EHA の光機能化を実現した。



Scheme 1 Illustration of the preparation process of the particles in this study.

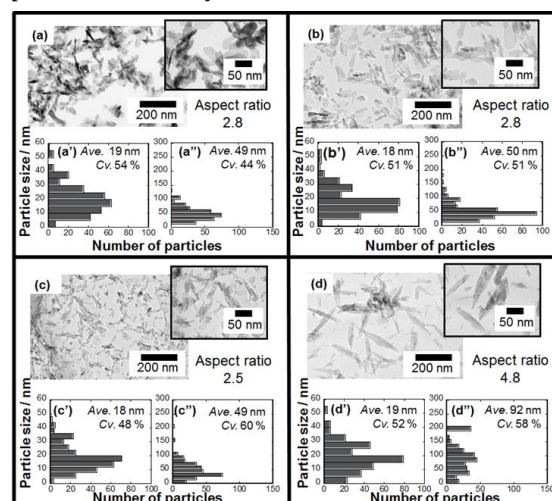


Fig. 1 (a-d) TEM images of the EHA particles (inset: magnified images) and (a'-d') short axis and (a''-d'') long axis sizes of the EHA particle shapes ((a, a', a'') 1.0EHA, (b, b', b'') 2.5EHA, (c, c', c'') 5.0EHA, (d, d', d'') 10EHA).

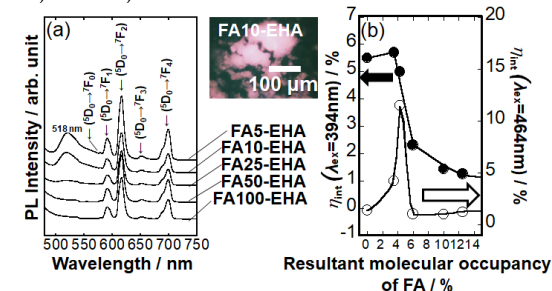


Fig. 2 (a) PL spectra (excitation wavelength (λ_{ex}): 464 nm) and (b) η_{int} values (λ_{ex} : 394, 464 nm) of the FA-EHA particles.

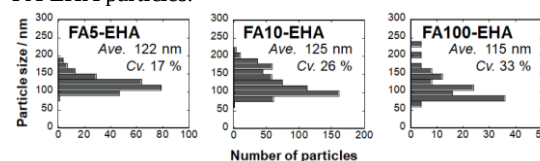


Fig. 3 Particle size distributions of the FA-EHA particles at PBS.