

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	細胞内酸素濃度イメージングのためのリン光性白金ポルフィリン化合物の合成
Title(English)	
著者(和文)	尾台俊亮
Author(English)	Shunsuke Odai
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11162号, 授与年月日:2019年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:蒲池 利章,中村 聡,三原 久和,和地 正明,朝倉 則行
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11162号, Conferred date:2019/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 (工学) Doctor of
学生氏名： Student's Name	尾台 俊亮		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	蒲池 利章
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)	

### 要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

酸素は好気性生物にとって非常に重要な分子であり、その動態を調べることは様々な生体内反応の理解につながる。当研究室では、リン光性色素と共焦点レーザー顕微鏡を用いた高解像度の細胞内酸素濃度イメージング法を開発した。この測定ではリン光寿命を酸素濃度の指標に用いており、低侵襲で継時的な測定が可能のほか、色素濃度に依存しない測定が可能であるという利点を有する。しかし、細胞内では色素と生体成分が複雑に相互作用するため、これらの相互作用すべてを評価し、正確な酸素濃度を見積もることは困難である。また、生体成分との相互作用のために、血清存在下では色素が細胞に取り込まれず、現在の細胞内酸素濃度イメージングでは血清飢餓の影響を無視することができない。これらの課題を解決するために、本研究では生体成分との相互作用を抑制可能な新たな色素の開発を試みた。一つは、白金ポルフィリンの周囲に嵩高い修飾を行うことで、立体障害により白金ポルフィリンと生体成分の相互作用を抑制することを目指し、デンドリマーを利用した色素を開発した。もう一つは、白金ポルフィリンをナノ粒子の内部に修飾することで、生体成分の白金ポルフィリンへの接近を阻害することを目指し、メソポーラスシリカナノ粒子 (MSNs) を利用した色素を開発した。

デンドリマーポルフィリンには、世代数や表面官能基が異なるものを計 6 種類合成した。合成したデンドリマーポルフィリンの吸収スペクトル・発光スペクトル・リン光寿命を測定した結果、周囲のデンドロンにより白金ポルフィリン周囲の極性や白金ポルフィリンとアミノ酸などの培地中の小分子との相互作用が変化していることが分かった。また、PtTCPP と比較して、デンドリマーポルフィリンでは生体成分による分光特性の変化が抑制されており、設計通りデンドリマー構造を利用することで白金ポルフィリンと生体成分の相互作用を抑制できた。また、様々な気相酸素濃度雰囲気下で発光スペクトルを測定した結果、デンドリマーポルフィリンは白金ポルフィリンが有する酸素応答性を保持していることが分かった。また、合成したデンドリマーポルフィリンを用いた細胞実験の結果、分子表面電荷が中性のデンドリマーポルフィリンは、生体適合性が高い一方で、従来の PtTCPP よりも細胞取り込み能が低いことが分かった。分子表面電荷がカチオン性のデンドリマーポルフィリンでは、そのカチオン性の高さから暗所毒性が高かったが、細胞取り込み能は高く、低濃度で染色することで細胞障害のない染色が可能であった。酸素応答性および生体成分との相互作用の観点で特に優れた性質を示した PtTCPP-LYS<sup>4</sup>NH<sub>2</sub> および PtTCPP-LYS<sup>2</sup>- $\gamma$ GLU(OH)NH<sub>2</sub> を用いて細胞内酸素濃度イメージングを行った。その結果、これらのデンドリマーポルフィリンは血清存在下においても細胞内に蓄積され、血清飢餓の影響を受けない細胞内酸素濃度イメージングが可能であることが分かった。

MSNs を利用した色素では、内部空間のみに白金ポルフィリンを修飾したメソポーラスシリカナノ粒子 (リン光性 MSNs) を調製した。このリン光性 MSNs は、白金ポルフィリン由来の吸光・発光特性および酸素応答性を示した。PtTCPP との比較から、細孔内部で白金ポルフィリンが会合体形成やシリカ表面に接着している可能性が示唆されたが、酸素消光速度は培地中の PtTCPP と同程度であることが分かった。生体成分存在下で分光特性は、発光強度が若干の増加したものの、デンドリマーポルフィリンよりもその変化は小さく、MSNs を利用することによって白金ポルフィリンと生体成分との相互作用抑制に成功した。細胞内酸素濃度イメージングにリン光性 MSNs を利用した結果、気相酸素濃度に依存して細胞内のリン光寿命が変化しており、リン光性 MSNs を用いた細胞内酸素濃度イメージングに成功したと言える。また、リン光性 MSNs の光毒性は PtTCPP よりも低かった。これは、MSNs の細孔内で生成した <sup>1</sup>O<sub>2</sub> が MSNs 外に移動する前に消光したため、細胞への酸化的ダメージが軽減されたと考えられる。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	尾台 俊亮		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	蒲池 利章	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Optical methods using phosphorescence quenching by oxygen are suitable for the measurement of oxygen concentration imaging within cells. Pt(II) *meso*-tetrakis (4-carboxyphenyl)porphyrin (PtTCPP) has been used for oxygen concentration imaging in cells. PtTCPP, however, has tendency to change its spectroscopic properties by the interaction with biomolecules. In addition, PtTCPP is difficult to accumulate in cells in the presence of serum due to the dye-serum interaction, so the effect of serum starvation is inevitable in oxygen concentration imaging. Therefore, the phosphorescent dyes which suppressed the interaction between dye and biomolecules are desired.

One of the elucidation towards this problem is using dendrimer structure. In this work, new dendrimer-porphyrins of 2<sup>nd</sup>-4<sup>th</sup> generation with various surface functional groups were synthesized. The investigation of the oxygen sensing properties and the effects of biomolecules on dendrimer-porphyrins by spectroscopic measurements suggested that the dendrimer-porphyrins could be used as oxygen sensor which are suppressed the effect of biomolecules. The cationic dendrimer-porphyrins showed high cellular uptake and were accumulated in cells in low concentration, but had high dark-cytotoxicity when dye concentration was high. By contrast, the neutral dendrimer-porphyrins exhibited low dark-cytotoxicity but showed low cellular uptake and were accumulated in cells with longer incubation time. Furthermore, the oxygen concentration imaging using dendrimer-porphyrins suggested that dendrimer-porphyrins were accumulated in cells even in the presence of serum. Therefore, oxygen concentration imaging without the effect of serum starvation was achieved.

Using the pore-inside of mesoporous silica nanomaterials (MSNs) is also one of the elucidation towards the problem. PtP@MSNs were synthesized using triethoxysilane-group containing Pt-porphyrin and MSNs with pore-size of 2.4 nm. PtP@MSNs also showed the oxygen sensing property and were suppressed the biomolecules effect. PtP@MSNs were accumulated in cells in the presence of serum and their phosphorescence in cells responded gaseous oxygen concentration. Furthermore, the light induced damage to cells stained with PtP@MSNs was lower than that of PtTCPP. This is because generated singlet oxygen in pores was quenched before leaking out of the pores. The oxygen concentration determination, however, did not achieve because the small biomolecules interacted with Pt-porphyrin to change its phosphorescence lifetime.

In summary, synthesized dendrimer-porphyrins and PtP@MSNs exhibited the oxygen sensing property and showed low interaction with biomolecules than PtTCPP. These phosphorescent dyes could be applied for oxygen concentration imaging without serum starvation, furthermore, PtP@MSNs showed lower light-cytotoxicity than PtTCPP.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).