

光検出光音響法を用いたチオ置換核酸塩基の二光子吸収スペクトル

(青学大・理工) ○池見 淳、磯崎 輔、鈴木 正

【序】

光線力学療法 (PDT) は、光感受性物質の腫瘍組織への特異的な集積性と、光増感反応により生成した活性酸素の強い細胞破壊効果を利用した治療法である。ピリミジン塩基であるチミンのヌクレオシドであるチミジンの O 原子を S 原子に置換したチオ置換核酸塩基は、分子構造がチミジンと類似しているため、腫瘍細胞の DNA 内に取り込まれる。

UVA 光 (320~400 nm) 照射により、チオ置換核酸塩基を取り込んだ腫瘍細胞は、アポトーシスを起こす。これを PDT に応用するためには、皮下組織への光の浸透を考慮し、より長波長の光で励起する必要がある。そこで本研究では、励起状態からの無放射失活による音響波を検出光のゆらぎとして観測する光検出光音響分光 (OPPAS) 法を用いて、チオ置換核酸塩基である 6-アザ-2-チオチミン (ATT) と 2-チオチミン (2TT) の二光子吸収スペクトルの測定を試みた。

【実験】

二光子吸収スペクトル測定には、励起光源として Nd³⁺:YAG レーザーの第三高調波 (355 nm) で励起した光パラメトリック発振 (OPO) レーザーを用いた。励起光をビームスプリッターによって 2 つに分け、片方を試料溶液に照射し、もう一方を色素 (styryl 9M) に吸収させた。色素の蛍光をパワーメーターによって検出することで励起光強度を測定した。試料溶液への励起光照射により生じた音響波は、He-Ne レーザーを用いて検出した。検出光の強度変化は光電子増倍管を用いて検出し、デジタルオシロスコープに取り込んだ。光反応生成物の影響を取り除くために試料はセル中をフローさせた。すべての測定は室温で行った。

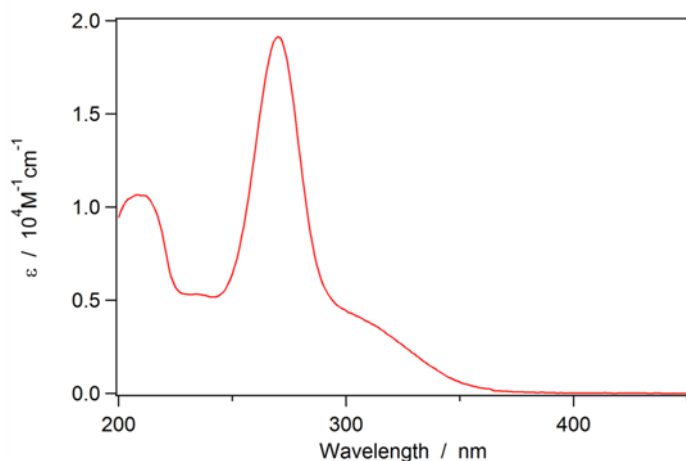
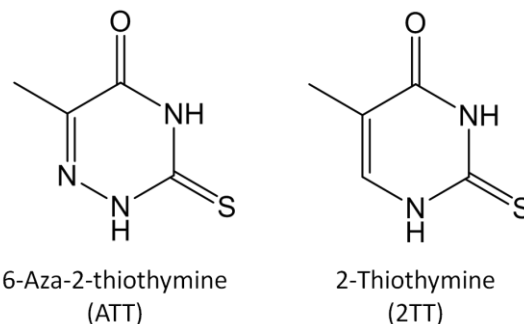


図1. ATTのアセトニトリル中における吸収スペクトル



【結果と考察】

図 1 に ATT のアセトニトリル溶液中における吸収スペクトルを示す。270 nm に強い吸収ピーク (19100 M⁻¹cm⁻¹)、300~380 nm にブロードな吸収が表れた。密度汎関数法 (B3LYP/6-31+G(d,p)/PCM) によって構造最適化を行った後、TD-DFT 計算をにより遷移エネルギーと振動子強度を見積もった [1]。350 nm 付近の弱い吸収帯は nπ*、310 nm 付近の

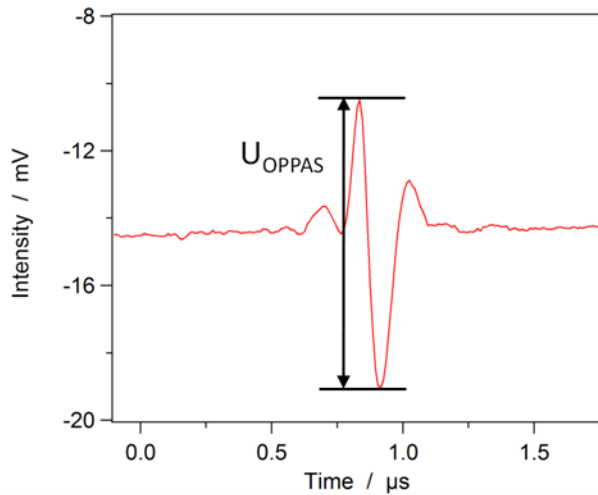


図2. ATTのOPPAS信号

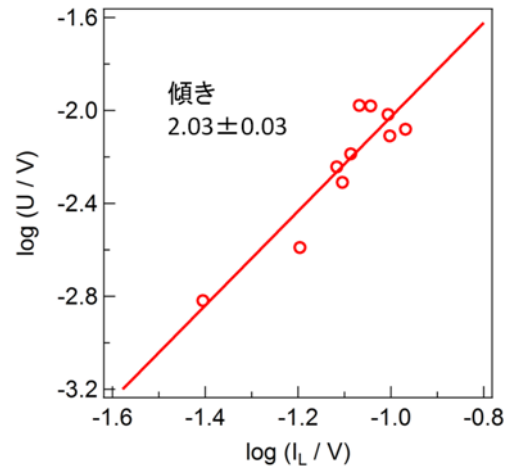


図3. OPPAS信号のレーザー光強度(I_L)依存性

吸収帯は $\pi\pi^*$ 遷移と帰属した。

ATTのアセトニトリル溶液に510 nmのレーザー光を照射したところ、OPPAS信号が観測された(図2)。これは、励起光照射によって生成した励起分子が、無放射失活する際に余剰エネルギーを周囲の溶媒に熱として放出し、温度上昇によって発生した音響波に因る。OPPAS信号強度(U_{OPPAS})のレーザー光強度依存性を調べた(図3)。両対数プロットは直線となり、その傾きは 2.03 ± 0.03 であった。このことから、今回測定したOPPAS信号はATTの二光子吸収によるものであると結論した。

レーザー光の波長を掃引して、ATTの二光子吸収スペクトルの測定を行った(図4)。ブロードな吸収帯が観測され、450 nmに最も強い吸収が観測された。チオ置換核酸塩基の二光子吸収スペクトルを観測することに初めて成功した。OPPAS法は無蛍光性の分子の二光子吸収スペクトル測定に有用な手法であることが立証された。

チオ置換核酸塩基における二光子吸収スペクトルを初めて観測した。また、その吸収帯は可視領域にあり、UVAよりも長波長側であることから、PDTへの応用の可能性が広がった。皮下組織への光の浸透には赤外領域の波長がより有利なため、三光子以上の多光子吸収過程の可能性も検討していく。発表では、2TTの二光子吸収スペクトル及び、その遷移確率についても報告する。

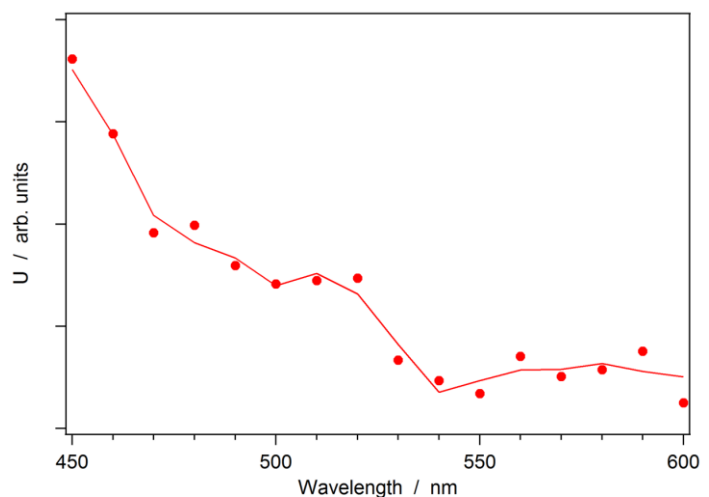


図4. ATTの2光子吸収スペクトル

【参考文献】

[1] H.Kuramochi et al., *J.Phys.Chem.B* **2010**, *114*, 8782.