

## 蛍光共鳴エネルギー移動における励起状態緩和と拡散の効果

(阪大院・生命機能) ○邨次 敦, 渡辺 純二, 木下 修一

[序]

蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)は、蛍光分子の励起エネルギーが別の蛍光分子に移動する現象である。分子間の距離が1~10nmほど離れていても励起エネルギーは効率よく移動できる。そのため、2タンパク分子の相互作用の測定や、構造変化の観察、生体イメージング等に広く応用されている。しかし、生体内、例えば細胞内では様々な分子が存在し、それらと蛍光分子との相互作用により、励起状態の緩和や分子の拡散がFRETに影響を及ぼすことが考えられる。FRETの正確な解析のためには、これらの影響を考慮に入れることが重要である。

これまで、溶媒中の色素分子において溶媒の粘性を高くしたり、溶液の温度を下げたりすることによって、蛍光スペクトルが時間とともに低エネルギー側に移動する現象(ダイナミックストークスシフト)が観測されている[1]。FRETの移動効率はドナー分子の発光スペクトルとアクセプター分子の吸収スペクトルの重なり積分で決まるため、時間的にスペクトルが変化する場合、FRETの効率も変化することが予想される。そこで、ドナー分子の発光スペクトルが時間的に変化する場合、FRETによってドナー分子からの発光の時間特性がどのように変化するかを計算機シミュレーションによって調べた。

[計算手法と結果]

アクセプターの吸収スペクトルはガウス型を仮定した。ドナーの発光スペクトルもガウス型の関数と仮定し、そのピークと幅の時間変化が単一指数関数で表されると仮定した[1]。この時間変化する発光スペクトルと吸収スペクトルを用いて、重なり積分を計算しFRET効率の時間変化を求めた。そして励起状態にあるドナー分子の分布の時間変化を、FRETの効果を加えた拡散方程式を数値的に解くことで求めた。ここではドナー分子とアクセプター分子が一直線上に1つずつ存在するとして一次元での計算を行った。図1に今回計算に用いたアクセプターの吸収スペクトルとドナーの発光スペクトルを示す。F0は発光スペクトルの初期状態である。エネルギー緩和の仕方によって次の二つの場合を考える。(A)発光スペクトルのシフトが吸収スペクトルのピークを越えない場合、(B)吸収スペクトルのピークを越える場合。それぞれに対する緩和後の発光スペクトルをF1、F2とする。

ここでは、エネルギー緩和の影響のみ考慮した結果を述べる。図2に様々な条件におけるドナー分子の発光の時間特性を示す。線1はドナー分子のみ存在するときの時間変化で寿命 $\tau_0$ の単一指数関数である。線2は発光スペクトルがF0の位置のまま変

化しない場合で、FRETによって減衰時間が早くなっている。線3はエネルギー緩和の仕方が(A)の場合、線4は(B)の場合の発光の時間特性に対応する。なおエネルギー緩和時間は寿命 $\tau_D$ と等しいとした。線3は時間的に遅い所の減衰が速くなっており、線4では途中の減衰速度が速くなっていることがわかった。

[考察]

線3において減衰が速くなった理由は、(A)の場合、FRETの寄与が時間的に遅い方が大きくなったためである。また、(B)の場合、発光の時間変化には途中で急激な減少が生じることがわかった。これはFRETの寄与が時間とともに増加し、その後減少するためである。

発表では計算手法の詳細を示すとともに、拡散の効果についても紹介する。なお拡散の効果は、拡散係数、寿命、エネルギー緩和時間、計算上の格子サイズに依存する。さらにドナーとしてローダミン6G、アクセプターとしてマラカイトグリーンを用いた実験との比較についても議論する。

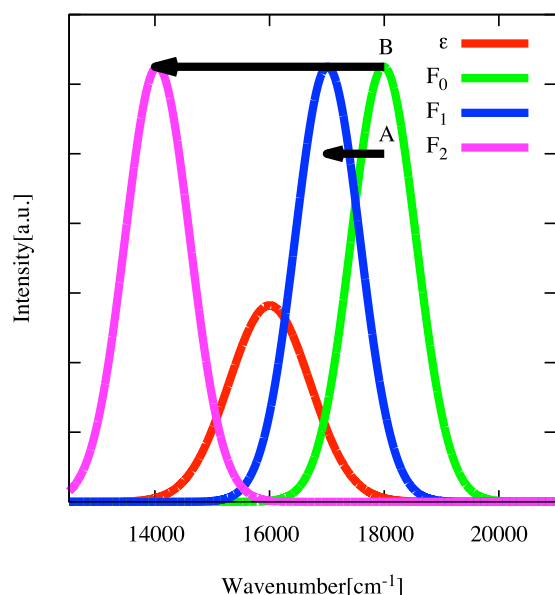


図1、 $\epsilon$ はアクセプターの吸収スペクトルを表す。F0が発光スペクトルの初期状態でF1およびF2は緩和後のスペクトルを表す。

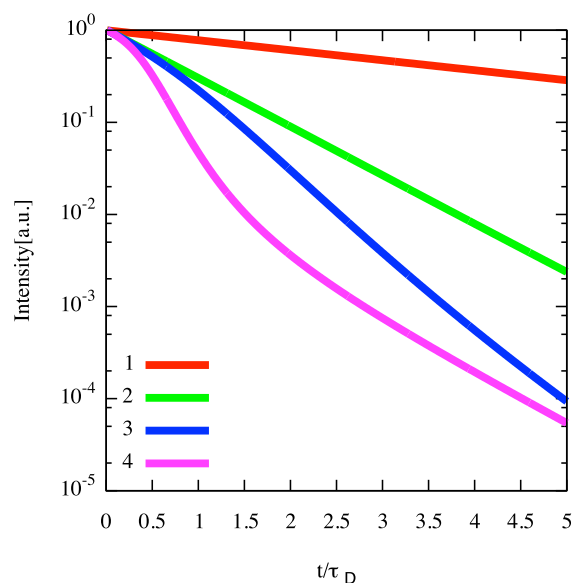


図2、1:ドナーのみの発光時間特性、2:エネルギー緩和が無い場合の減衰、3:(A)の場合の減衰、4:(B)の場合の減衰を表す

[1] S. Kinoshita, N. Nishi J. Chem. Phys., 89, 6612 (1988)