

## ダンシルクロリド溶液とイソプロピルアミンの 液滴衝突による蛍光増強反応

学習院大院理

○茂山亜凜, 浅見祐也, 河野淳也

### Fluorescence enhancement reaction by droplet collision of dansyl chloride solution and isopropylamine

○Arin Shigeyama, Hiroya Asami, Jun-ya Kohno  
*Graduate School of Science, Gakushuin University, Japan*

**【Abstract】** We focus on the reaction between dansyl chloride (DNS-Cl) and isopropylamine (IPA), where fluorescence enhances by formation of amide. The reaction triggered by droplet collision was observed by irradiation of a pulsed laser onto the colliding droplet. The fluorescence intensity were calibrated with the concentration of the product species, and the rate constant was obtained. The concentration of DNS-A increases almost linearly to the reaction time in the range of 10 - 50  $\mu\text{s}$  after collision, which shows that we observe fluorescence enhancement of the reaction droplet was the initial stage of the fluorescence enhancement reaction by mixing the solution. The rate constant of the mixing reaction by the droplet collision was  $466 \pm 22 \text{ Lmol}^{-1}\text{s}^{-1}$ . On the other hand, the rate constant of the same reaction in bulk solution was measured to be  $10.74 \pm 0.03 \text{ Lmol}^{-1}\text{s}^{-1}$ . In the vicinity of the interface, the solvation of the molecule is incomplete and the reaction point is free from solvation. As a result, the reaction rate constant is increased.

**【序論】** 溶液の混合による反応は化学の基本であるため、その反応過程を解明することは重要である。高速反応の初期過程の解明には、反応の精密制御が不可欠である。そのため本研究ではピエゾ技術を用いて液滴を精密に制御し、化学反応を観測した。また本研究では、ダンシルクロリド(DNS-Cl)溶液とイソプロピルアミン(IPA)の反応に注目した。DNS-Cl は、アミンと反応することで蛍光が増強する。この蛍光増強は、タンパク質やペプチドの定量に利用されている重要な反応である。DNS-Cl のアセトニトリル(MeCN)溶液と IPA の液滴衝突反応を観測した。濃度既知の生成物からの信号により校正を行い、反応の定量的解析を行った。

**【実験方法】** ピエゾ素子駆動液滴ノズルを用いて 1 mM DNS-Cl/MeCN 溶液と 11 M IPA の液滴を生成し衝突させた。アミン蒸気と DNS-Cl の反応を抑制するため、容器を窒素置換して実験を行った。液滴の形状はパルス LED 照明を用いてストロボ写真として観測した。また、衝突後の液滴に Nd:YAG レーザー光の 3 倍波(0.25 mJ/pulse, 355 nm)を集光して照射した。発生した蛍光はハーフミラーを用いて強度比 3:7 の光に分け、それぞれカメラと分光器へ導入して蛍光画像と蛍光スペクトルを同時に測定した。校正のため DNS-Cl/MeCN 溶液と IPA を混合した濃度既知(0.05~0.175 mM)の DNS-A 溶液を調製し、液滴衝突実験を同様に行った。また、1  $\mu\text{M}$  DNS-Cl/MeCN 溶液と 11 mM IPA のバルクの混合による蛍光増強反応を、分光光度計を用いて観測した。その際励起波長と蛍光波長はそれぞれ 355 nm、510 nm とした。これらの結果から液滴衝突およびバルクの混合反応の反応速度定数をそれぞれ算出した。

**【結果・考察】**衝突から 10—50  $\mu\text{s}$  後の液滴の蛍光画像、蛍光スペクトルをそれぞれ Fig.1a, b に示す。蛍光強度は、衝突からの時間経過に伴って増強したことがわかる。DNS-C/MeCN 溶液と IPA、および DNS-A 同士の 0.05~0.175 mM 溶液の衝突液滴からの蛍光強度を、衝突からの経過時間に対して測定した結果を Fig.2a および b にそれぞれ示す。Fig.2a から、反応液滴において蛍光強度は衝突後時間経過に伴って増加したことがわかる。一方、濃度既知の DNS-A の液滴衝突においても時間経過による蛍光強度の増加がみられた(Fig.2b)。これは液滴の形状に依存した蛍光増強であると考えられる。これらの結果を用いて 1 mM DNS-Cl と IPA の反応により生成した DNS-A の濃度を算出した(Fig.2c)。衝突後 10—50  $\mu\text{s}$  の間で DNS-A の濃度はほぼ線形に増強した。その結果、反応液滴の蛍光の増強は溶液の混合による蛍光増強反応の初期過程であることが分かった。IPA の濃度が DNS-Cl の濃度より十分に大きいことからこの反応を擬一次反応として反応速度定数を算出した。その結果、液滴衝突による混合反応の反応速度定数は  $466 \pm 22 \text{ Lmol}^{-1}\text{s}^{-1}$  となった。DNS-Cl と IPA のバルク溶液を混合させてからの蛍光強度の時間変化を Fig.3 に示す。測定結果から得た反応速度定数は  $10.74 \pm 0.03 \text{ Lmol}^{-1}\text{s}^{-1}$  となった。また、これに対して  $I=A(1-e^{-k[\text{IPA}]t})$  としてフィッティングを行って得た反応速度定数は  $9.77 \pm 0.02 \text{ Lmol}^{-1}\text{s}^{-1}$  となり、概ね一致した。ただし、 $I$  は  $t$  における蛍光強度、 $A$  は最終蛍光強度、 $k$  は反応速度定数、 $t$  は経過時間である。液滴衝突では界面での反応を観測することが可能である。バルク中と比べて界面付近では分子の溶媒和が不完全で、溶媒和されていない反応点が存在している。その結果としてバルク溶液に対して液滴衝突による混合の反応速度定数はおよそ 40-50 倍大きくなったと考えられる。

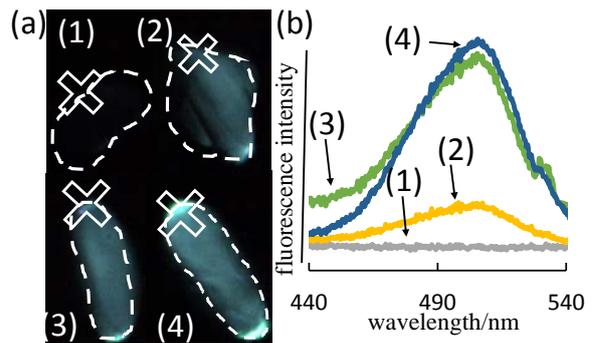


Fig.1, (a) Fluorescence image of DNS - Cl / MeCN solution (right) and IPA (left) and (b) fluorescence spectrum of colliding droplets. The elapsed time after the collision is (1) 10, (2) 20, (3) 40, (4) 50  $\mu\text{s}$ .

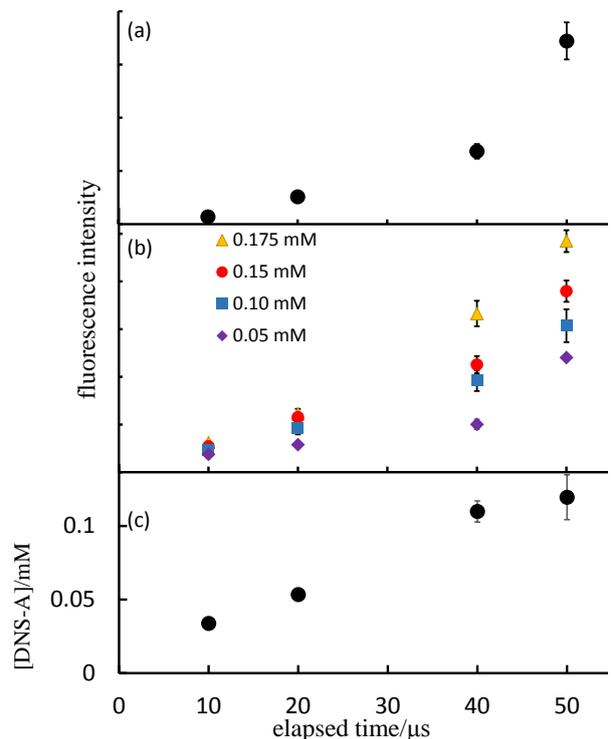


Fig.2, Elapsed time dependence of fluorescence intensity and [DNS-A]  
 (A) Fluorescent intensity of collision droplets of DNS-Cl and IPA  
 (B) Fluorescent intensity of collision droplets between known [DNS-A]  
 (C) [DNS-A] generated by droplet collision of DNS-Cl and IPA

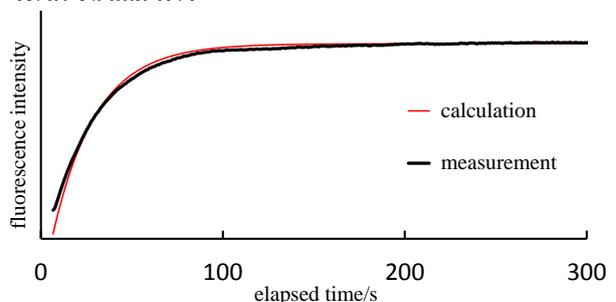


Fig.3, Elapsed time dependence of fluorescence intensity in bulk solution. Black line is measurements and red line is calculation.