

28a-K-1

蛍光寿命でカルシウムイオン濃度を定量可能な色素の検索

Search of probes for quantitative Ca^{2+} concentration measurement by Fluorescence lifetime

阪大院 ○東 洋喜, 吉木 啓介, 橋本 守, 荒木 勉

Osaka University ○Hiroki Azuma, Keisuke Yoshiki, Mamoru Hashimoto, Tsutomu Araki
azuma@sml.me.es.osaka-u.ac.jp

生体内カルシウムイオンは情報伝達物質として重要な因子である。その濃度分布や動態の観測は様々な生体機構を解明する上で有用な手法であり、イオンプローブと呼ばれる色素を用いた蛍光観測が広く行われている。イオンプローブには、2波長励起/1波長測光または1波長励起/2波長測光で比色法により定量化するものと、1波長励起/1波長測光でイオン濃度変化を蛍光強度変化として観測するものがある。しかし、比色法で使用される色素は、細胞に対して有害な紫外光で励起する必要があり、1波長励起/1波長測光に用いられる色素は可視光領域で励起できるものの、退色、励起光の強度むらや減衰等により定量的な観測を行なうことができないという問題がある。イオンプローブは、イオンの結合/解離による蛍光特性(発光波長、強度等)の変化を利用しており、その蛍光寿命もイオン濃度により変化する可能性を持つ。そこで、1波長励起/1波長測光用プローブを用いた、蛍光寿命によるカルシウムイオンの定量を目指して、種々のイオンプローブの蛍光寿命とカルシウム濃度の関係を調べ、最適なプローブの検索を行なった。蛍光寿命の測定は、受動的Q-switchマイクロチップレーザを光源とした時間相関単一光子計数顕微分光システムで行なった。右図に fluo-3, calcium green-1, fluo-4, calcium orange の蛍光寿命とカルシウム濃度の関係を示す。fluo-3 と calcium green-1 は蛍光寿命が大きく変化する。蛍光寿命から低カルシウムイオン濃度領域の定量化が可能であることが分かる。現在、高濃度のカルシウムイオンの定量を目指して、より解離定数の大きなプローブの蛍光寿命特性を調べており、合わせて報告する。

