

ガン細胞中のビタミンCを蛍光バイオイメージング！  
—電子スピンを利用したビタミンC検出用蛍光色素を開発—

東京大学生産技術研究所  
第4部 物質・環境系部門

石井 和之・窪 謙佑・櫻田 智也・小森 喜久夫・酒井 康行

# 東京大学生産技術研究所

## 第4部 物質・環境系部門

石井 和之研究室

機能性色素を専門

酒井 康行研究室

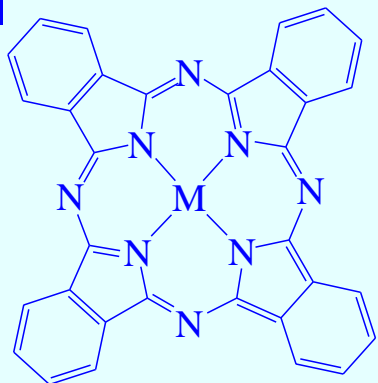
生体システム工学を専門



光電荷発生材料



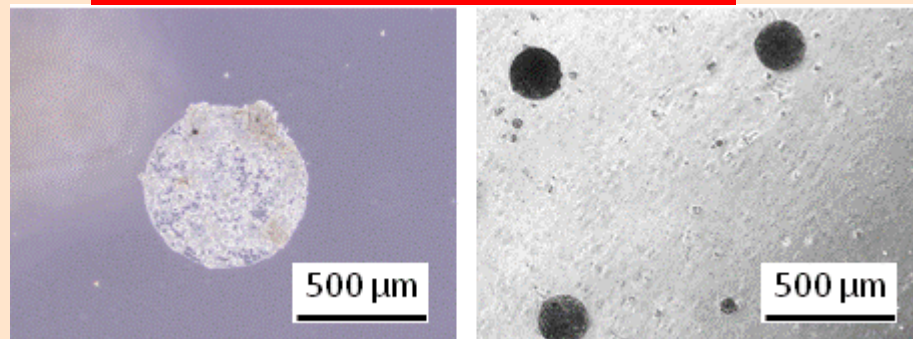
光記録媒体



フタロシアニン

青色・緑色の顔料・染料

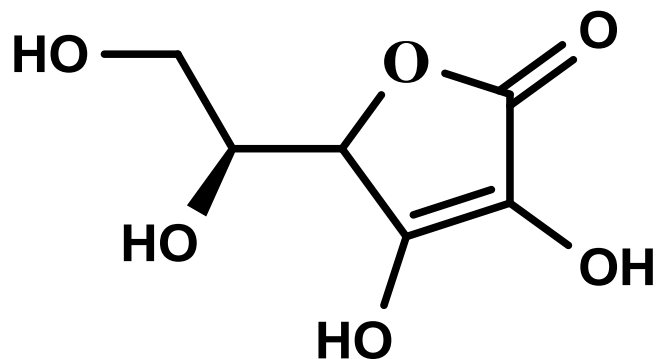
### 細胞アレイデバイス・システム



### 三次元培養による肝組織工学



# ビタミンCの生体内機能



ビタミンC (アスコルビン酸)

必須栄養素  
アミノ酸生合成への利用  
副腎からのホルモン分泌  
L-カルニチンの合成  
壊血病予防作用  
抗酸化剤

ヒトはビタミンCを外部から摂取

近年、ビタミンCの高濃度投与は大きな注目を集めている

ガン治療に有効

「薬理的濃度のアスコルビン酸はガン細胞を選択的に殺す」  
Q. Chen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 13604-13609 (2005).  
臨床研究  
J. A. Drisko et al., *J. Am. College Nutrition*, **22**, 118-123 (2003).  
S. J. Padayatty et al., *CMAJ*, **174**, 937-942 (2006).

放射線障害の軽減

T. Yamamoto et al., *J. Radiat. Res.*, **51**, 145-156 (2010).

生体環境におけるビタミンCを蛍光でイメージングする方法はなかった

蛍光バイオイメージング

①生体内局在のリアルタイム観察 ②高感度 ③高分解能 ④非破壊

→ ビタミンC生体内機能解明のための非常に重要な“道具”

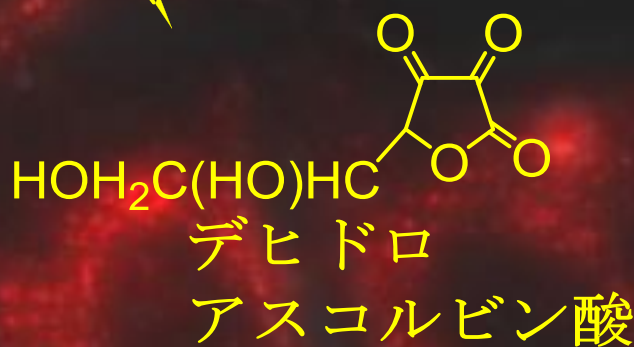
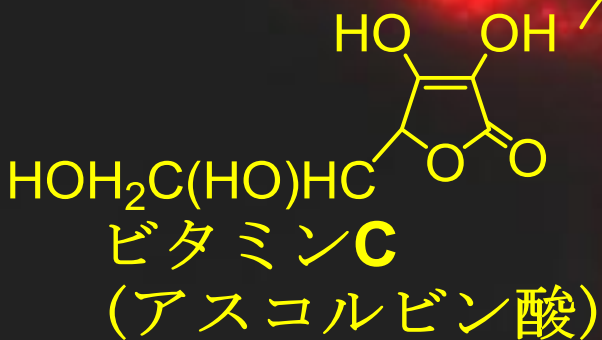
弱い蛍光

強い蛍光

50  $\mu\text{m}$



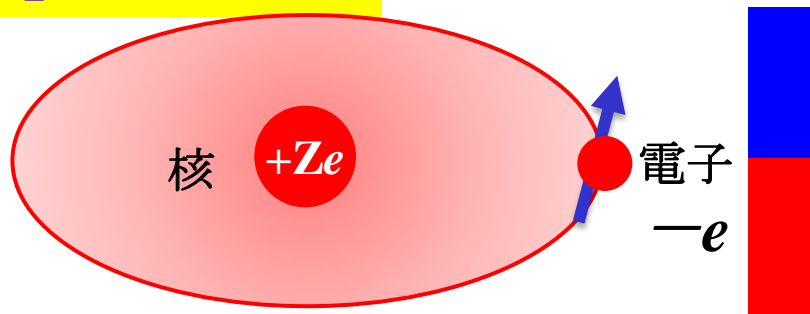
**R2c**



本研究→初めてのビタミンC蛍光バイオイメージングに成功

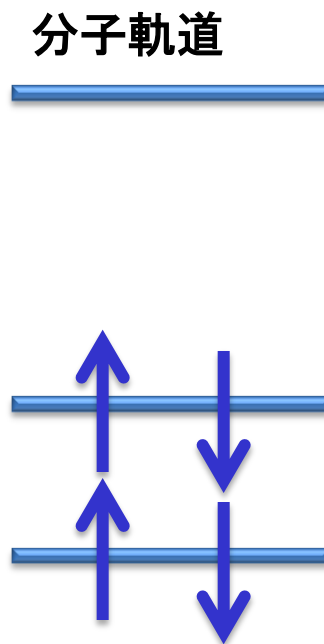
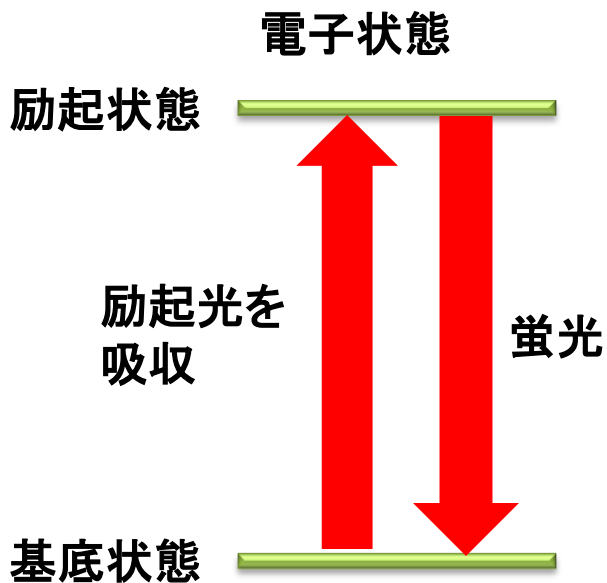
# 本研究のポイント① 電子スピンの利用

電子スピンとは？



電子は自転することで磁氣的性質を持つ  
→電子スピン=磁石のもと

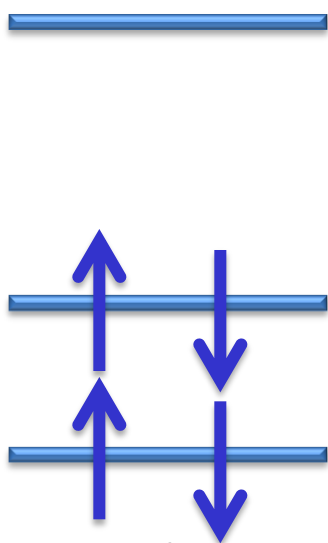
有機分子の蛍光とは？



電子スピンの全てが対になっている  
反磁性分子

# 有機ラジカルとは？

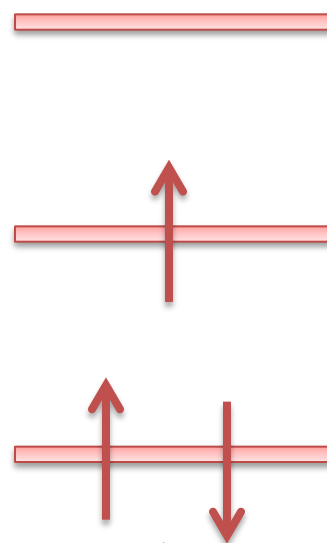
分子軌道



電子スピンの全てが対になっている  
反磁性分子



蛍光分子

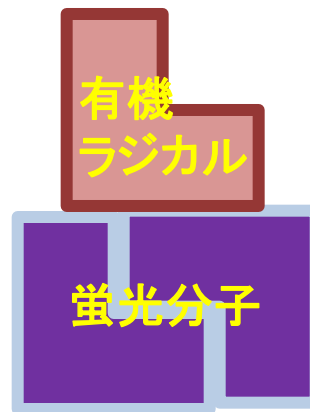
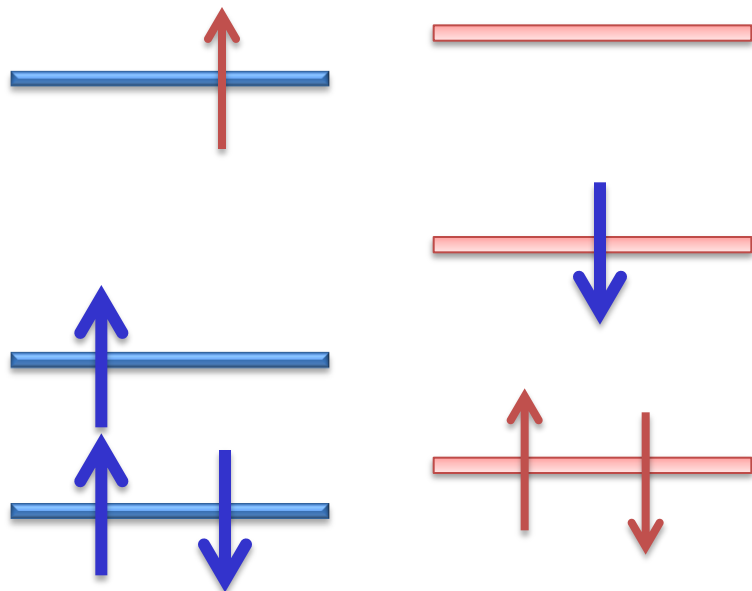


電子スピンの対になっていない  
常磁性分子



有機ラジカル

## 蛍光分子と有機ラジカルを結合させる

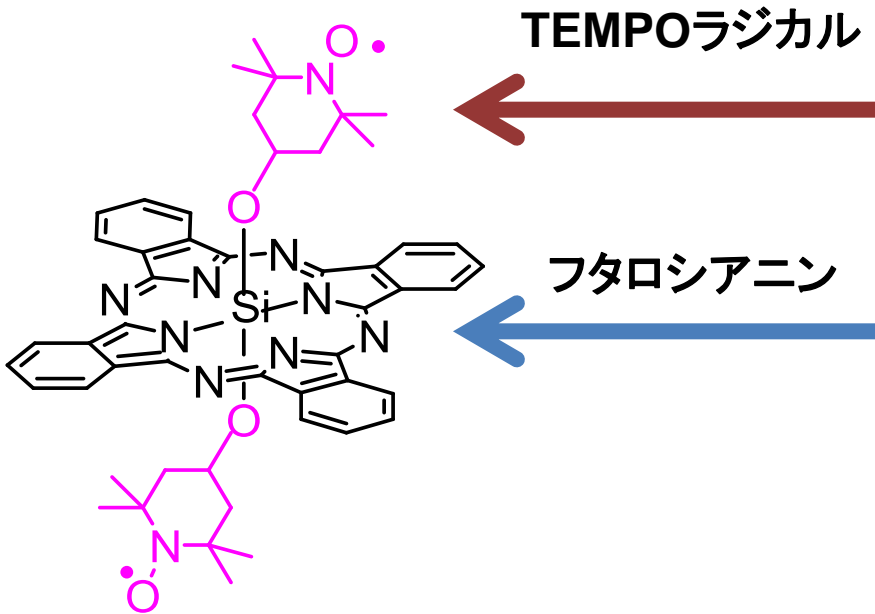


有機ラジカル

蛍光分子

励起状態の磁氣的性質が変わって  
蛍光を発しない

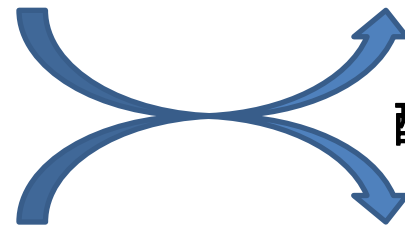
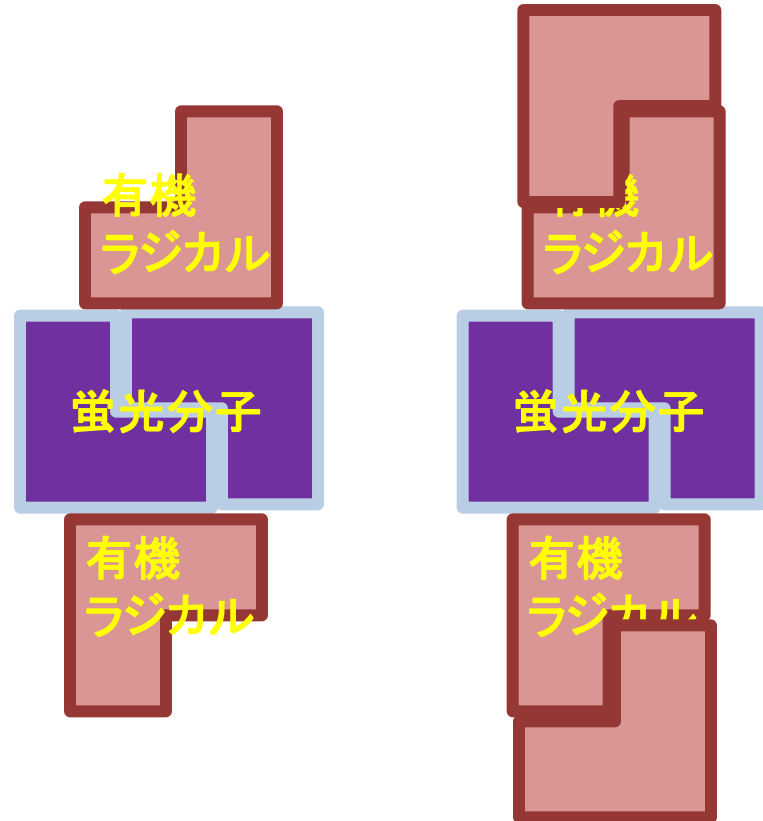
# ビタミンCとの反応



- 有機ラジカルの電子スピンを利用
- ① 蛍光を消光
  - ② ビタミンCと反応

弱い蛍光

強い蛍光



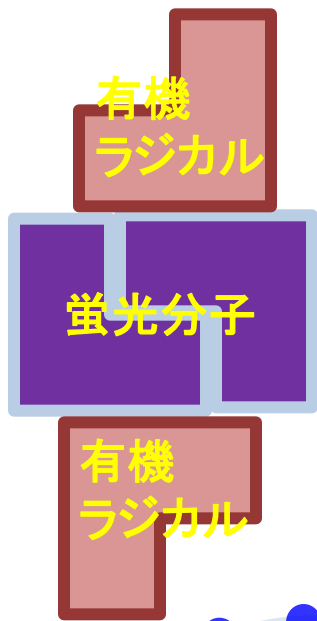
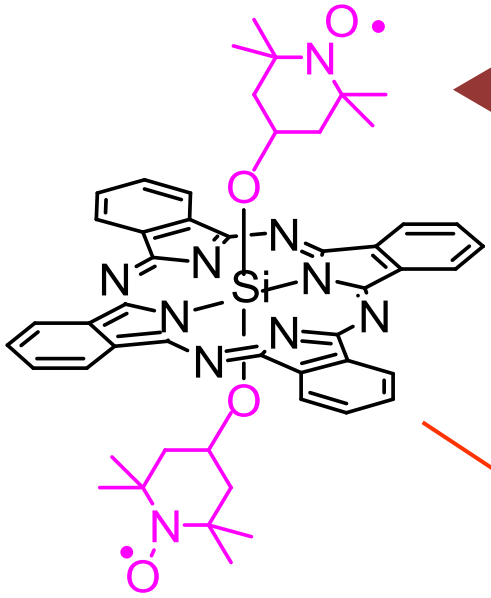
酸化還元反応

ビタミンC  
(アスコルビン酸)

デヒドロアスコルビン酸

# 本研究のポイント② ラジカルの保護

TEMPOラジカル

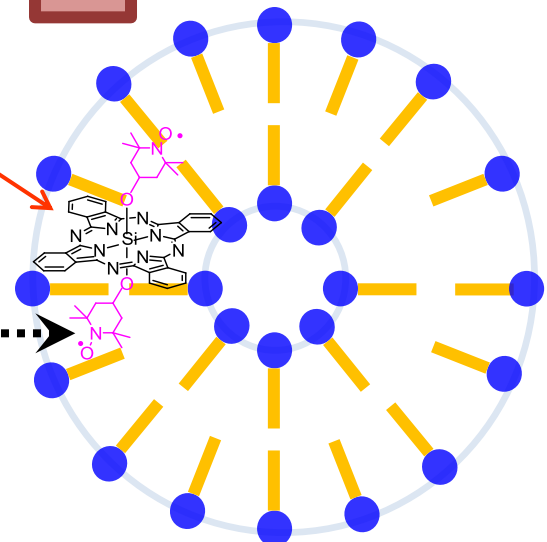


リポソームで保護

ラジカルは、  
細胞内酸化還元物質と  
非選択的に反応

→特定の化学種の  
バイオイメーキング  
への応用不可能

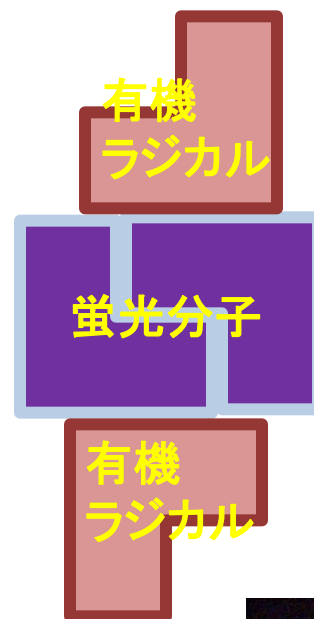
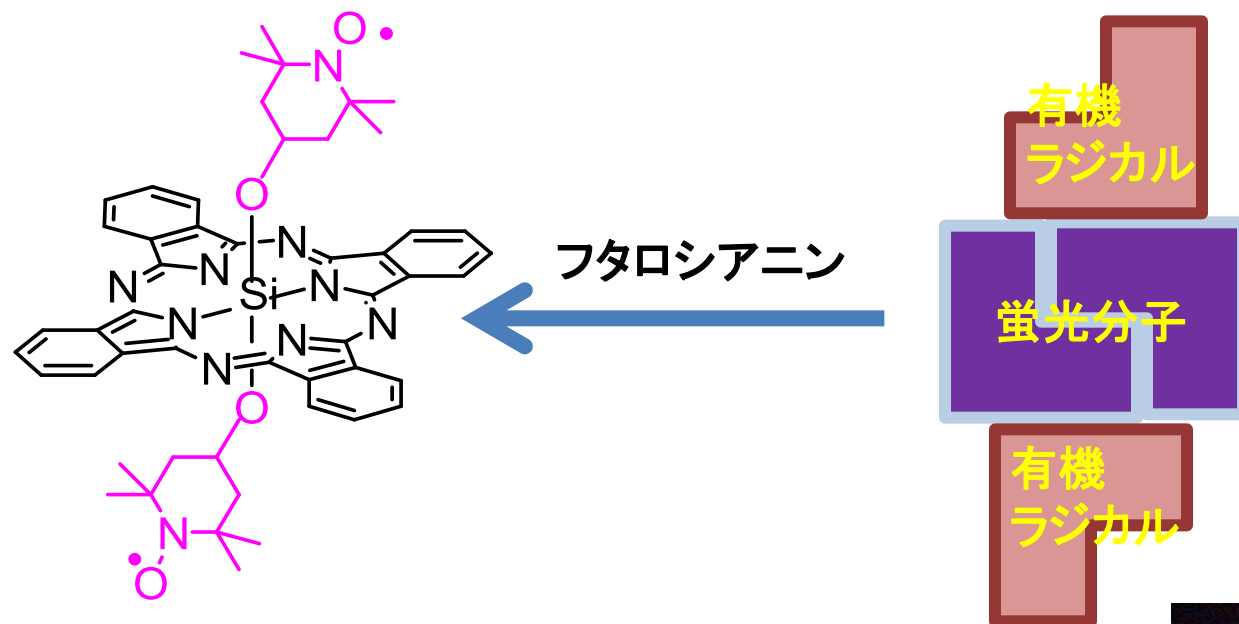
イオン



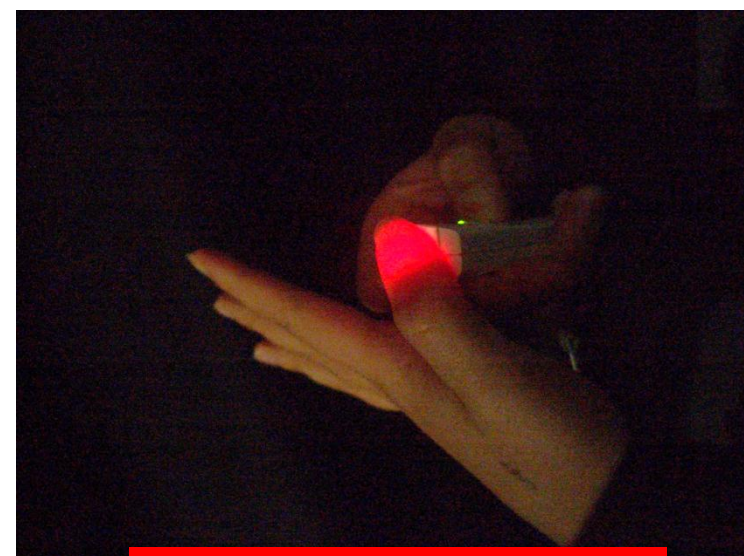
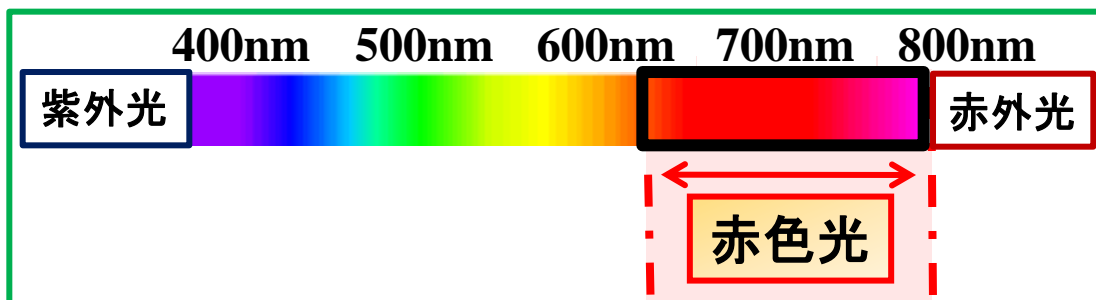
リポソーム(リン脂質二重膜)



# 本研究のポイント③ フタロシアニン色素の利用



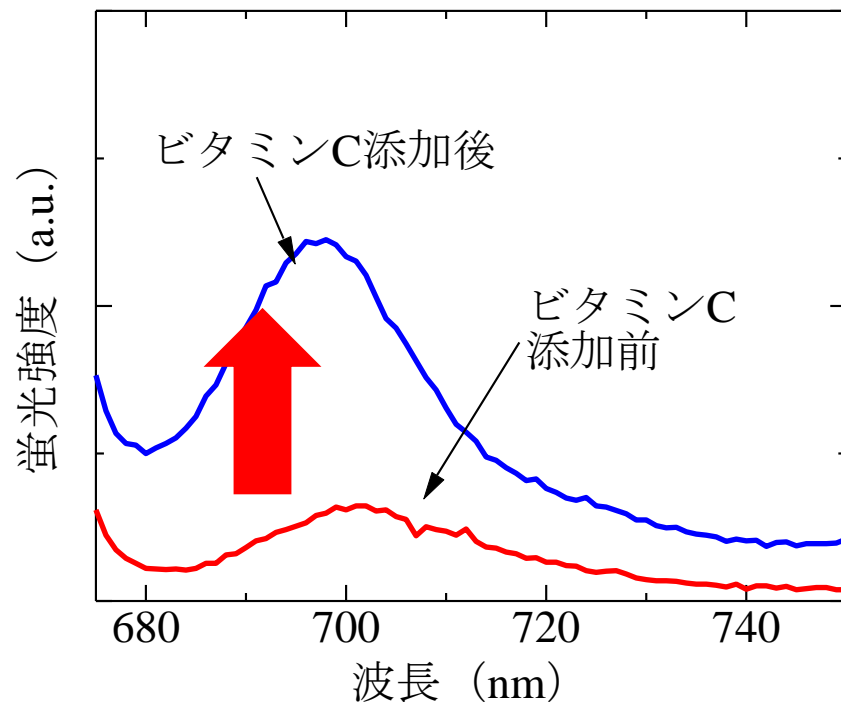
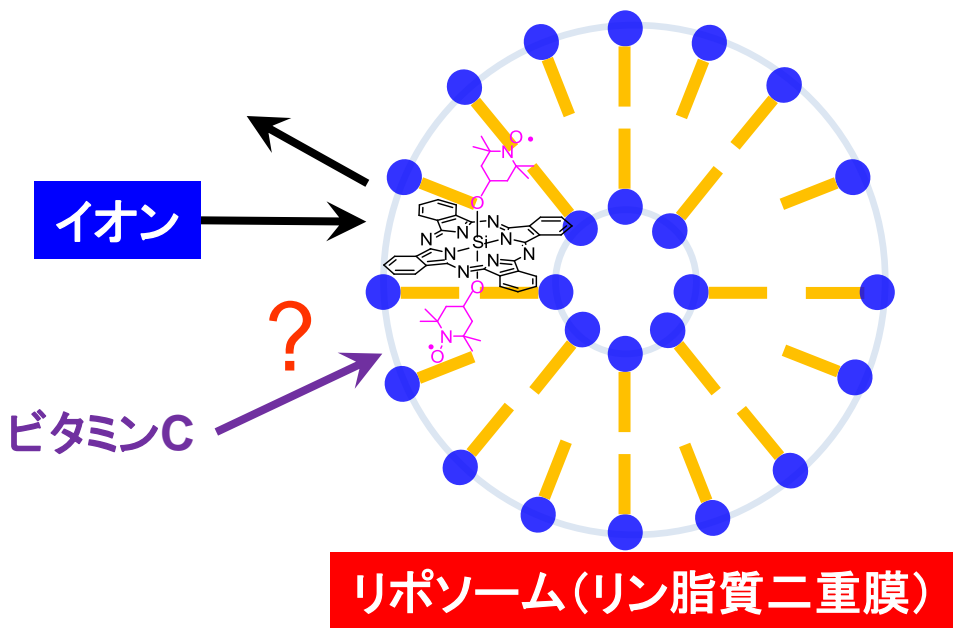
励起光、蛍光ともに生体組織透過性が高い



赤い光がヒトの指を透過

# 結果 水溶液中

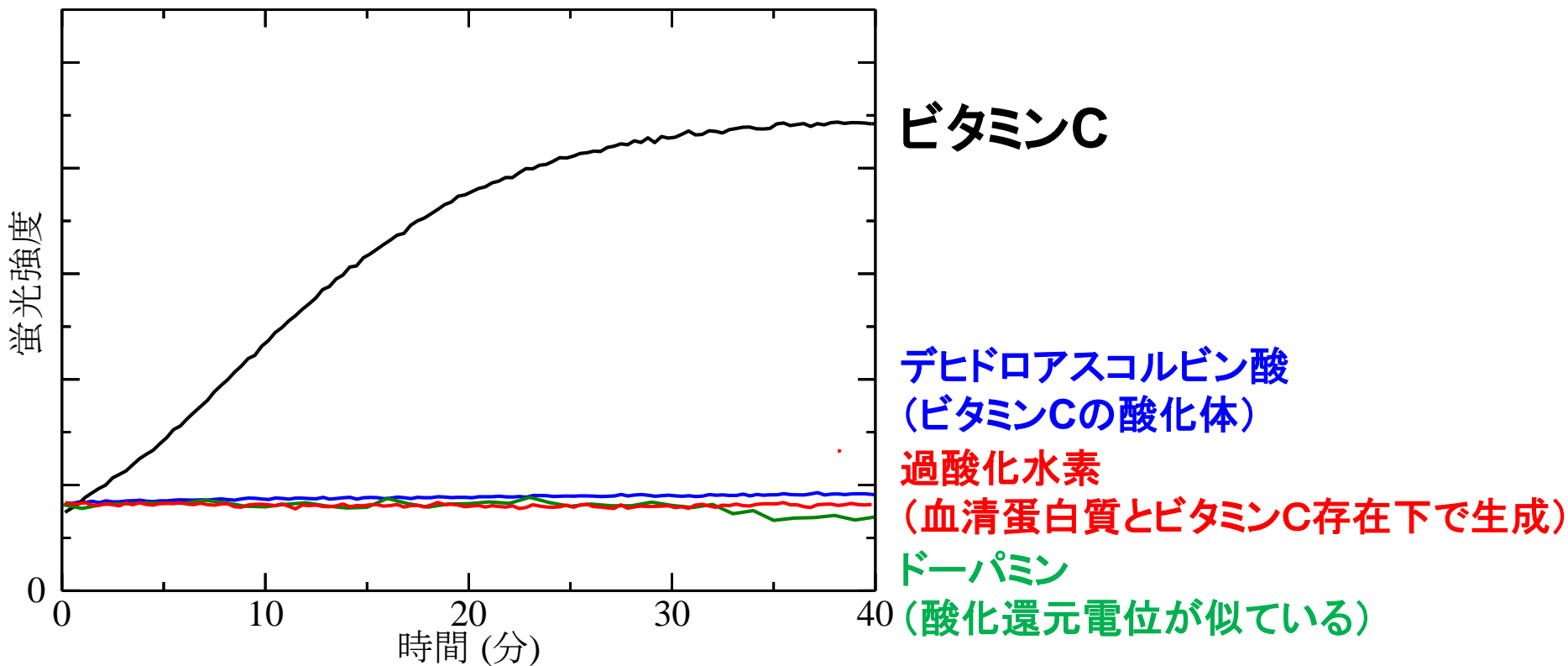
リポソーム中のR2cはビタミンCと反応するか？



リポソーム中のR2cは蛍光バイオイメージングに十分な蛍光強度変化を示す

# 結果 水溶液中

ビタミンC関連物質との反応は？

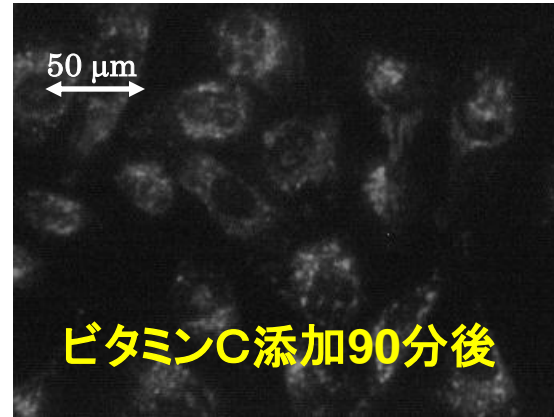
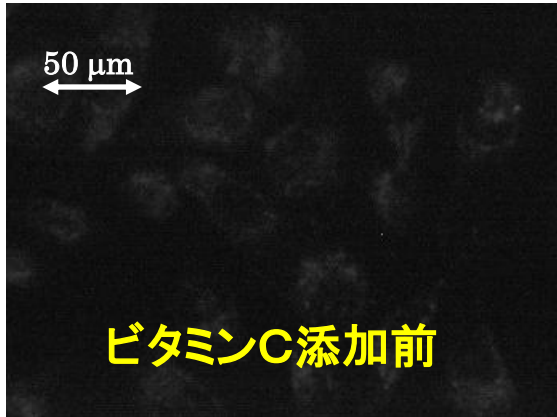


ビタミンC関連化合物が蛍光に与える影響は非常に小さい

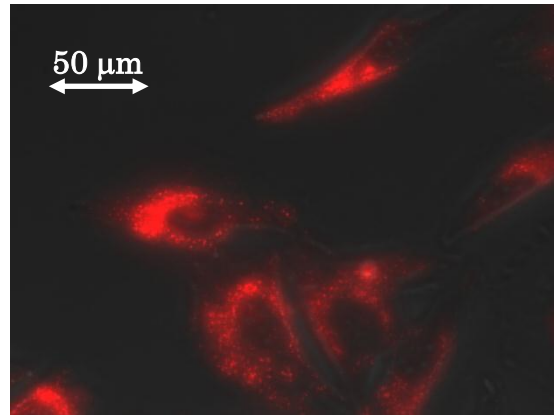
# 結果 ガン細胞中

## ビタミンC蛍光バイオイメージング

細胞取り込み時発光しない



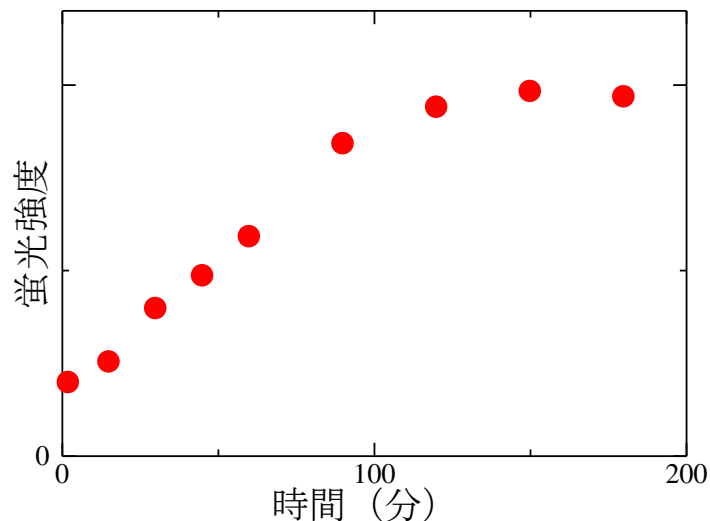
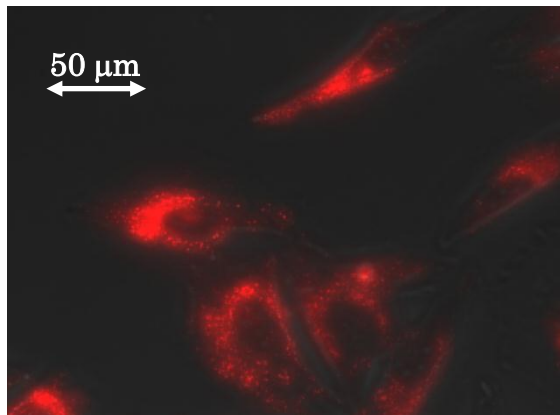
細胞内酸化還元物質と  
反応しない



ガン細胞中におけるビタミンC蛍光バイオイメージングに成功

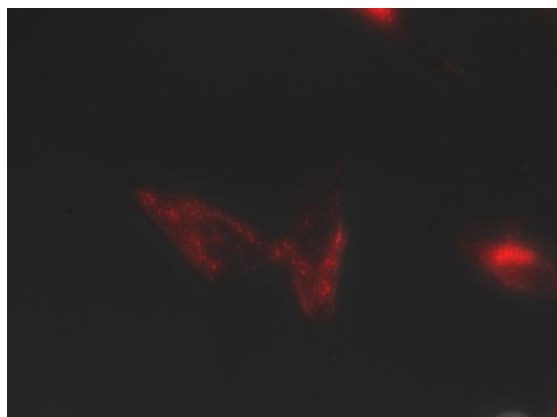
# 結果 何が明らかとなったか？

## ビタミンCその場観察



ガン細胞内へのビタミンC取り込みをリアルタイムで観測可能

## デヒドロアスコルビン酸(ビタミンC酸化体)を添加



細胞内還元反応

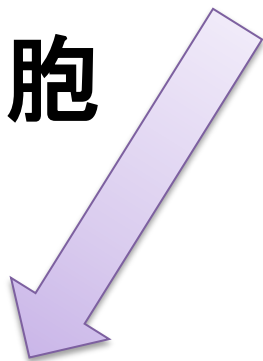


ガン細胞内でのビタミンC生成をリアルタイムで観測可能

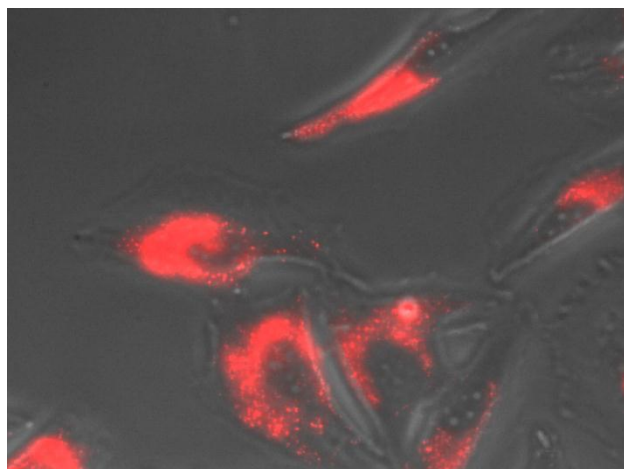
# まとめ

ビタミンC蛍光バイオイメージング用蛍光色素を開発  
→ 添加したビタミンC分布をその場観察可能

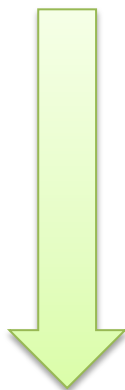
ガン細胞



細胞内挙動

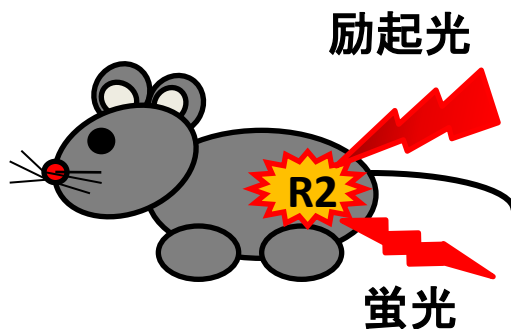


小動物



励起光・蛍光が  
生体組織透過性の  
高い赤色光

小動物の生体内分布



ヒト



赤色光が到達する部分(ヒトの肌、  
光ファイバー導入可能な器官)

