

Title	Effect of Diffusion on Förster Resonance Energy Transfer in Dye Solution
Author(s)	郵次, 敦
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/26961">https://hdl.handle.net/11094/26961</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	むら ぶく あつし 邨 次 敦
博士の専攻分野の名称	博 士 (理学)
学位記番号	第 26263 号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	Effect of Diffusion on Förster Resonance Energy Transfer in Dye Solution (フェルスター共鳴エネルギー移動における色素分子の拡散の影響について)
論文審査委員	(主査) 教 授 井上 康志 (副査) 教 授 菊地 誠 教 授 河村 悟 教 授 永井 健治

#### 論 文 内 容 の 要 旨

蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)は電子励起エネルギーが、ドナー分子からアクセプター分子へ、無輻射で移動する現象である。FRETの効率は分子間の距離と配向の変化に対して敏感であるため、いわばナノメートルスケールの「ものさし」として様々な分野で応用されている。例えば、タンパク質の構造変化をはじめとする蛍光分析やイメージングなどに応用されている。多くの生体系をはじめとする自然界の系では、分子の並進拡散や回転運動は一般的に起こる現象である。これらがFRETに影響を与えることによって、「ものさし」の精度が悪くなるということが考えられる。分子の拡散とエネルギー移動のようなダイナミックな振る舞いを正確に調べるためには、ドナー分子の発光の時間特性を調べることが有用である。FRETによるドナー分子の発光時間特性は並進拡散がない場合にはFörsterによって、ある場合にはGöseleによって理論的に求められている。過去に報告されている研究において、定性的な比較や限られた条件での振る舞いは実験的に検証されている。しかし、その多くは、実験条件の関係から精度が低く、また、解析方法が適切でないなど、未だ十分な理解は得られていない。本研究ではドナー分子の蛍光時間特性に着目し、そのアクセプター濃度依存性や溶媒依存性、温度依存性を調べ、並進拡散の効果を実験的に明らかにすることを目的とした。

系統的に実験を行なった結果、ドナー分子の蛍光時間特性はGöseleの理論と定性的によく一致することが解った。すなわち溶媒の粘性を少しずつ変え、拡散の効果を徐々に弱めていくと、蛍光の減衰時間が徐々に遅くなることを解った。次に定量的な比較を行なうために、時間特性をGöseleの理論で解析し、FRETの効率を表すフェルスター距離( $R_0$ )と拡散係数を求めた。ここで時間特性から求めた $R_0$ とは独立に、スペクトルの重なりや配向因子などの値から求めた $R_0$ と比較した。時間特性から求めた $R_0$ は、溶媒の粘性に従って、緩やかに変化することが解った。粘性が低い場合、時間特性から求めた $R_0$ とスペクトルから求めた $R_0$ は、配向因子の値が次の条件のとき良く一致した。すなわち、分子の回転拡散が速く、ランダムな配向をしていると見なせる場合である。また、粘性が高い場合、分子の回転が凍結した場合の配向因子の値を用いると、時間及びスペクトルの双方で求めた $R_0$ の結果がよく一致することが解つ

た。また、ドナー・アクセプター分子の回転拡散の効果を取り入れた理論を構築することで、粘性変化に対する $R_0$ の変化をよく説明することができた。つまり、分子の回転拡散の効果がFRETに与える影響を、 $R_0$ の変化という形で示した。このことは、蛍光の時間変化から、回転拡散の効果も含まれた状態で $R_0$ が取得できることを意味し、今後の応用が期待される。一方、ドナー分子の蛍光時間特性から得られた並進拡散係数は、ある粘性の領域ではストークス・アインシュタイン則によって予想される変化と良く一致しており、分子の並進拡散的な振る舞いが確かにFRETに影響を与えていることが定量的に示された。しかし、新たに次のようなことも明らかになった。すなわち、粘性が高い領域において、蛍光時間減衰から得られる拡散係数の値は、予想される値よりも大きくなることが解った。このずれの原因として、理論における近似の破れや、異常拡散の存在が示唆されるが、このことは、今後の取り組むべき課題である。

### 論文審査の結果の要旨

近接して位置する2種の分子間において、電子励起エネルギーが無輻射に移動する現象をFörster共鳴エネルギー移動 (FRET) と呼び、エネルギーの移動効率がドナー分子とアクセプター分子の距離に鋭敏に依存するため、タンパク質の構造変化をはじめとする生体分子のダイナミクス観察に応用されている。本論文は、液体中の分子におけるFRET効率に対する拡散の効果を、ドナー分子の蛍光時間特性により系統的に評価しようとするものである。現在まで、この効果はGöseleらによる理論的研究が報告されているが、実験による定量的評価・検証は未だ不十分な状況にある。本研究では、液体の種類や温度を変化させることにより液体の粘性を広範囲で変えながら、FRETに伴う蛍光時間特性の測定・解析を行った。

解析の結果、蛍光の時間特性から得られたFörster距離が、吸収・発光スペクトルの重なりから予想される値と一致すること、また、得られた拡散係数の値が液体の粘性に対してストークス・アインシュタイン則に従うことから、Göseleにより提案された理論が実際に成立することをはじめ定量的に評価した。さらに、新しいモデルに基づく解析により、回転拡散の効果を取り入れることが重要であることを示すとともに、エタノールにおける低温下では、拡散係数がストークス・アインシュタイン則に従わず、異常拡散が存在する可能性を指摘した。

以上の成果をまとめた本論文を審査した結果、本論文が博士(理学)の学位に値するものと判断した。