

# 鉱物に吸着した蛍光色素チオフラビン T の蛍光特性

里園浩, 錦織広昌  
信州大学工学部

Fluorescence behavior of Thioflavin T absorbed on minerals

H. Satozono, H. Nishikiori

Faculty of Engineering, Shinshu University.

キーワード: 鉱物, チオフラビン T, 蛍光, 蛍光減衰曲線

Keywords: Mineral, Thioflavin T, Fluorescence, Fluorescence decay curve

## 1. はじめに

土壌はさまざまな種類の鉱物から構成され、鉱物の性質に応じて様々な性質を示す。鉱物のキャラクタリゼーション方法として、X線回折(XRD)による結晶構造の同定、電子線マイクロプローブ(EPMA)や走査電子顕微鏡-エネルギー分散型X線分光法(SEM-EDS)による元素・化学組成分析などが挙げられる。一方、鉱物に吸着した有機分子については多くの研究がなされ、様々な相互作用が生じることが分かっている<sup>1)</sup>。我々は、この相互作用に着目し、蛍光プローブ分子を用いた鉱物のキャラクタリゼーションを試みた。

蛍光プローブ分子は、生命科学・医学研究において、高感度かつ非破壊的なイメージングツールとして活用されている。生体分子と特異的に反応・結合することで、蛍光変化を起こし、細胞や組織内の微小環境をリアルタイムに可視化・定量することができる機能性分子である。蛍光プローブの基本は、蛍光プローブ分子と対象物との相互作用による、蛍光プローブ分子の電子状態の変化であり、対象物は生体物質に留まらず、鉱物にも適用できると考えられる。

本報告では、アミロイド検出用蛍光プローブのチオフラビン T (ThT) による、鉱物のキャラクタリゼーションの可能性を検討した。

ThT は、アルツハイマー病と関連の深いアミロイドβ凝集体と結合し蛍光が発現する蛍光色素で、ア

ミロイド検出の Gold standard として広く用いられている<sup>2,3)</sup>。分子構造を図1に示す。ジメチルアミノベンゼンとベンゾチアゾールの2つの部分から成るカチオン系色素である。基底状態では平面構造をとるが、励起状態では2つ部分がねじれた Twisted Internal Charge Transfer (TICT)状態を経て失活し、無蛍光となる。ThT がアミロイドと結合すると、分子が束縛され、ねじれによる失活が抑制されることから、蛍光が発現する<sup>4)</sup>。アミロイドに限らず、蛍光発現は分子が束縛される状況において生じるため、ThT の蛍光特性は吸着状態を鋭敏に反映する。鉱物に吸着した ThT においても、蛍光特性の変化を詳細に検討することで、鉱物と ThT との結合状態、ひいては鉱物の表面状態を調べることができると考えられる。

## 2. 実験

鉱物として水溶性のモンモリロナイト(日本粘土学会)、クニピア-F(クニミネ工業)、スメクトン-SA(クニミネ工業)に吸着した ThT の蛍光特性を検討した。

試料は、各鉱物の水溶液に ThT 濃度が  $2.2 \times 10^{-5}$  mol/L になるように調製した。吸収スペクトルは自記分光光度計 UV-3000(島津製作所)、蛍光スペクトルは蛍光分光光度計 F-6000(島津製作所)で測定した。蛍光減衰曲線は昨年本誌で報告した単光子計数法による装置を用いた<sup>5)</sup>。全ての測定において 1 cm 角の蛍光セルを用いた。

## 3. 結果

各鉱物に吸着した ThT の吸収スペクトルを図2に示す。ThT 水溶液 ( $1.2 \times 10^{-4}$  mol/L) の吸収スペクトルも同時に示した。吸着した ThT の吸収スペクトルは、すべての鉱物で 460 nm 付近に肩を生じ、鉱物と

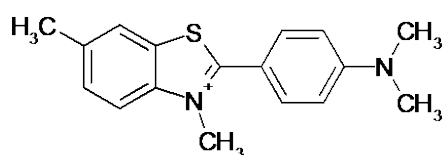


図1 チオフラビン T の分子構造

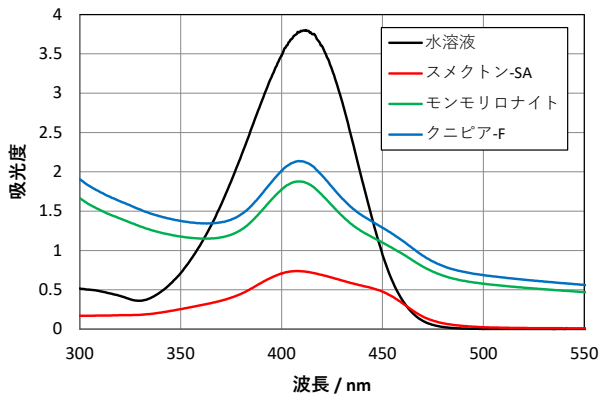


図2 各鉱物に吸着した ThT の吸収スペクトル

ThT に、単なる物理吸着以上の相互作用があることが示された。なおモンモリロナイトとクニピア-F で短波長になるにつれてスペクトルのベースラインが上昇しているのは、溶液が透明ではないことによる光散乱の影響である。

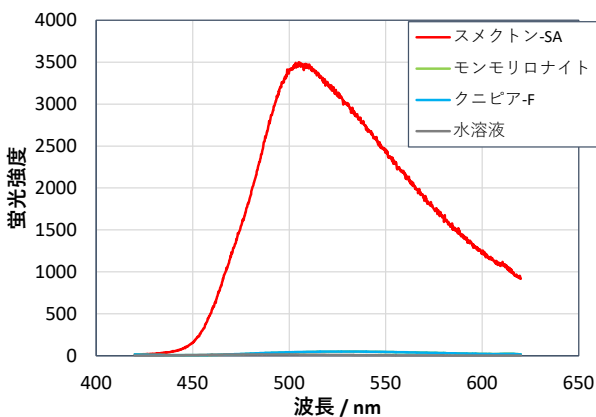


図3 各鉱物に吸着した ThT の蛍光スペクトル

水溶液中および各鉱物に吸着した ThT の蛍光スペクトルを図3に示す。

スメクトン-SA は、水溶液中と比較して 217 倍もの蛍光強度の増大を示した。一方、モンモリロナイトとクニピア-F はそれぞれ 3.05、3.15 倍の増大に留まった。この結果は、スメクトン-SA に吸着した ThT がモンモリロナイトやクニピア-F と異なる分子環境にあることを示す。

図4に各鉱物に吸着した ThT の蛍光減衰曲線を示す。蛍光スペクトルと同様に、スメクトン-SA の減衰曲線はモンモリロナイトおよびクニピア-F と著しく異なっており、長い蛍光寿命を持つ成分が観測された。この長い寿命を持つ減衰曲線は、アミロイドと結合した ThT と同じように観測され、ThT の分子構造が拘束されていることを示す。したがってスメ

クトン-SA における著しい蛍光増強は、ThT 分子の

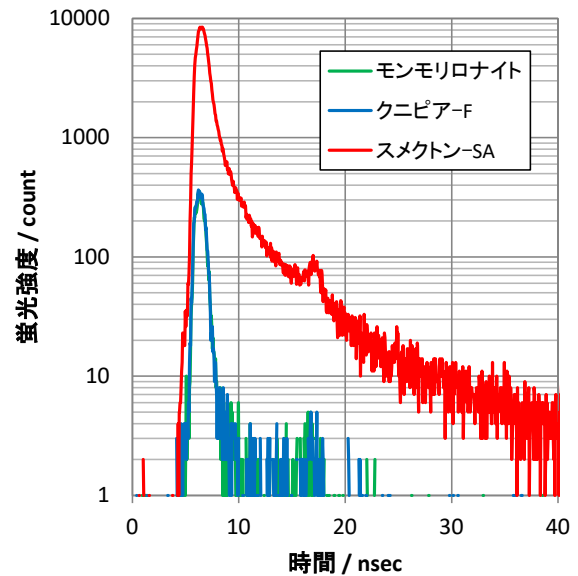


図4 各鉱物に吸着した ThT の蛍光減衰曲線

ねじれの束縛による、失活の抑制に起因すると結論付けられる。

#### 4. 考察

本報告では鉱物試料に吸着した ThT の分光特性について検討した。

吸収スペクトルは全ての試料で類似の変化を示すのに対して、スメクトン-SA のみ著しい蛍光増強と長い寿命を持つ蛍光が観測された。対照的に、モンモリロナイトとクニピア-F の蛍光増強はわずかであった。モンモリロナイトとクニピア-F が同じような結果を示したのは、クニピア-F は精製されたベントナイトで<sup>6)</sup>、その主成分はモンモリロナイトであることによると考えられる。スメクトン-SA は合成されたサポナイトであり、モンモリロナイトとは化学組成が異なる。この化学的性質の違いによる、表面酸性度といった化学的環境の違いが、スメクトン-SA における ThT 蛍光増強に起因することが予想される。しかしながら、ThT の蛍光増強が ThT 分子のねじれの抑制に由来することを考えると、スメクトン-SA 表面においても同様に ThT 分子が束縛され分子のねじれが抑制されていることを示している。したがって、モンモリロナイトとスメクトン-SA の蛍光特性の違いは、化学的な環境の違いというより、むしろ表面のミクロな構造の違いを反映していると考えられる。

鉱物表面のミクロな構造の違いは鉱物の産地や製

法によっても異なることから、これらの要因が吸着した ThT の蛍光特性に影響することが予想される。今後の課題としたい。

【参考文献】

- 1) 岡田友彦, 層状粘土鉱物への有機化合物のインターカレーション, オレオサイエンス, Vol. 14, No. 5, pp. 189-196, 2014.
- 2) H. Naiki, K Higuchi, M. Hosokawa, and T Takeda: Fluorometric Determination of Amyloid Fibrils in Vitro Using the Fluorescent Dye, Thioflavine T, Anal. Biochem., Vol. 177, pp. 244-249, 1989.
- 3) H. Levine III: Thioflavine T interaction with synthetic Alzheimer's disease  $\beta$ -amyloid peptides: Detection of amyloid aggregation in solution, Protein Sci., Vol. 2, pp. 404-410, 1993.
- 4) E. S. Voropai, M. P. Samtsov, K. N. Kaplevskii, A. A. Maskevich, V. I. Stepuro, O. I. Povarova, I. M. Kuznetsova, K. K. Turoverov, A. L. Fink, and V. N. Uverskii: Spectral Properties of Thioflavin T and its Complexes with Amyloid Fibrils, J. Appl. Spectrosc., Vol. 70, pp. 868-874, 2003.
- 5) 里園 浩, 錦織広昌: 時間分解蛍光分光計測のための廉価なナノ秒パルス光源の製作, 信州大学環境科学年報, Vol. 47, pp. 22-24, 2025.
- 6) クニミネ工業株式会社: 精製・合成技術について, [https://www.kunimine.co.jp/kunimine/kunipia\\_sumecton.html](https://www.kunimine.co.jp/kunimine/kunipia_sumecton.html).

(原稿受付 2026.3.10)