

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2010年3月18日(18.03.2010)

PCT

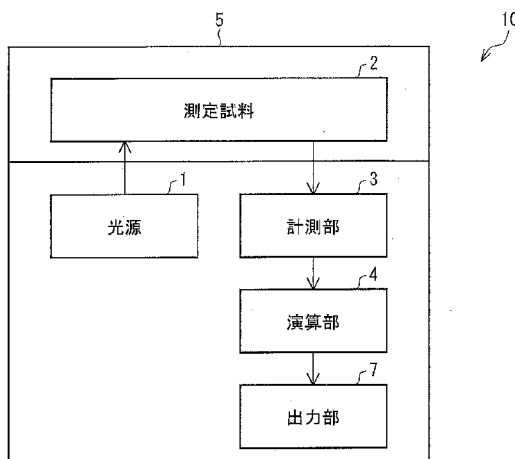
(10) 国際公開番号  
WO 2010/029735 A1

- (51) 国際特許分類:  
G01N 21/78 (2006.01) G01N 21/64 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2009/004467
- (22) 国際出願日: 2009年9月10日(10.09.2009)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2008-232489 2008年9月10日(10.09.2008) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学(NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION NARA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒6300192 奈良県生駒市高山町8 9 1 6 - 5 Nara (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 長谷川靖哉 (HASEGAWA, Yasuchika). 河合 壯 (KAWAI, Tsuyoshi). 湯浅 順平 (YUASA, Junpei). 片岡 幹雄 (KATAOKA, Mikio). 山田 晃平 (YAMADA, Kohei).
- (74) 代理人: 特許業務法人原謙三国際特許事務所 (HARAKENZO WORLD PATENT & TRADE-

- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
  - (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

- (54) Title: STRUCTURAL ANALYSIS DEVICE AND STRUCTURAL ANALYSIS METHOD THEREFOR
- (54) 発明の名称: 構造解析装置、及び構造解析方法

[図1]



- 1 Light source
- 2 Measurement sample
- 3 Measurement unit
- 4 Computing unit
- 7 Output unit

(57) Abstract: The molecular structural analysis device (10) is provided with a light source (1) that applies excitation light to a measurement sample (2) that comprises a molecule with a bound rare earth metal complex that is the subject of the structural analysis, a measurement unit (3) that receives light emitted from the measurement sample (2) and measures the intensities of the light spectra, a computing unit (4) that, of the intensities of the measured spectra, normalizes the intensities of the spectra comprising line spectra arising from electric dipole transitions with respect to the intensity of the line spectrum at one wavelength in the line spectra that arise from electric dipole transitions, and an output unit (7) that outputs the normalized spectrum. A device and method that can analyze very fine dynamic structural changes are thereby provided.

(57) 要約: 本発明の分子構造解析装置 (10) は、希土類錯体が結合した、構造解析の対象となる分子を含む測定試料 (2) に対して励起光を照射する光源 (1) と、上記測定試料 (2) から放射された光を受光し、当該光のスペクトルの強度を計測する計測部 (3) と、計測した上記スペクトルの強度のうち、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を、磁気双極子遷移

に基づく線スペクトルにおける 1 つの波長での線スペクトルの強度で規格化する演算部 (4) と、規格化した上記スペクトルを出力する出力部 (7) と、を備えている。これにより、微細な動的構造変化を解析することができる装置及び方法を実現する。

WO 2010/029735 A1

## 明 細 書

**発明の名称**：構造解析装置、及び構造解析方法

### 技術分野

[0001] 本発明は、分子の構造解析方法、並びに当該方法に用いることができる構造解析装置に関するものである。

### 背景技術

[0002] 従来から、タンパク質等の生体分子の高次構造変化を観察及び解析する手法として、蛍光プローブを観察したい生体分子へ固定化する方法が知られている。

[0003] このような蛍光プローブとして、(i) 比較的分子量が低いため、生体分子の構造変化を阻害し難いこと、(ii) 発光強度が高いため蛍光観察が容易であること、(iii) 蛍光寿命が長く(数ミリ秒)、発光性の生体分子からのノイズを長時間遅延測定により除去できること、等の理由により希土類錯体による蛍光プローブが多数報告されている(例えば、非特許文献1、2参照)。

### 先行技術文献

#### 非特許文献

[0004] 非特許文献1: Jingli Yuan, Kazuko Matsumoto, Hiroko Kimura, Anal. Chem. 1998, 70, 596-601

非特許文献2: Junhua Yu, David Parker, Robert Pal, Robert A. Poole, and Martin J. Cann, J. AM. CHEM. SOC. 2006, 128, 2294-2299

### 発明の概要

#### 発明が解決しようとする課題

[0005] しかしながら、上記方法では、生体分子の位置に関する情報を与えることができるが、生体分子における微細な構造変化を解析することが困難である。

[0006] 本発明は、上記の問題点に鑑みてなされたものであり、その目的は、分子

における微細な構造変化を解析することができる構造解析装置及び構造解析方法を実現することにある。

### 課題を解決するための手段

- [0007] 本発明者は上記課題を解決するために鋭意検討を行った。具体的には、本発明者は、蛍光プローブを固定化した生体分子について、測定条件を変化させて発光スペクトルを測定することにより、生体分子の構造変化を解析することについて検討した。
- [0008] しかしながら、このような方法では、温度等の測定条件を変化させて発光スペクトルを測定すると、計測される発光スペクトルのベースラインや発光スペクトルの強度が大きく変化してしまうため、このような変化が、生体分子の構造変化に由来するものであるのか判断できず、発光スペクトルの変化から生体分子の構造変化を解析することは困難であった。
- [0009] 本発明者は、更に検討を重ねた結果、上記スペクトルにおける電気双極子遷移に基づく線スペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく発光線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの強度で規格化することにより、希土類錯体が結合した分子の構造変化以外の影響を排除することができ、このような規格化したスペクトルにより、分子自身の微細な構造変化を解析することができることを見出し、本発明を完成するに至った。
- [0010] 即ち、本発明に係る構造解析装置は、上記課題を解決するために、希土類錯体が結合した、構造解析の対象となる分子を含む測定試料に対して励起光を照射する光源と、上記測定試料から放射された光を受光し、当該光のスペクトルの強度を計測する計測部と、計測した上記スペクトルの強度のうち、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの強度で規格化する演算部と、規格化した上記スペクトルを出力する出力部と、を備えていることを特徴としている。
- [0011] 上記構成によれば、放射された、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1

つの波長での線スペクトルの強度で規格化した発光スペクトルが得られる。

[0012] ここで、磁気双極子遷移に基づく発光線スペクトルは希土類元素固有の発光強度を有しており、電気双極子遷移に基づく発光線スペクトルは希土類元素の周りの配位子の種類によって発光強度が変化し、かつ希土類錯体の種類によって固有の発光強度を有する。

[0013] つまり、磁気双極子遷移に基づく発光線スペクトルは、希土類錯体が結合した分子の構造変化により発光強度が影響されず、電気双極子遷移に基づく発光線スペクトルは、希土類錯体が結合した分子の構造変化により発光強度が変化すると考えられる。

[0014] 従って、温度等の測定条件を変化させることによって、計測される発光スペクトルのベースラインや発光スペクトル強度が大きく変化する場合であっても、電気双極子遷移に基づく発光線スペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの強度で規格化した上記発光スペクトルでは、希土類錯体が結合した分子の構造変化以外の影響が排除される。このため、上記規格化されたスペクトルを解析することにより、希土類錯体を結合させた分子の構造変化をより詳細に解析することができる。

[0015] 更には、発光スペクトルの測定は、従来から分子の構造変化の解析に用いられているCDスペクトルの測定と比べて、短時間で行うことができる。

[0016] よって、上記構成によれば、短時間で測定することができ、且つ分子の微細な構造変化を解析することができる装置を提供することができるという効果を奏する。

[0017] 本発明に係る構造解析装置は、上記課題を解決するために、希土類錯体が結合した、構造解析の対象となる分子を含む測定試料に対して励起光を照射する光源と、上記測定試料から放射された光を複数回受光し、当該各光のスペクトルの強度を計測する計測部と、計測した上記各スペクトルの強度に対して、スペクトルの強度のうち、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つ

の波長での線スペクトルの強度で規格化する演算部と、規格化した上記各スペクトルを出力する出力部と、を備えていることを特徴としている。

[0018] 上記構成によれば、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの強度で規格化した、放射された複数の発光スペクトルが得られる。

[0019] ここで、磁気双極子遷移に基づく発光線スペクトルは、希土類錯体が結合した分子の構造変化により発光強度が影響されず、電気双極子遷移に基づく発光線スペクトルは、希土類錯体が結合した分子の構造変化により発光強度が変化すると考えられる。

[0020] 従って、温度等の測定条件を変化させることによって、計測される発光スペクトルのベースラインや発光スペクトル強度が大きく変化する場合であっても、電気双極子遷移に基づく発光線スペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの強度で規格化した上記発光スペクトルでは、希土類錯体が結合した分子の構造変化以外の影響が排除される。このため、上記規格化されたスペクトルを解析することにより、希土類錯体を結合させた分子の構造変化をより詳細に解析することができる。

[0021] 更には、発光スペクトルの測定は、従来から分子の構造変化の解析に用いられているCDスペクトルの測定と比べて、短時間で行うことができる。このため、時間の経過による構造変化をより詳細に解析することができる。

[0022] よって、上記構成によれば、短時間で測定することができ、且つ分子の微細な構造変化を解析することができる装置を提供することができるという効果を奏する。

[0023] 本発明に係る構造解析装置では、構造解析の対象となる上記分子には複数種類の希土類錯体が結合しており、上記演算部は、計測した上記スペクトルの強度のうち、各希土類錯体に対応する電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含む各スペクトルの強度を、各希土類錯体に対応する、磁気双極子遷移

に基づく線スペクトルにおける1つの波長での各線スペクトルの強度でそれぞれ規格化することが好ましい。

[0024] 上記構成によれば、上記演算部により、発光強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける特定の波長での各線スペクトルの強度で規格化した、各希土類錯体に対応する、複数の電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含む規格化されたスペクトルが得られる。

[0025] このため、同時に分子における複数箇所の微細な構造変化を解析することができるという更なる効果を奏する。

[0026] 本発明に係る構造解析装置では、上記計測部は、上記スペクトルの強度として、上記測定試料から放射された光の円偏光発光の $g$ 値を計測することが好ましい。

[0027] 上記構成によれば、分子に結合した上記希土類錯体から放射された光の円偏光発光の $g$ 値を計測することにより、分子の微細な構造変化をより詳細に解析することができるという更なる効果を奏する。

[0028] 本発明に係る構造解析装置では、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける上記1つの波長は、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける最大吸収波長であることが好ましい。

[0029] 上記構成によれば、分子の微細な構造変化をより詳細に解析することができる。

[0030] 本発明に係る構造解析装置では、構造解析の対象となる上記分子がタンパク質であることが好ましい。

[0031] 本発明に係る構造解析装置では、更に、構造解析部を備え、上記演算部は、規格化した上記スペクトルを上記構造解析部へ出力し、上記構造解析部は、規格化された上記スペクトルに基づいて構造解析を行うことが好ましい。

[0032] 本発明に係る構造解析方法は、上記課題を解決するために、希土類錯体が結合した、構造解析の対象となる分子を含む測定試料に対して励起光を照射する照射工程と、上記測定試料から放射された光を受光し、該光のスペクトルの強度を計測する計測工程と、計測した上記スペクトルの強度のうち、電

気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの強度で規格化する演算工程と、規格化した上記スペクトルにより、構造解析の対象となる上記分子の構造を解析する構造解析工程と、を含むことを特徴としている。

[0033] 上記方法によれば、演算工程により、放射された、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの強度で規格化した発光スペクトルが得られる。

[0034] ここで、磁気双極子遷移に基づく発光線スペクトルは希土類元素固有の発光強度を有しており、電気双極子遷移に基づく発光線スペクトルは希土類元素の周りの配位子の種類によって発光強度が変化し、かつ希土類錯体の種類によって固有の発光強度を有する。

[0035] つまり、磁気双極子遷移に基づく発光線スペクトルは、希土類錯体が結合した分子の構造変化により発光強度が影響されず、電気双極子遷移に基づく発光線スペクトルは、希土類錯体が結合した分子の構造変化により発光強度が変化すると考えられる。

[0036] 従って、温度等の測定条件を変化させることによって、計測される発光スペクトルのベースラインや発光スペクトル強度が大きく変化する場合であっても、電気双極子遷移に基づく発光線スペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの強度で規格化した上記発光スペクトルでは、希土類錯体が結合した分子の構造変化以外の影響が排除される。このため、上記規格化されたスペクトルを解析することにより、希土類錯体を結合させた分子の構造変化をより詳細に解析することができる。

[0037] 更には、発光スペクトルの測定は、従来から分子の構造変化の解析に用いられているCDスペクトルの測定と比べて、短時間で行うことができる。

[0038] よって、上記方法によれば、短時間で測定することができ、且つ分子の微

細な構造変化を解析することができるという効果を奏する。

- [0039] 本発明に係る構造解析方法では、構造解析の対象となる上記分子には複数種類の希土類錯体が結合しており、上記演算工程では、計測した上記スペクトルの強度のうち、各希土類錯体に対応する電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含む各スペクトルの強度を、各希土類錯体に対応する、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での各線スペクトルの強度でそれぞれ規格化することが好ましい。
- [0040] 上記方法によれば、上記演算工程により、発光強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける特定の波長での各線スペクトルの強度で規格化した、各希土類錯体に対応する、複数の電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含む規格化されたスペクトルが得られる。
- [0041] このため、同時に分子における複数箇所の微細な構造変化を解析することができるという更なる効果を奏する。
- [0042] 本発明に係る構造解析方法では、上記計測工程は、上記スペクトルの強度として、上記測定試料から放射された光の円偏光発光の $g$ 値を計測することが好ましい。
- [0043] 上記方法によれば、分子に結合した上記希土類錯体から放射された光の円偏光発光の $g$ 値を計測することにより、分子自身の微細な構造変化をより詳細に解析することができるという更なる効果を奏する。
- [0044] 本発明に係る構造解析方法では、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける上記1つの波長は、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける最大吸収波長であることが好ましい。
- [0045] 上記方法によれば、分子の微細な構造変化をより詳細に解析することができる。
- [0046] 本発明に係る構造解析方法では、構造解析の対象となる上記分子がタンパク質であることが好ましい。
- [0047] 本発明に係る構造解析方法は、上述した本発明に係る構造解析方法の何れか1つを用いて、時間の経過による構造変化を解析することを特徴としてい



る。

[0048] 上記方法によれば、上述した本発明に係る構造解析方法の何れか1つを用いているため、短い時間の間隔で連続して構造解析を行うことができ、より高精度に構造変化を解析することができる。

### 発明の効果

[0049] 本発明に係る構造解析装置は、以上のように、短時間で測定することができ、且つ分子の微細な構造変化を解析することができる装置を提供することができるという効果を奏する。

[0050] また、本発明に係る構造解析方法は、短時間で測定することができ、且つ分子の微細な構造変化を解析することができるという効果を奏する。

### 図面の簡単な説明

[0051] [図1]本実施の形態に係る構造解析装置の概略構成を示すブロック図である。

[図2]実施例1で得られた希土類錯体が結合したBSAについての20°C~80°Cの範囲で測定した発光スペクトルを、593nmでの線スペクトルの強度でそれぞれ規格化したスペクトルである。

[図3]実施例1で得られた希土類錯体が結合したBSAについての20°C~80°Cの範囲で測定したCDスペクトルである。

[図4]実施例1、2で得られた希土類錯体が結合した各種タンパク質について測定した発光スペクトルを、593nmでの線スペクトルの強度でそれぞれ規格化したスペクトルである。

### 発明を実施するための形態

[0052] 以下、本発明について詳しく説明する。

[0053] 尚、本明細書では、線スペクトル (spectrum) とは、ある準位間の遷移に特定されるスペクトルを指し、スペクトル (spectra) とは、発光光全体又は複数の線スペクトルを指す。

[0054] また、円偏光発光のg値とは、放射された光の右円偏光成分の強度を $I_R$ とし、左円偏光成分の強度を $I_L$ としたときに、下記式

$$g = (I_L - I_R) / (0.5 \times (I_L + I_R))$$

で表される値である。

[0055] (I) 構造解析方法

本実施の形態に係る構造解析方法の対象となる分子は、どのような分子であってもよいが、特に構造が複雑な分子に好適に適用でき、より具体的には、タンパク質等の生体分子に対して好適に適用できる。

[0056] また、本実施の形態の方法により解析することができる、分子における微細な構造変化とは、例えば、温度変化による分子の立体構造の変化や、分子間の会合状態の変化等が挙げられる。

[0057] 本実施の形態に係る構造解析方法は、照射工程と、計測工程と、演算工程と、構造解析工程とを含む。以下、詳細に説明する。

[0058] (a) 照射工程

照射工程とは、希土類錯体が結合した、構造解析の対象となる分子（以下、「構造解析対象分子」と記す場合がある）に対して励起光を照射する工程である。

[0059] 上記構造解析対象分子に結合する上記希土類錯体は、1種類のみ用いてもよいし、複数の種類用いてもよい。複数の希土類錯体を上記構造解析対象分子に結合させることにより、ほぼ同時に上記構造解析対象分子における複数箇所の微細な構造変化を解析することができる。また、解析精度を高める観点から、用いる複数の希土類錯体は、それぞれの発光スペクトルが重なり合わないよう選択することが好ましい。

[0060] 希土類錯体を構造解析対象分子に結合させる方法は、特には限定されず、従来公知の方法を採用することができる。上記希土類錯体を上記構造解析対象分子に結合させる具体的な方法としては、例えば、先に上記希土類錯体における対象分子結合配位子のみを、対象分子と結合させ、その後、希土類イオンを加えて、上記希土類錯体を分子に結合させる方法が挙げられる。また、上記結合形式は、共有結合には限定されず、例えば、イオン結合、水素結合であってもよい。

[0061] 上記希土類錯体は、希土類イオンに配位子が配位した錯体である。尚、上

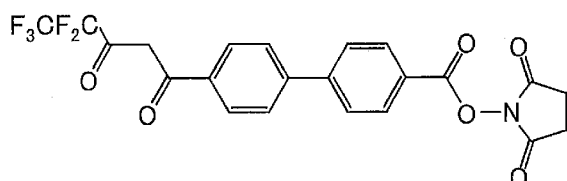
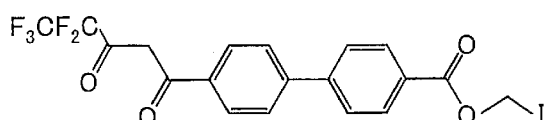
記希土類錯体に用いることができる希土類イオンに限定はなく、全ての希土類元素のイオンを使用することが可能である。

- [0062] 上記希土類錯体に用いられる配位子の少なくとも1つは、上記希土類イオンに配位することができる基（以下、「希土類イオン配位基」と記す）に加えて、構造解析対象分子と結合する基（以下、「対象分子結合基」と記す）とを有していることが必要である（以下、当該配位子を、「対象分子結合配位子」と記す）。この対象分子結合配位子により、希土類錯体を構造解析対象分子と結合させることができる。
- [0063] 希土類イオン配位基としては、例えば、ピピリジン系基、フェナントリロン系基、ジケトン系基、カーバマイト系基、アミン系基、ホスフィン系基等が挙げられる。
- [0064] 尚、上記「～系基」とは、「その化合物若しくはその誘導体の骨格を有する基」を意味し、例えば、「ピピリジン系」とは、「ピピリジン若しくはその誘導体の骨格を有する基」を意味する。
- [0065] また、対象分子結合基としては、対象分子において、希土類錯体を結合したい部分と反応若しくは会合する基であれば特には限定されない。例えば、タンパク質におけるリシン部分に希土類錯体を結合させる場合には、スクシンイミド系基を用いることができる。また、タンパク質におけるシステイン部分に希土類錯体を結合させる場合には、ヨードメチル基が挙げられる。
- [0066] 上記対象分子結合配位子において、上記希土類イオン配位基と上記対象分子結合基とは直接結合していてもよく、スペーサー分子を介して結合していてもよい。
- [0067] 上記希土類イオン配位基と上記対象分子結合基とがスペーサー基を介して結合している場合には、希土類錯体に照射する光の波長（つまり、励起波長）を長波長側にシフトさせることができるため好ましい。これにより、励起波長を、青色LEDで励起できる波長（約450nm）にすることができる。
- [0068] 上記スペーサー基としては、ビフェニレン基（ $-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}_6\text{H}_4-$ ）、タ

ーフェニレン基（ $-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}_6\text{H}_4-$ ）、ナフチレン基（ $-\text{C}_{10}\text{H}_6-$ ）、アントリレン基（ $-\text{C}_{14}\text{H}_{18}-$ ）等の芳香族分子骨格を有する、対象分子の構造変化を反映し易い剛直な構造を有する基であることが好ましい。

[0069] 上記対象分子結合配位子としては、具体的には、以下に示す構造を有する化合物が挙げられる。

[0070] [化1]



[0071] 尚、上記化合物は代表的な例であり、他の誘導体も使用可能である。更に、他の系列に属する化合物やその誘導体を用いてもよい。

[0072] また、希土類イオンに配位する上記対象分子結合配位子以外の配位子としては、特に限定されず、従来公知の配位子を用いることができる。例えば、ピピリジン系配位子、フェナントリロン系配位子、ジケトン系配位子、カーバマイト系配位子、アミン系配位子、ホスフィン系配位子等が挙げられる。

[0073] 尚、上記「～系配位子」とは、「その化合物若しくはその誘導体からなる配位子」を意味し、例えば、「ピピリジン系配位子」とは、「ピピリジン若しくはその誘導体からなる配位子」を意味する。

[0074] (b) 計測工程

上記計測工程は、上記希土類錯体から放射された光を受光し、該光のスペクトルの強度を計測する工程である。

[0075] 尚、励起波長が異なる2種以上の希土類錯体を、構造解析対象分子に結合させた場合には、各波長の励起光でそれぞれ励起を行い、各波長の励起光により発光した光のスペクトルの強度をそれぞれ計測すればよい。

- [0076] 上記計測工程では、上記スペクトルの強度として、上記測定試料から放射された光の左円偏光成分の強度と右の円偏光成分とを計測すること、つまり、円偏光発光の  $g$  値を計測することが好ましい。これにより、より詳細に構造解析を行うことができる。
- [0077] 例えば、アンフォールディングした状態のタンパク質では、タンパク質を構成する分子鎖が自由に動くことができるので円偏光発光の  $g$  値がほぼ 0 になると予測され、一方、フォールディングした状態のタンパク質では、タンパク質を構成する分子鎖の動きが制限されているため円偏光発光の  $g$  値が 0 にはならないと予測される。このため、スペクトル強度として円偏光発光の  $g$  値を測定することにより、タンパク質の構造変化に関してより詳細な解析を行うことができると考えられる。
- [0078] (c) 演算工程
- 上記演算工程は、上記計測したスペクトルの発光強度のうち、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの発光強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける 1 つの波長での線スペクトルの強度で規格化する工程である。
- [0079] 具体的には、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度の全ての値を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける任意の波長での線スペクトルの強度の値でそれぞれ割ることにより、規格化することができる。
- [0080] ここで、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける上記任意の波長は、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける最大吸収波長であることが好ましい。
- [0081] 上記規格化は、得られるスペクトル全体に対して行ってもよいし、電気双極子遷移に基づく線スペクトル全体に対してのみ行ってもよいし、電気双極子遷移に基づく線スペクトルの一部に対してのみ行ってもよい。
- [0082] 電気双極子遷移に基づく線スペクトルの強度のみならず、最大発光波長、線スペクトルの形状によっても対象分子の構造解析を行うことができるため

、上記規格化は少なくとも電気双極子遷移に基づく線スペクトルの全体に対して行うことが好ましい。

[0083] また、複数の種類の希土類錯体を分子に結合させた場合では、上記演算工程は、上記計測したスペクトルの強度のうち、各希土類錯体に対応する電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含む各スペクトルの強度を、各希土類錯体に対応する磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの各強度の値でそれぞれ割ることにより、規格化することができる。

[0084] (d) 構造解析工程

上記構造解析工程は、上記規格化した、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルにより、上記構造解析対象分子の構造を解析する工程である。

[0085] 本実施の形態で用いる希土類錯体は、その配位子が置かれる環境により、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルの強度は変化しないが、電気双極子遷移に基づく線スペクトルの強度や形状は変化する。具体的には、電気双極子遷移に基づく線スペクトルの強度や形状は、希土類金属イオンの周りの対称性の変化に影響される。つまり、希土類金属イオンの周りの対称性が低くなると、電気双極子遷移に基づく線スペクトルの強度は強くなり、その形状は、ブロードになると考えられる。

[0086] このため、演算工程により得られる規格化された、電気双極子遷移に基づく線スペクトルについて、その強度や、その最大発光波長、又はそのスペクトルの形状等を観察することにより、対象分子の構造変化を解析することができる。

[0087] 例えば、後述する実施例に記載のように、温度変化に伴うスペクトルの強度や形状の変化を観察することにより、温度変化による対象分子の微細な構造変化を確認することができる。

[0088] (II) 構造解析装置

上述した方法に使用することができる、本実施の形態に係る構造解析装置

について図 1 に基づいて説明する。図 1 は、本実施の形態に係る構造解析装置の概略構成を示すブロック図である。

[0089] 図 1 に示すように、構造解析装置 10 は、希土類錯体が結合した構造解析対象分子を含む測定試料 2 に対して励起光を照射する光源 1 と、上記測定試料 2 から放射された光を受光し、当該光のスペクトルの強度を計測する計測部 3 と、上記計測したスペクトルの強度のうち、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトル強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける 1 つの波長での線スペクトルの強度で規格化する演算部 4 と、規格化した上記スペクトルを出力する出力部 7 とを備えている。本実施の形態では、構造解析装置 10 は、測定試料 2 を格納するための測定室 5 を更に備える。

[0090] 光源 1 は、測定室 5 に設置された測定試料 2 に対して、希土類錯体の吸収波長に対応する波長の励起光を照射するものである。光源 1 としては、例えば、紫外線 LED、ブラックライト、キセノンランプ、短波長半導体レーザー等の紫外領域において発光可能な光源が用いられる。

[0091] 計測部 3 は、測定試料 2 中の希土類錯体から発光された光を受光し、この光のスペクトル強度（光の強度）を計測するものである。即ち、計測部 3 は、構造解析対象分子に結合した希土類錯体から発光された光を受光すると、スペクトル強度を計測し、このスペクトル強度のデータを演算部 4 に送信する。

[0092] 計測部 3 は、受光した光のうち、少なくとも電気双極子遷移に基づく線スペクトル強度と磁気双極子遷移に基づく線スペクトル強度とを計測できればよいが、全ての波長のスペクトル強度を計測してもよく、また、予め定められた波長の光強度のみを計測してもよい。

[0093] 上記計測部 3 としては、光強度を計測することができるものであればよく、例えば、フォトダイオード、光電子増倍管、CCD、スペクトルアナライザ等を用いることができる。また、上記計測部 3 は、光の左円偏光成分の強度と右の円偏光成分とを計測でき、円偏光発光の  $g$  値を計測できる装置であ

ることがより好ましい。このような装置としては、例えば、日本分光（株）製のJASCO CPL-200 spectrometer等の円偏光蛍光分光計が挙げられる。

- [0094] 演算部4は、計測部3から受信したスペクトル強度データのうち、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける任意の波長での強度の値で規格化するものである。
- [0095] 出力部7は、演算部4により求められた、規格化した上記スペクトルを出力するものである。出力の方法としては、特には限定されず、例えば、ディスプレイに表示する方法、紙に印刷する方法、電子データを記録媒体等に出力する方法等が挙げられる。
- [0096] 以上のように、本実施の形態に係る構造解析装置10を用いることにより、本実施の形態に係る方法における照射工程、計測工程、及び演算工程を行うことができる。そして、出力部7により出力される規格化したスペクトルを用いて、本実施の形態に係る方法における上述した構造解析工程を行うことができる。
- [0097] 更には、電気双極子遷移に基づく上記スペクトルに関して、その強度や、その最大発光波長、又はそのスペクトルの形状等の変化により、具体的にどのような構造変化が起こっているかについてのデータベースを作成することにより、演算部4により得られる規格化されたスペクトルに基づいて、当該データベースにアクセスする構造解析部を設けることも可能となる。この場合には、規格化した上記スペクトルのデータを上記構造解析部に出力することになる。
- [0098] 尚、上述の説明では、計測部3が、測定試料1中の希土類錯体から放射された光を全て受光する場合について説明したが、これに限るものではない。例えば、測定試料1と計測部3との間に、特定の波長のみを透過させる波長選択部を別途設け、計測部3を、解析に必要な波長の光のみを受光し計測する構成としてもよい。
- [0099] 上記波長選択部としては、特には限定されず従来公知の構成を採用するこ



とができ、例えば、放射された光を透過、反射、回折又は屈折させて分光させる構成が挙げられる。

- [0100] また、計測部 3 は、測定試料 1 中の希土類錯体から発光される光のスペクトルの強度を全て計測することを前提として説明したが、これに限るものではない。一部の光のスペクトルの強度のみを計測する構成であってもよい。これにより、測定時間を短縮することが可能となり、例えば、時間の経過による構造変化を解析する場合等では、測定することができる時間の間隔を短縮することができ、より高精度に構造変化を解析することができる。

### 実施例

- [0101] 以下、実施例に基づいて本発明をより詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

- [0102] [発光スペクトル]

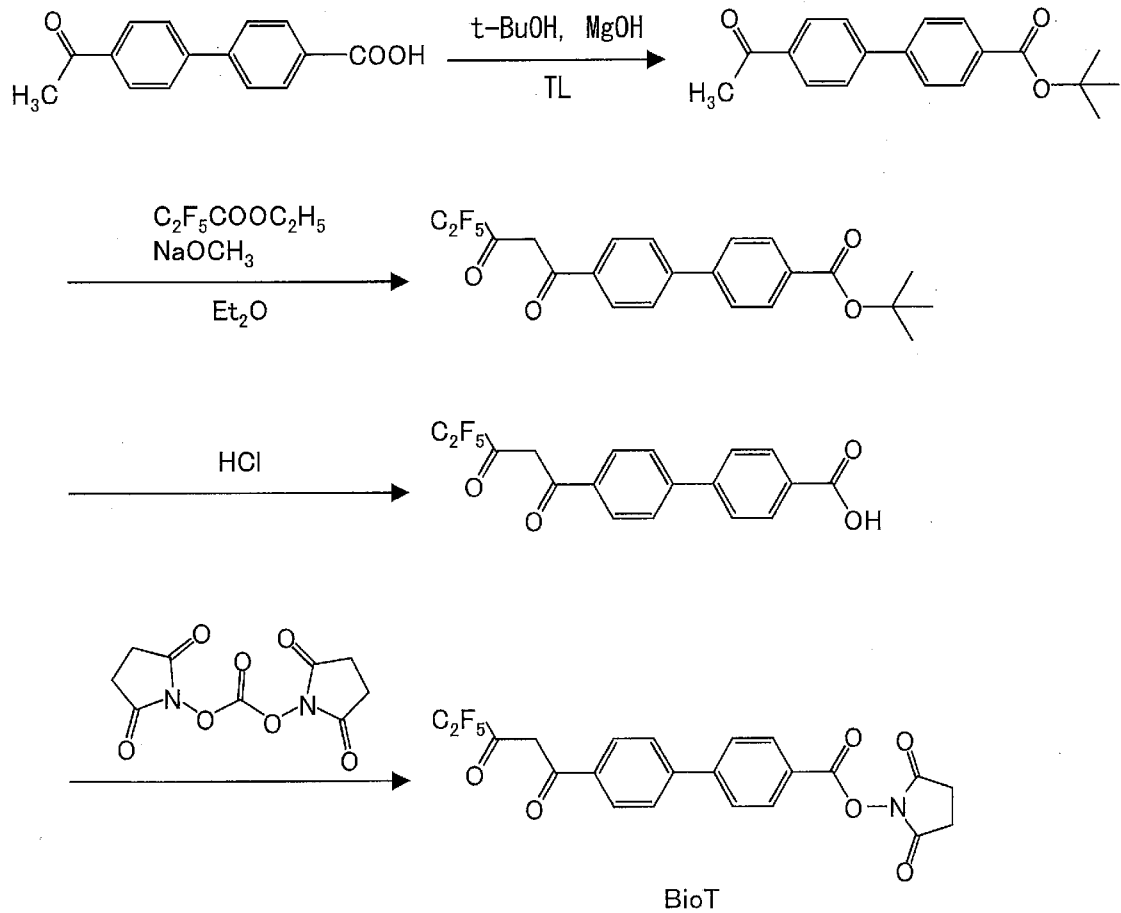
本実施例において、発光スペクトルは、希土類錯体を結合したタンパク質分子を蒸留水に溶解させた測定試料を、蛍光分析装置（HITACHI F-4500）を用い、励起波長を 365 nm として測定した。

- [0103] [BioT]

対象分子結合配位子である BioT は、神戸天然物化学株式会社に依頼して合成されたものを使用した。尚、BioT は、下記合成経路

- [0104]

[化2]



[0105] により合成された。

[0106] 〔実施例 1〕

BSA 5mg と BioT 5mg とを蒸留水 5mL 中で約 16 時間 4℃ で攪拌して、BSA に BioT を結合させた。当該溶液を濾過後、フリーズドライにより乾燥させた。MALDI-TOFMS 測定により、得られた BioT が結合した BSA では、BSA に 4 つの BioT が結合していることが確認された。

[0107] その後、水中で、塩化ユーロピウム水和物と室温で 24 時間反応させることにより、Eu(III) を配位させ、希土類錯体が結合した BSA (BSA + BioT + Eu(III)) を得た。尚、BSA に希土類錯体が結合していることは電気泳動により確認した。

[0108] 得られた、希土類錯体が結合した BSA (BSA + BioT + Eu(III))

）について、 $20^{\circ}\text{C}\sim 80^{\circ}\text{C}$ の範囲で発光スペクトルを測定した。そして、得られた発光スペクトルを、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルの強度の1つである、 $593\text{ nm}$ での線スペクトルの強度で規格化した。規格化したスペクトルを図2に示す。尚、参照用として、希土類錯体が結合したBSA（BSA+BioT+Eu(III)）について、 $20^{\circ}\text{C}\sim 80^{\circ}\text{C}$ でCDスペクトルを測定した結果を図3に示す。

[0109] 尚、図2、3における「 $80^{\circ}\text{C}\rightarrow 20^{\circ}\text{C}$ 」は、希土類錯体が結合したBSAを一度 $80^{\circ}\text{C}$ に加熱した後、 $20^{\circ}\text{C}$ に冷却したものの測定結果を示す。

[0110] 図2、3により示されるように、 $20^{\circ}\text{C}\sim 40^{\circ}\text{C}$ の範囲での温度変化において、図3に示すCDスペクトルに顕著な変化が現れていないのに対して、図2に示す、規格化されたスペクトルでは、電気双極子遷移に基づく線スペクトルの強度が顕著に変化し、また最大吸収波長も変化していた。

[0111] このことから、本発明に係る方法により、CDスペクトルでは観察することが困難である分子の微細構造の変化を観察できることが確認できた。

[0112] [実施例2]

グロブリン $5\text{ mg}$ とBioT $5\text{ mg}$ とを蒸留水 $5\text{ mL}$ 中で約16時間 $4^{\circ}\text{C}$ で攪拌して、BSAにBioTを結合させた。得られた溶液を濾過後、フリーズドライにより乾燥させた。その後、水中で、塩化ユーロピウム水和物と室温で24時間反応させることにより、Eu(III)を配位させ、希土類錯体が結合したグロブリン（グロブリン+BioT+Eu(III)）を得た。

[0113] 得られた、希土類錯体が結合したグロブリンについて、室温で発光スペクトルを測定した。そして、得られた発光スペクトルを、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルの強度の1つである、 $593\text{ nm}$ での線スペクトルの強度で規格化した。

[0114] また、グロブリンの代わりに、フィブリン、トリプシン、インシュリンをそれぞれ用いたこと以外は上記と同様の操作を行い、各タンパク質について規格化した発光スペクトルをそれぞれ得た。その結果を図4に示す。

[0115] 図4に示されるように、タンパク質の種類によって、規格された、電気双

極子遷移に基づく線スペクトルの強度及びその最大吸収波長が大きく異なっていた。このことから、本発明により、異なった構造を有するタンパク質を判別及び解析できることが確認できた。

[0116] 本発明は上述した各実施形態に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせて得られる実施形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。

### 産業上の利用可能性

[0117] 本発明の構造解析方法及び装置は、分子自身の微細な動的構造変化を解析することができる。このため、タンパク質等の生体分子の構造解析に好適に用いることができる。

### 符号の説明

[0118]

1	光源
2	測定試料
3	計測部
4	演算部
7	出力部
10	構造解析装置

## 請求の範囲

- [請求項1] 希土類錯体が結合した、構造解析の対象となる分子を含む測定試料に対して励起光を照射する光源と、
- 上記測定試料から放射された光を受光し、当該光のスペクトルの強度を計測する計測部と、
- 計測した上記スペクトルの強度のうち、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの強度で規格化する演算部と、
- 規格化した上記スペクトルを出力する出力部と、
- を備えていることを特徴とする構造解析装置。
- [請求項2] 希土類錯体が結合した、構造解析の対象となる分子を含む測定試料に対して励起光を照射する光源と、
- 上記測定試料から放射された光を複数回受光し、当該各光のスペクトルの強度を計測する計測部と、
- 計測した上記各スペクトルの強度に対して、スペクトルの強度のうち、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での線スペクトルの強度で規格化する演算部と、
- 規格化した上記各スペクトルを出力する出力部と、
- を備えていることを特徴とする構造解析装置。
- [請求項3] 構造解析の対象となる上記分子には複数種類の希土類錯体が結合しており、
- 上記演算部は、計測した上記スペクトルの強度のうち、各希土類錯体に対応する電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含む各スペクトルの強度を、各希土類錯体に対応する、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での各線スペクトルの強度でそれぞれ規格化することを特徴とする請求項1又は2に記載の構造解析装置。

- [請求項4] 上記計測部は、上記スペクトルの強度として、上記測定試料から放射された光の円偏光発光の  $g$  値を計測することを特徴とする請求項 1～3 の何れか 1 項に記載の構造解析装置。
- [請求項5] 磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける上記 1 つの波長は、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける最大吸収波長であることを特徴とする請求項 1～4 の何れか 1 項に記載の構造解析装置。
- [請求項6] 構造解析の対象となる上記分子がタンパク質であることを特徴とする請求項 1～5 の何れか 1 項に記載の構造解析装置。
- [請求項7] 更に、構造解析部を備え、  
上記演算部は、規格化した上記スペクトルを上記構造解析部へ出力し、  
上記構造解析部は、規格化された上記スペクトルに基づいて構造解析を行うことを特徴とする請求項 1～6 の何れか 1 項に記載の構造解析装置。
- [請求項8] 希土類錯体が結合した、構造解析の対象となる分子を含む測定試料に対して励起光を照射する照射工程と、  
上記測定試料から放射された光を受光し、該光のスペクトルの強度を計測する計測工程と、  
計測した上記スペクトルの強度のうち、電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含むスペクトルの強度を、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける 1 つの波長での線スペクトルの強度で規格化する演算工程と、  
規格化した上記スペクトルにより、構造解析の対象となる上記分子の構造を解析する構造解析工程と、  
を含むことを特徴とする構造解析方法。
- [請求項9] 構造解析の対象となる上記分子には複数種類の希土類錯体が結合しており、  
上記演算工程では、計測した上記スペクトルの強度のうち、各希土

類錯体に対応する電気双極子遷移に基づく線スペクトルを含む各スペクトルの強度を、各希土類錯体に対応する、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける1つの波長での各線スペクトルの強度でそれぞれ規格化することを特徴とする請求項8に記載の構造解析方法。

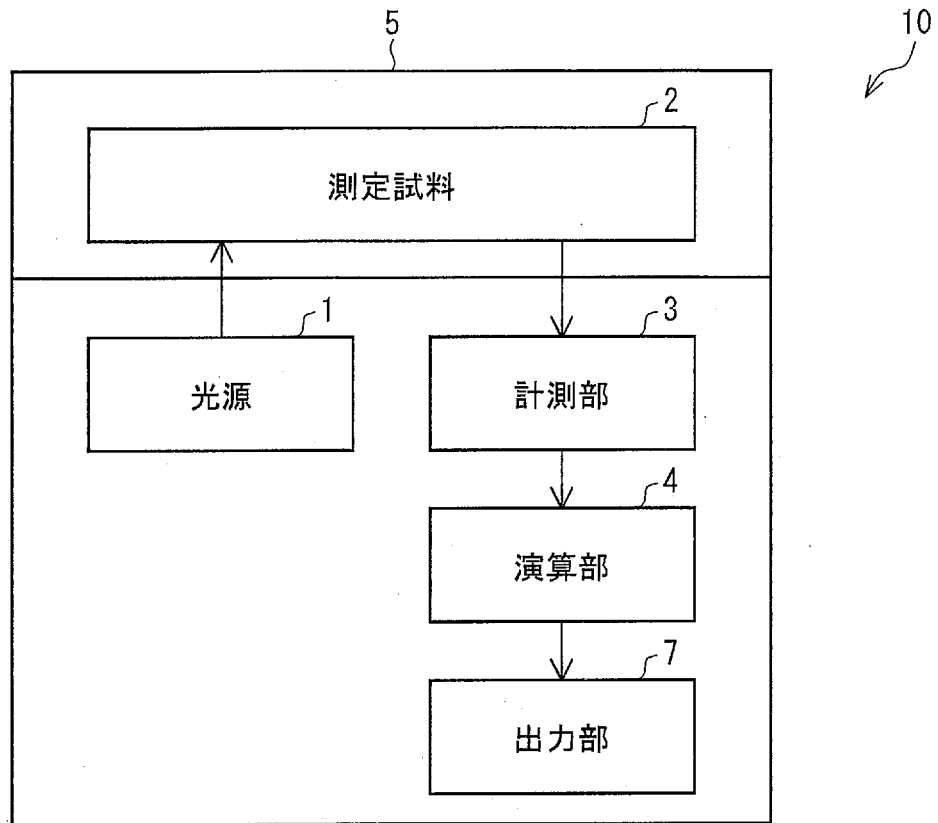
[請求項10] 上記計測工程では、上記スペクトルの強度として、上記測定試料から放射された光の円偏光発光の $g$ 値を計測することを特徴とする請求項8又は9に記載の構造解析方法。

[請求項11] 磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける上記1つの波長は、磁気双極子遷移に基づく線スペクトルにおける最大吸収波長であることを特徴とする請求項8～10の何れか1項に記載の構造解析方法。

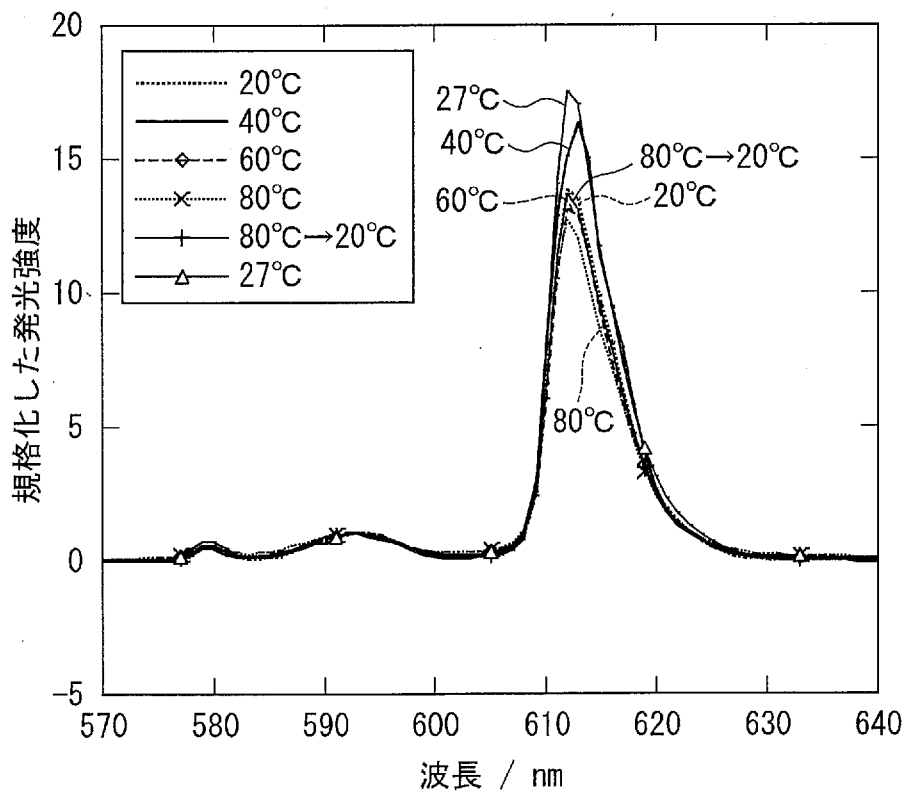
[請求項12] 構造解析の対象となる上記分子がタンパク質であることを特徴とする請求項8～11の何れか1項に記載の構造解析方法。

[請求項13] 請求項8～12の何れか1項に記載の構造解析方法を用いて、時間の経過による構造変化を解析することを特徴とする構造解析方法。

[図1]

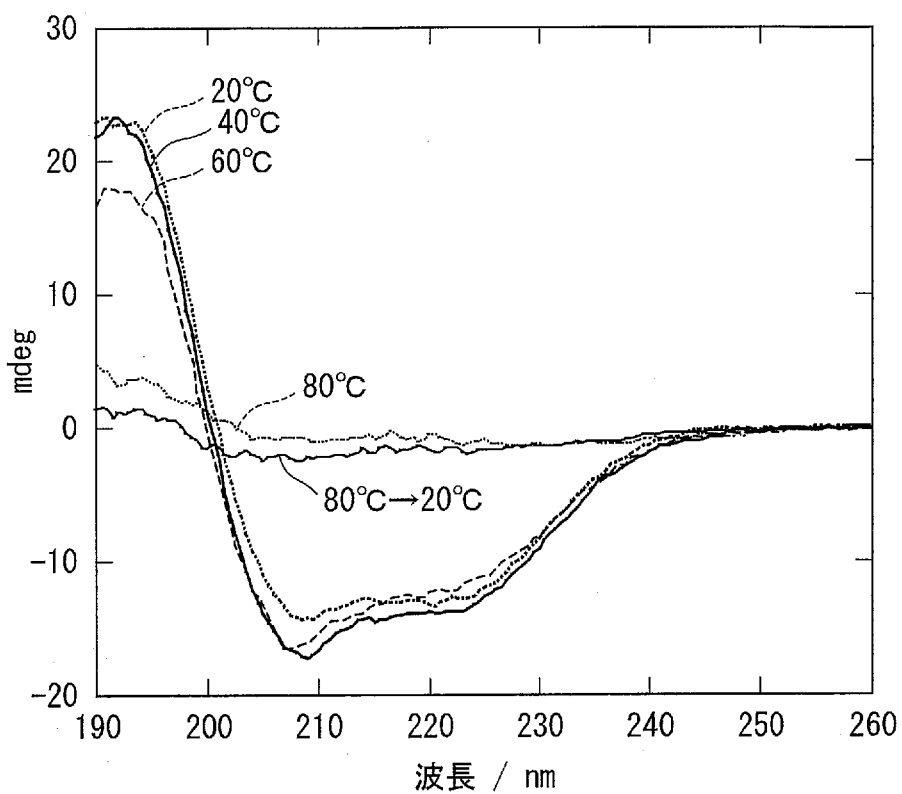


[図2]

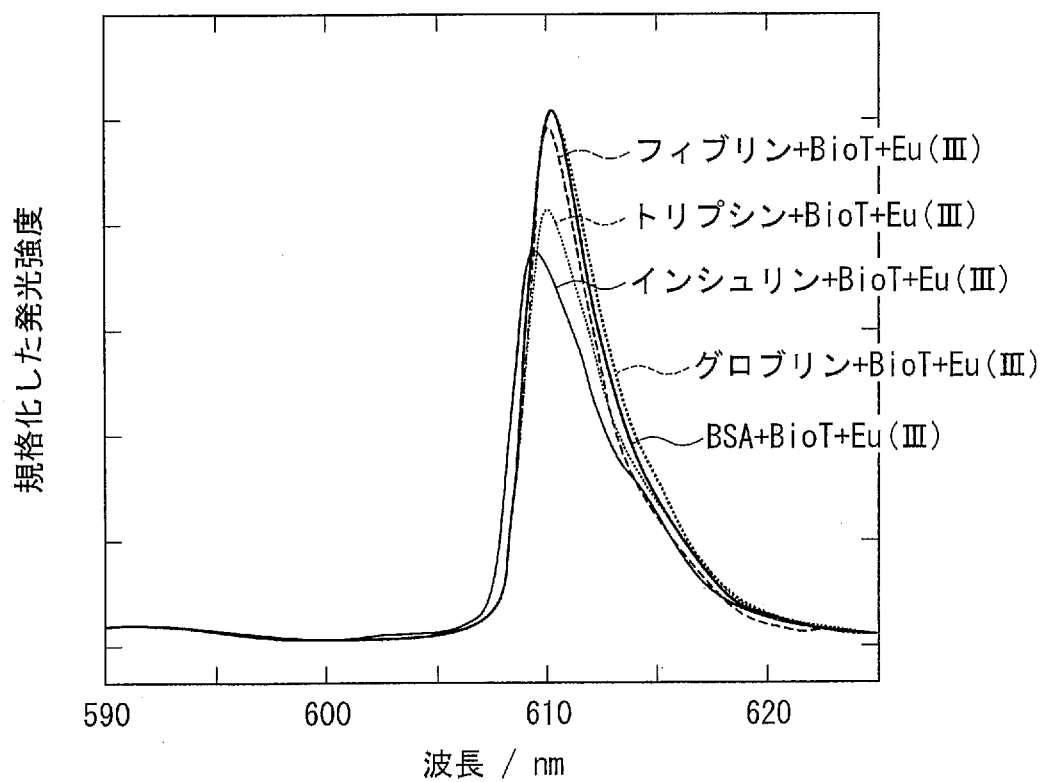




[図3]



[図4]



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No. PCT/JP2009/004467
--

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
G01N21/78(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
G01N21/62-21/83

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2009
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2009	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2009

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2002-506973 A (Sensors for Medicine and Science, Inc.), 05 March 2002 (05.03.2002), entire text; all drawings	1-13
A	JP 2003-254909 A (Japan Science and Technology Corp.), 10 September 2003 (10.09.2003), entire text; all drawings	1-13
A	KAWAI et al., "Shinki Sm(III) Sakutai no Shinsekishoku Hakko Tokusei", ITE Technical Report, 24 January 2008 (24.01.2008), vol.32, no.4, 77-80	1-13

Further documents are listed in the continuation of Box C.       See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 06 October, 2009 (06.10.09)	Date of mailing of the international search report 20 October, 2009 (20.10.09)
--	---

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/004467

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Stephane Petoud et al., "Brilliant Sm, Eu, Tb, and Dy Chiral Lanthanide Complexes with Strong Circularly Polarized Luminescence", J. AM. CHEM. SOC., 2007, VOL. 129, NO. 1, pp. 77-83	1-13
A	NAKAJIMA et al., "Kokido Hakko suru Suiyosei Kinzoku Sakutai eno Chosen", Chemistry, 2007, vol.62, no.7, 66-67	1-13
P,A	WO 2008/111293 A1 (Nara Institute of Science and Technology), 18 September 2008 (18.09.2008)	1-13

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2009/004467

JP 2002-506973 A	2002.03.05	AU 757901 B2	2003.03.13
		AU 3078599 A	1999.09.27
		CA 2322858 A1	1999.09.16
		CA 2322858 C	2009.06.02
		CN 1300368 A	2001.06.20
		CN 1159583 C	2004.07.28
		EP 1062516 A1	2000.12.27
		TW 227323 B	2005.02.01
		US 6344360 B1	2002.02.05
		WO 99/46600 A1	1999.09.16
		WO 99/46600 A9	1999.11.18
JP 2003-254909 A	2003.09.10	(Family: none)	
WO 2008/111293 A1	2008.09.18	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N21/78(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N21/62-21/83

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2009年
日本国実用新案登録公報	1996-2009年
日本国登録実用新案公報	1994-2009年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2002-506973 A (センサーズ・フォー・メディシン・アンド・サイエンス・インコーポレイテッド) 2002.03.05、全文、全図	1-13
A	JP 2003-254909 A (科学技術振興事業団) 2003.09.10、全文、全図	1-13
A	川井 他5名, 新規 Sm(III)錯体の深赤色発光特性, 映像情報メディア学会技術報告, 2008.01.24, Vol. 32, No. 4, 77-80	1-13

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

06.10.2009

国際調査報告の発送日

20.10.2009

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
 郵便番号100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

高場 正光

電話番号 03-3581-1101 内線 3292

2W

3807

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	Stephane Petoud et al., "Brilliant Sm, Eu, Tb, and Dy Chiral Lanthanide Complexes with Strong Circularly Polarized Luminescence", J. AM. CHEM. SOC., 2007, VOL. 129, NO. 1, pp. 77-83	1-13
A	中島 他1名, 高輝度発光する水溶性金属錯体への挑戦, 化学, 2007, Vol. 62, No. 7, 66-67	1-13
P, A	WO 2008/111293 A1 (国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学) 2008.09.18	1-13

JP 2002-506973 A	2002. 03. 05	AU 757901 B2	2003. 03. 13
		AU 3078599 A	1999. 09. 27
		CA 2322858 A1	1999. 09. 16
		CA 2322858 C	2009. 06. 02
		CN 1300368 A	2001. 06. 20
		CN 1159583 C	2004. 07. 28
		EP 1062516 A1	2000. 12. 27
		TW 227323 B	2005. 02. 01
		US 6344360 B1	2002. 02. 05
		WO 99/46600 A1	1999. 09. 16
		WO 99/46600 A9	1999. 11. 18
-----	-----	-----	-----
JP 2003-254909 A	2003. 09. 10	(ファミリーなし)	
-----	-----	-----	-----
WO 2008/111293 A1	2008. 09. 18	(ファミリーなし)	
-----	-----	-----	-----