

新しい化学分析モチーフとその環境系・生体系物質計測への展開

Development of Chemical Motifs for Environmental and Biochemical Analysis

教授 星野 仁
Professor
Hitoshi Hoshino



The aim and goal of this division are to develop analytical and measurement methods, which serve as an essential technology to ensure public security via environmental assessment and integrity. The analytical technique of future will fulfill requirements such as (1) assessment of environment and safety, (2) support for health and medical treatment, and (3) accessibility of residents and citizens, and therefore will be designed on the basis of conditions such as (a) Real-life, (b) Real-time, and (c) Real-opportunity. Obviously sophistication of precise-made analytical instrument is not the only solution to satisfy these requirements. We believe that breakthrough in analytical technology will be brought by development and application of chemical motifs capable of recognizing materials and by establishing methodology for separation/preconcentration and detection/determination methods for materials of environmental importance. Among such chemical motifs that we studied this year, three examples will be described:

1. Proton relaxivity of kinetically inert multi-nuclear complex, Gd_3TCAS_2 , formed by self-assembly of gadolinium (III) and thiacalix[4]arene-p-tetrasulfonate (TCAS) in aqueous solutions.
2. Thermodynamic and kinetic stability of Ln_3TCAS_2 -protein conjugates.
3. A molecular probe for recognizing the size of hydrophobic cavities based on near-infrared absorbing diradical-Pt(II) complexes.

研究成果

1. 自己組織化ランタニド錯体の磁気共鳴イメージング (MRI)への展開

チアカリックスアレーン (TCAS) は水溶液中でランタニド (Ln^{III}) と自己組織的に多核錯体 Ln_3TCAS_2 を与える。これは速度論的に安定で生体内で解離せず、2.5個の配位水分子を有することから緩和能 r_1 が大きいと期待できる。そこで Gd_3TCAS_2 の r_1 や配位水交換速度 k_{ex} を測定した。 r_1 は既存の MRI コントラスト剤のものを上回った (Figure 1)。一方ヒト血清アルブミン (HSA) 4.5% 存在下、 Gd_3TCAS_2 は定量的に HSA と結合するが r_1 はほぼ変わらず、MS-325 でみられる増大効果は生じなかった。HSA 結合時、回転相関時間ではなく k_{ex} が r_1 を支配する。実際 k_{ex} は $2.7 \times 10^4 s^{-1}$ ($25^\circ C$) となり、MS-325 の場合 ($5.9 \times 10^6 s^{-1}$, $25^\circ C$) を下回った。 k_{ex} がこれほど小さいの

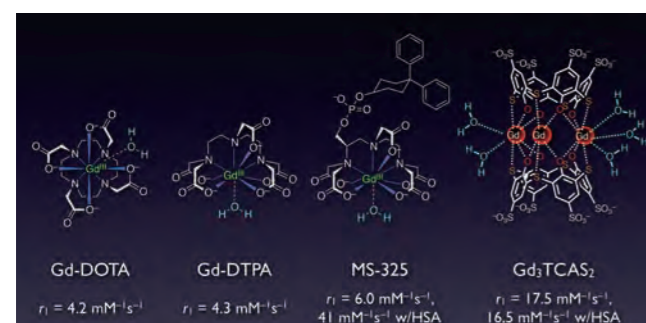


Figure 1 Gd^{III} complexes and the relaxivities, r_1 .

は、 Gd_3TCAS_2 の構造が剛直であり、遷移状態で Gd の配位構造変化が困難となるためと考えた。今後 k_{ex} の小ささを活用し、 Ln_3TCAS_2 の PARACEST 試薬としての展開を図る。(第41回日本磁気共鳴医学会大会、他)

2. 自己組織化ランタニド錯体とタンパク質との相互作用解析

Ln_3TCAS_2 をイムノアッセイやイメージングプローブとして用いる際、機能性タンパク質へ結合させる。このとき Ln_3TCAS_2 がタンパク質のどの部位に対してどれほど大きな熱力学・速度論的安定性で結合するか、という情報が重要となる。そこでモデルとして Tb_3TCAS_2 -HSA 系を対象に

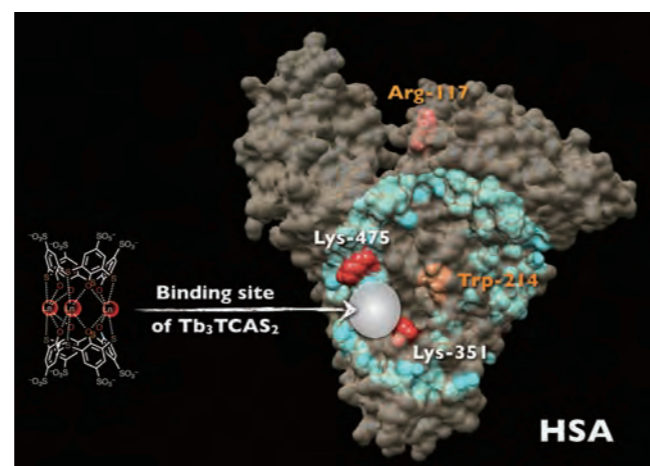


Figure 2 Binding site of Tb_3TCAS_2 to HSA determined by fluorescence quenching of Trp-214 and positions of positively charged side chains.



准教授
壹岐 伸彦
Associate Professor
Nobuhiko Iki

助教
升谷 敦子
Assistant Professor
Atsuko Masuya



相互作用を解析した。まず平衡混合物中の遊離 Tb_3TCAS_2 と HSA- Tb_3TCAS_2 複合体をキャピラリー電気泳動 (CE) で分離定量し、結合定数 K_b を $1.7 \times 10^6 M^{-1}$ 、解離反応速度定数 k_d を $8.5 \times 10^{-4} s^{-1}$ と算出した。得られた K_b を Gd_3TCAS_2 -HSA 系にあてはめると血中で Gd_3TCAS_2 は HSA に定量的に結合していることがわかる。一方 k_d は半減期 20min に相当し、通常のイムノアッセイの B/F 分離時間に比し十分に安定と言える。 Tb_3TCAS_2 による HSA の蛍光消光解析から、 Tb_3TCAS_2 の結合サイトを発蛍光部位から Trp-214 から 2nm 付近に位置する Lys-475 または Lys-351 と特定した (Figure 2)。(日本分析化学会第62年会、他)

3. 微小疎水空孔サイズを認識するプローブの開発

ジラジカル-Pt(II) 錯体(1)を近赤外 (NIR) 吸収プローブ、センシング、イメージングへ展開している。今回1の酸化二量体2の生成を抑制する目的で環状化合物シクロデキストリン (CD) への包接挙動を調べたところ、そのサイズによって対照的な挙動を示すことを発見した (Figure 3)。即ち β -CD (空孔径 ca. 6.2\AA) とは 1:2 (=1:CD) の包接体を形成し NIR 吸収を示す。 γ -CD (ca. 8.0\AA) の場合、むしろ酸化二量化が促進され、1:1 (=2:CD) 包接体を生成し、NIR 吸収を消失させる。このことは錯体1の NIR 吸収をプローブに疎水空孔のサイズを認識できることを示している。実際本系を用いて HSA と α -キモトリプシンの疎水空孔サイズの識別に成功した。(Chem. Commun.)

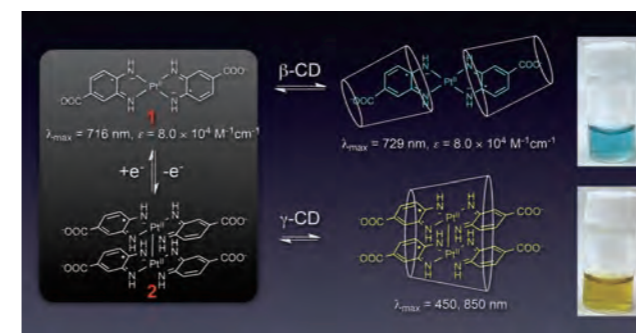


Figure 3 The diradical-platinum (II) complex distinguishes the cavity sizes of β - and γ -cyclodextrins by switching the near-infrared absorption, providing a probe to identify the size of hydrophobic cavities of proteins.

☆受賞

- ・日本分析化学会東北支部、東北分析化学奨励賞「ビス(オジイミノベンゾセキノナト)白金(II)の溶液環境・イオン認識機能の創発」升谷敦子
- ・第3回CSJ化学フェスタ、優秀ポスター発表賞「白金(II)ジラジカル錯体の酸化還元応答に基づくマイクロ環境精密認識能を利用した近赤外吸収プローブ」田村昂作 (D2)
- ・International Symposium for the 70th Anniversary of the Tohoku Branch of the Chemical Society of Japan, Poster Award, "Bioconjugation of Tb(III)-Thiacalixarene Complex with Proteins Analyzed with Capillary Electrophoresis," 馬場 諒 (M2)
- ・第33回キャピラリー電気泳動シンポジウム、優秀ポスター賞「金属置換炭酸脱水酵素-スルホンアミド阻害剤複合体のアフィニティー CE 分離を用いる熱力学的安定性の解析」佐藤陽介 (M1)