

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 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 which we studied this year, three examples will be described:

1. Kinetics of spontaneous dissociation of biomolecular complexes studied with the microchip capillary electrophoretic reactor (μ CER)
2. pH-Responsive switching of the near-infrared absorption of the water-soluble bis(o-diiminobenzosemiquinonato) platinum(II) complex
3. Highly selective and sensitive method to determine ppb levels of exchangeable Cd and Pb in soil using rapid leaching with thiacalixarene and detection with kinetic differentiation mode HPLC

2010年の研究成果

1. マイクロチップキャピラリー電気泳動反応器による生体分子複合体の解離反応速度解析

細胞内での物質間相互作用すなわち生命活動は、時間的にも空間的にも一時的な相互作用であり、その生物学的な意味を理解する上で速度論的な考察を欠くことはできないが、現実にはそれを行うための有用な手段が欠落している。特に、均一溶液系において生体分子複合体の解離反応プロセスを直接観察し、速度パラメーターを正確に測定し得る方法は現存しない。一方、当研究グループでは、キャピラリー電気泳動分離プロセスを金属錯体の解離反応容器として利用するという着想に基づき、金属錯体の自己解離反応速度定数の直接計測法としてマイクロチップキャピラリー電気泳動反応器(μ CER)を開発している。本年度は、その概念を生体分子系へ応用し生体分子複合体の解離反応速度論解析の新技术とするため、一本鎖DNA結合タンパクと一本鎖DNAからなる複合体をモデルとして μ CERに

よるその解離反応速度解析を検討し、解離反応速度定数の直接測定に成功した(日本分析化学会第59年会、第30回キャピラリー電気泳動シンポジウム、共に依頼講演)。

2. ビラジカル錯体の近赤外吸収特性を利用する水溶液微小環境のpH-電位センサ

細胞内組織など、微小環境のpHや電位測定に興味を持たれている。当研究グループではラジカル配位子のPt(II)錯体がミセルやリポソームなど疎水環境を認識し、近赤外(NIR)吸収を示すことを明らかにしてきた。今回、水溶性のビラジカル錯体を合成し、水溶液中でも705 nmに強大なNIR吸収を示すこと、それがラジカル配位子間の電荷移動吸収に基づくこと、低pH環境下(pH < 4.0)でNIR吸収を消失させること、それが自然電位変化に基づく酸化・二量化によることなどを明らかにした。以上のことから本錯体は水系微小環境のNIR吸収pH・電位プローブとして機能し得るといえる。(Eur. J. Inorg. Chem.誌掲載、ICCC39、環太平洋国際化学会議2010にて発表)

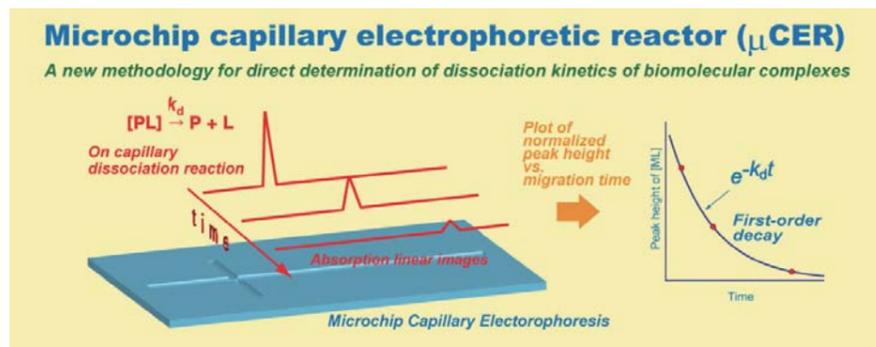


Figure 1 Schematic of the basic concept of microchip capillary electrophoretic reactor.



准教授
壹岐 伸彦
Associate Professor
Nobuhiko Iki



助教
高橋 透
Assistant Professor
Toru Takahashi

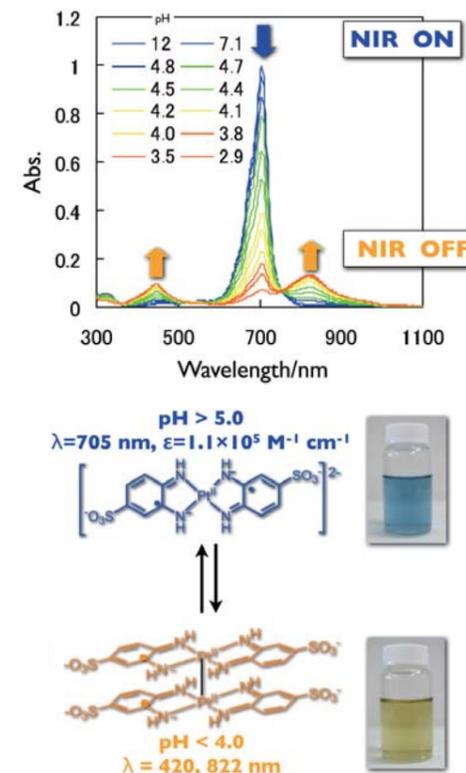


Figure 2 pH-Responsive Switching of the Near-Infrared Absorption of the Water-Soluble Bis(o-diiminobenzosemiquinonato)platinum(II) Complex

3. チアカリックスアレーン迅速溶出法と速度論的識別モードHPLCを用いるppbレベルの交換態Cd, Pbの高感度高選択的定量

カドミウム(Cd)や鉛(Pb)など重金属で土壌が汚染された場合、雨水等で容易に溶け出す“交換態Cd, Pb”による地下水系への汚染拡大が懸念される。土壌汚染対策法の施行も相まっ

て、土壌中の交換態Cd, Pbの迅速かつ高感度な定量法が求められている。しかし公定法では土壌試料を水で6時間抽出して検液を作成し、高コストかつ高度なインフラを必要とする原子分光学的な手法でこれらを定量しており、そのユーザビリティは高いとはいえない。最近発表者は重金類イオンに高い親和性を持つチアカリックスアレーン(TCA)を土壌からの検液作成時に用い、交換態Cd, Pbを選択的に10分以内に溶出させることに成功した。これらを金属キレート(ML)に変換し、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分離検出することによりppbレベルのCd, Pbの定量ができた(検出限界はCd: 0.63, Pb: 2.7 ppb, ppb = 10⁻⁹ g/ml)。これは土壌汚染対策法で定める基準を判別するのに十分な感度である。本法は100倍量の銅、コバルト、ニッケル、マンガン、亜鉛が検液中に存在しても妨害を受けない。また、鉄イオンについては4 mMのフッ化物イオンを添加すれば1000倍量の共存を許容できる。以上のように、本法は迅速、高感度かつユーザビリティの高い手法であり、公定法に替わるイノベティブな手法である。これはTCAによる物質認識とHPLC分離検出という化学機能の協奏により実現した。(環太平洋国際化学会議2010、招待講演、講演ハイライト選出)

受賞

- ❖環境科学研究科奨学賞, “pH-responsive switching of near-infrared absorption of water-soluble bis(o-diiminobenzosemiquinonato)platinum(II) complex,” 升谷敦子(D2)
- ❖第30回キャピラリー電気泳動シンポジウム、ポスター賞
「一本鎖DNA結合タンパク質-一本鎖DNA複合体の速度論的特性評価におけるキャピラリー電気泳動反応器の利用」 富谷頼行(M2)

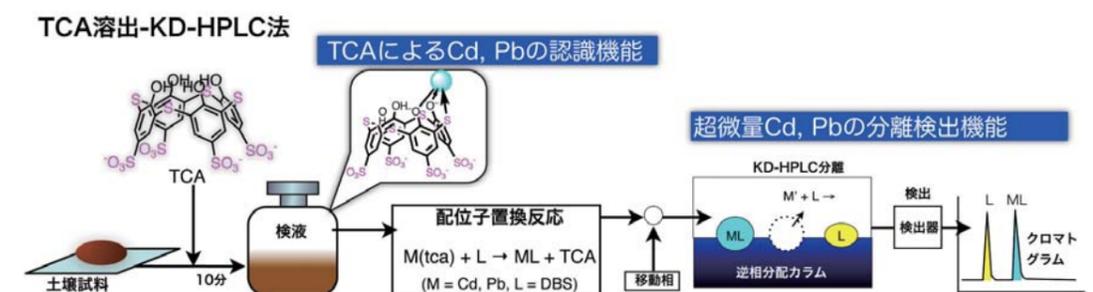


Figure 3 Schematic of the TCA-leaching/KD-HPLC method for soil analysis.