

環境に適合する高次機能物質システムの創成

Design of environmentally benign molecular systems with high functionality



教授
壹岐 伸彦
Professor
Nobuhiko Iki

研究成果

1. KD-HPLCを用いるpptレベルの六価クロムの定量法

当グループで開発した速度論的識別モード(KD)-HPLCは対象金属を配位して錯体に誘導体化し、それを配位子を含まない溶離液で分離検出する手法である。このため、解離不活性な錯体を選択的に定量でき、かつバックグラウンドに配位子の吸収がないために高感度な検出が可能となる。本研究では、環境測定や水道水の水質管理で定量ニーズの高い六価クロムCr^{VI}をターゲットにその超微量定量法を開発した。1,5-ジフェニルカルバジド(DPCI)(Fig.1)を誘導体化試薬とすると、Cr^{VI}は酸性条件下でDPCIを酸化しつつCr-DPCO錯体となる。塩酸酸性条件下では錯体の吸光度が最も高く、安定しており、他金属イオンや陰・陽イオンの妨害も生じなかった。Fe^{III}やCu^{II}、V^VはDPCIと錯形成するが、クロマトグラムにピークを与えなかったため、本法は解離不活性なCr-DPCO錯体を速度論的に識別し、選択的に検出しているといえる。塩酸酸性条件下でCr^{VI}の検量線を作成したところ、検出限界(S/N=3)は1.75ppt(= 3.4×10⁻¹¹M)となった。これ

はICP-AESの検出限界 0.8ppbを下回る値であり、本法は高感度な検出法であることが示された。続いて水道水中の微量Cr^{VI}測定を想定し、25%に希釈した水道水試料における添加回収実験を行った。その結果、添加Cr^{VI}量を0.20、0.40、0.60 nMとしたときの回収率はそれぞれ102.8、104.5、100.0%となり、本法の有用性が示された。

2. 土壌中交換態カドミウム、鉛、および水銀の迅速抽出法

土壌中の交換態Cd^{II}、Pb^{II}、Hg^{II}イオンは雨水等で容易に拡散し、汚染を地下水系にまで及ぼす可能性があり、土壌汚染対策法で測定項目の一つとなっている。公定法では水による6時間の抽出と定められているが、その迅速化が求められている。近年、ソフトな重金属と選択的に錯形成するTCASを用い、土壌中交換態Cd^{II}、Pb^{II}の迅速抽出法を開発した。今回、Hg^{II}を対象を拡大し、交換態重金属の溶出試験の迅速化、抽出液のマトリクスの低減に成功した。すなわち抽出液としてTCAS水溶液を用いると10分間で公定法と同等量(公定法に対しCd^{II}: 107%、Pb^{II}: 95%、Hg^{II}: 100%)の抽出を達成し、抽出時間を公定法の2.8%に短縮

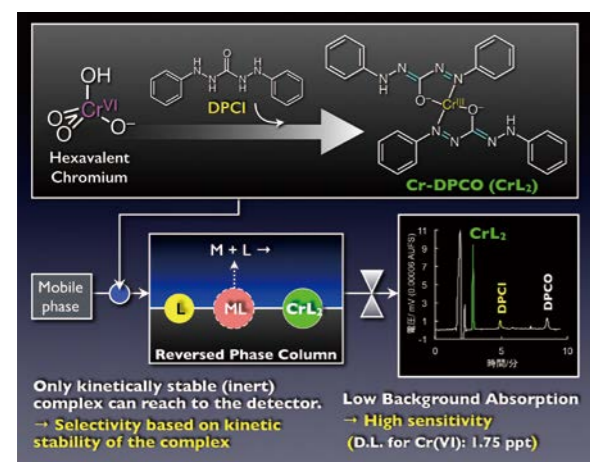


Fig. 1 Schematic representation of the KD-HPLC method for ppt levels of Cr^{VI} using DPCI as the derivatization reagent, showing a typical chromatogram.

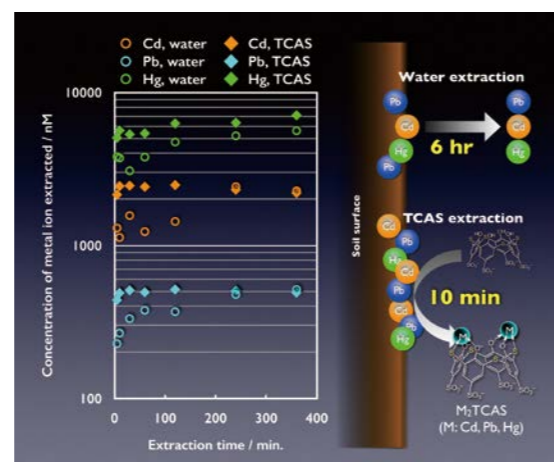


Fig. 2 Time course of extraction of Cd^{II}, Pb^{II}, and Hg^{II} with water and TCAS extraction methods (left) and schematic representation of the leaching processes of the methods (right). TCAS accelerates the extraction rate through the formation of M₂-TCAS complex.

できた(Fig. 2)。またマトリクス成分となるMg^{II}やFe^{III}などをそれぞれ公定法に対し56.4%、Fe^{III}: 73.1%に抑制できた。BCR法によってTCAS法の抽出するCd^{II}、Pb^{II}、Hg^{II}の形態区分を調べたところ、イオン交換態および炭酸塩結合態の抽出率が高く、土壌汚染対策法の溶出試験の趣旨に沿った結果を与えている。加えて、種々の土壌においてTCAS抽出法と公定法の抽出量を比較したところ、土壌の種類によらずTCAS抽出法による各金属の抽出率は公定法の94~108%に収まった。以上TCAS法は公定法を迅速化する代替法として有用であることが示された。

3. キャピラリー電気泳動による金属置換酵素-阻害剤複合体の熱力学的安定性の解析

金属酵素の活性中心ではある特定の金属イオンが加水分解、酸化還元、異性化反応の触媒機能を担っている。進化の過程で生体はその金属種をいかにして利用するようになったかは興味深い問題である。人為的に中心金属の種類を換えたとき、酵素の機能がどのように変化するかはその問いに対して示唆を与える可能性がある。今回、炭酸脱水酵素(CA, Fig.3)をモデルにその中心亜鉛(Zn^{II})を各種遷移金属に置換し、阻害剤に対する結合定数の変化をアフィニティキャピラリー電気泳動で調査した。泳動緩衝液中にCAの阻害剤であるスルホンアミド(SA)を添加し、CAの電気泳動移動度のSA濃度依存性を解析し、結合定数を求めた。その結果SAの結合定数の序列はMn^{II}、Ni^{II} < Cu^{II} < Zn^{II}、Co^{II}となり、配位環境の違いが影響していること、野生型CAのZn^{II}中心の持つ4配位正四面体の配位構造が最適な結合を形成することが分かった。阻害剤は酵素の触媒する反応の遷移状態アナログであることから、CAによるCO₂の加水分解(およ

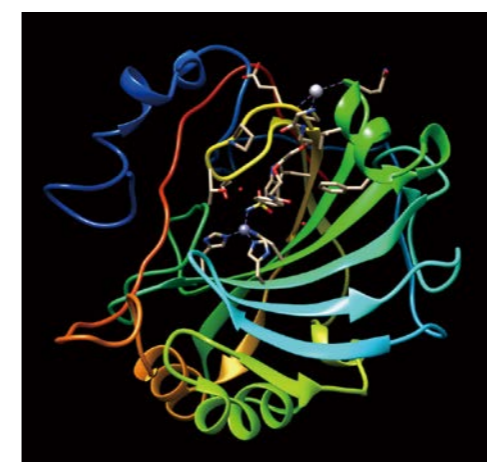


Fig. 3 Crystallographic structure of carbonic anhydrase having a SA ligand. The sphere at the center represents Zn^{II} ion coordinated by three histidine residues and SA amide in the tetrahedral coordination geometry. Data taken from Boriack, et al., J. Med. Chem., 38, 2286 (1995).

び炭酸の脱水)の遷移状態を安定化する、つまり反応を活性化するには4配位正四面体構造を取り得る金属種Zn^{II}の存在が重要であることが示唆される。

シンポジウム等の主催

- 分離機能とセンシング機能の化学セミナー、東北大学、3月8日。
- ペンシルベニア大Ivan J. Dmochowski教授講演会「New Photochemical Probes for Breakthroughs in Biomedicine」、東北大学、5月22日。
- 第74会分析化学討論会、主題講演「力量あるバイオイメージングを目指して」オーガナイザ、日本大学工学部、郡山、5月24日。

依頼講演, Plenary

- Plenary Lecture, "Synergy between Metal and Ligand for Molecular Probes Aimed at Biomedical Applications," Nobuhiko Iki, isCEBT2014, 長庚大学、台湾、9月11日。
- 依頼講演「分析化学の枠を越えて展開する「分離・分析試薬の設計」、壹岐伸彦、日本分析化学会第63年会、広島大学、9月19日。

受賞

- 第4回CSJ化学フェスタ2014、優秀ポスター発表賞「水溶液を反応場とする多核ランタニド錯体発光材料の合成」M1 飯倉大介
- International Symposium on Chemical-Environmental-Biological Technology (isCEBT), Best oral presentation award, "Analysis of Thermodynamic Stability of Metal-Substituted Carbonic Anhydrase-Sulfonamide Inhibitor Complexes by Capillary Electrophoresis," M2 佐藤陽介
- 他6件(環境分析化学分野と共同)

国際交流

- 壹岐伸彦:共同研究、Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital, P. Caravan教授、磁気共鳴イメージングコントラスト剤およびPARACEST試薬開発。
- B4 谷 勇輝:派遣、同上、1月