

平成 21 年 5 月 14 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18550120
 研究課題名（和文）機能性ホスト分子を利用したセンサーアレイによる分子認識システムの構築とその応用
 研究課題名（英文）Construction of molecular recognition systems based on sensor array using functional hosts
 研究代表者
 池田 博（IKEDA HIROSHI）
 東京工業大学・大学院生命理工学研究科・助教
 研究者番号：70201910

研究成果の概要：

人間の味覚・嗅覚のように認識特性の異なる複数のセンサーをアレイ状に並べた蛍光センサーアレイを作成し、未知の分析対象分子がどのような分子骨格を有しているかを応答パターンから推定するシステムの構築を試みた。システム構築のために、多種多様な応答を示す多種類のレセプターが必要であるが、本研究では申請者らが最近開発した分子骨格を識別するレセプターおよび従来から研究を行ってきたレセプター群に多様性を持たせるような化学修飾を行うことにより作成した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,300,000	0	2,300,000
2007年度	700,000	210,000	910,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	420,000	4,120,000

研究分野：生物有機化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：分子認識・超分子化学・分析科学・ホストゲスト化学・センサーアレイ・シクロデキストリン

1. 研究開始当初の背景

環境科学分野や、近年進歩の著しいケミカルバイオロジー分野において、分子の認識・可視化を可能にする高機能な Chemosensor・分子認識指示薬の開発が注目されている。しかし、分析対象は、重金属をはじめとした原子から、環境ホルモンなどの有機小・中分子、蛋白質等の有機大分子と幅広く、この多種多様な検出物質に対する選択的なセンサーを個別にすべて構築することは非現実的である。そこで、人間の味覚・嗅覚のように複数

のセンサーからなるセンサーアレイを作成し、パターン認識により多種類の分子を識別する分析手法が有効である。

アレイ状に並べた蛍光センサーは蛍光変化を起こしやすい分子の特徴がそれぞれ違うので、添加した分子によってそれぞれの蛍光センサーは様々な蛍光変化を示す。あらかじめ、既知の分子でどのような応答を示すかをパターンとしてデータベース化しておき、分析したい未知分子の応答パターンをデータベース化してあるパターンと比べるこ

とにより、未知分子が何であるかを推定しようとする手法である。

すでに、分析対象とする分子群に存在するアミノ基などの官能基の配位力の違いや酸解離定数の違いを、パターン認識により識別しようとする試みの報告はあるが、対象分子の分子骨格を有効に識別し、可視化するセンサーアレイの報告はまだない。申請者らは、疎水性が高く電荷的に中性な分子の骨格を識別する蛍光センサーをこれまでに開発してきた。そして、分子認識が可能な分子群の範囲を拡大するためにアレイ化が有効であろうと考えるに至った。

2. 研究の目的

本研究では、様々な応答性を示すセンサーを数多く合成し、それらセンサーをアレイ状に並べることにより蛍光センサーアレイを構築し、応答パターンを利用した分子認識システムを構築するための基礎的技術を取得することを目指した。本センサーアレイを用いることにより、分析検体中にどのような分子骨格を有する分子が存在するかを推定することが可能になる。分析検体の最終的な構造決定には他の分析手段が必要となるが、分析の一次スクリーニングに利用可能であり、簡便に分析検体を分類することを可能にするセンサーアレイを構築するために必要な多彩な応答性を示す蛍光センサーを作成する手法の開発をめざした。

3. 研究の方法

環状オリゴ糖であるシクロデキストリン(CD)にスペーサーを介して蛍光色素を導入した"Turn-Off"型蛍光センサー、及び、スペーサーを介さずに蛍光色素を導入した"Turn-On"型蛍光センサーを複数個合成した(図1)。

"Turn-Off"型蛍光センサーは、ゲストを認識すると蛍光強度が減少し、"Turn-On"型蛍光センサーは、ゲスト認識に伴い蛍光強度が増加する。また、"Turn-Off"型蛍光センサーの蛍光強度変化特性は、結合親和性の特性を反映しているのに対して、"Turn-On"型蛍光センサーの蛍光強度変化特性は、結合親和性には依存しない。包接複合体の構造を反映した蛍光強度変化特性を"Turn-On"型蛍光センサーは示すので、"Turn-Off"型蛍光センサーと併用することにより変化パターンが多様化しパターン認識がしやすくなると期待できる。また、多様なゲスト応答性を持った多数の蛍光センサーを作成するために、環サイズの異なるCDを基本骨格として利用し、また、蛍光色素とは別の修飾残基をCDに導入することを試みた。基本骨格として利用したのは、入手が容易なグルコース残基が6個からなる α -CD、7個からなる β -CDおよび8個

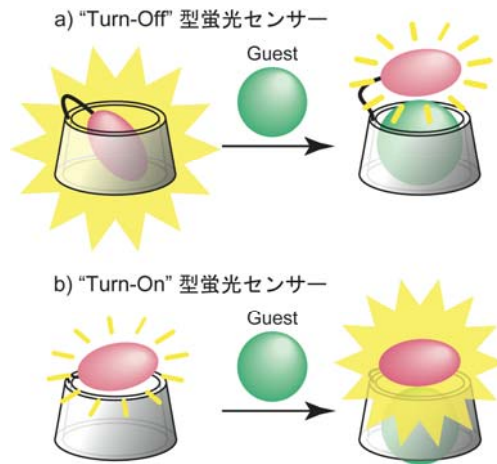


図1 "Turn-Off"型蛍光センサーと"Turn-On"型蛍光センサー

からなる γ -CDである。

4. 研究成果

(1) 環サイズの異なる α -、 β -、及び γ -CDに蛍光色素であるNBDアミンを導入した蛍光センサー($\text{NC0}\alpha\text{CD}$ 、 $\text{NC0}\beta\text{CD}$ 、 $\text{NC0}\gamma\text{CD}$)を合成した(図2)。

$\text{NC0}\gamma\text{CD}$ は、胆汁酸類のみに応答し、 $\text{NC0}\beta\text{CD}$ は、球状分子のみに応答し、 $\text{NC0}\alpha\text{CD}$ は、小分子ならびに球状分子に応答した(図3)。従来のセンサーでは、胆汁酸類と球状分子との見分けが難しく、また、小分子に対する応答性が低かった。本研究で合

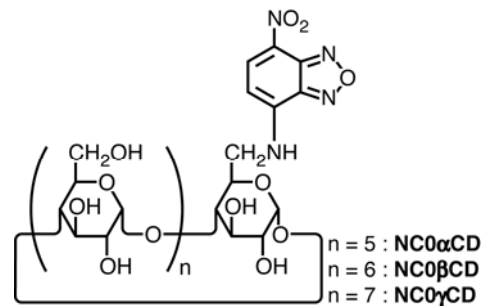


図2 蛍光センサー

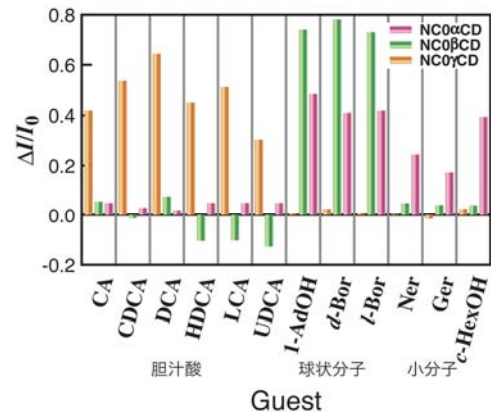


図3 蛍光センサーの分子認識特性

成したセンサーは従来の欠点を解消するものであり、3種類のCDを利用することにより、分子骨格を区別することが可能となり、センサーアレイを構築可能であることを示せた。

(2) **NC0 α CD** を用いてハロメタンを検出するシステムを構築した。ハロメタンは水質汚染物質であり、常時監視する必要がある物質であるが、これまで、有効な蛍光センサーが存在しなかった。**NC0 α CD** が小分子を有効に検出可能なことから、ハロメタン検出への応用を試みた。**NC0 α CD** は、ハロゲンの置換度が高いほど応答性が高くなり、四塩化炭素、四臭化炭素に対して高い応答性を示した。ハロゲンに対する選択性は、塩素<臭素<ヨウ素であった(図4)。

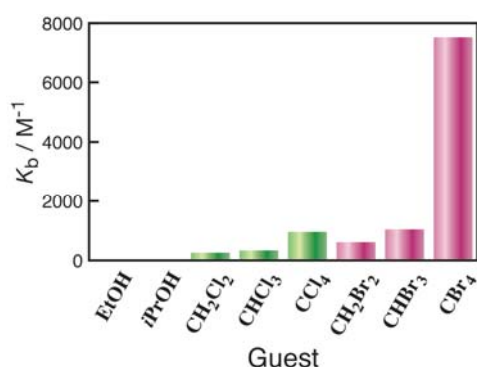


図4 蛍光センサー(**NC0 α CD**)のハロメタンに対する結合定数

(3) **NC0 α CD** の鎖状ならびに環状アルコールに対する応答性を調べた(図5)。鎖状アルコールは、炭素数が増えるに従い結合定数が大きくなった。一方、炭素数が6までは、炭素数が大きくなるに従い、蛍光強度変化($\Delta I/I_0$)は大きくなるが、炭素数8のアルコールの蛍光強度変化が他と比べて小さいことがわかった。これは、炭素数8のアルコールの長さがCD空洞高さよりも長いために、蛍光強度が変化しにくい包接構造を取るためと思われる。従って、この蛍光センサーを利

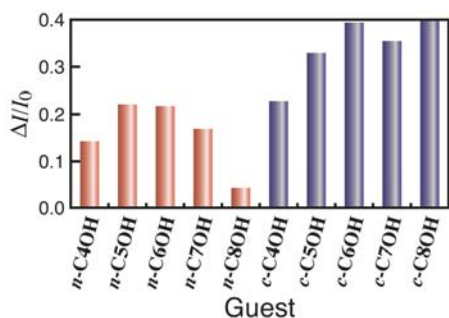


図5 蛍光センサー(**NC0 α CD**)の鎖状および環状アルコールに対する応答特性

用することにより、分子サイズを明確に識別できることがわかる。

一方、環状アルコールは結合定数や蛍光強度変化の炭素数依存性が比較的小さいこともわかった。

(4) レセプターの分子認識特性を多様化するために、 β -CDの分子認識サイトの拡張を試みた(図6)。 β -CDの一級水酸基側にアルキル鎖を導入したところ、より大きな分子を認識可能であることがわかった。一方、小分子に対する応答性は低下し、分子認識特性を多様化することができた。

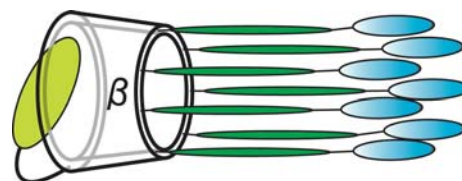


図6 大きな分子を認識可能にする蛍光センサー

(5) 蛍光センサーの認識特性に多様性を持たせる目的でアミノ酸をスペーサーに用いた蛍光センサーを構築した。D-バリン、L-バリン、D-フェニルアラニンあるいはL-フェニルアラニンをスペーサーに用い、蛍光色素としてダンシル基を用いて蛍光センサーを作成した。このセンサーはスペーサーに用いたアミノ酸が違えば不斉認識特性が全く異なり、センサーアレイ構築に利用可能であることがわかった(図7)。

その中でも、**DNS-L-Phe- β CD** がノルボルナン骨格を有する化合物の *d*体に対して高い選択性を示した。一方、メントールの *l*体に対して**DNS-D-Phe- β CD**が高い選択性を示したのに対して、**DNS-L-Val- β CD** が、高い *d*選択性を示し、これらのセンサーを併用することにより光学活性化合物の旋光性の向

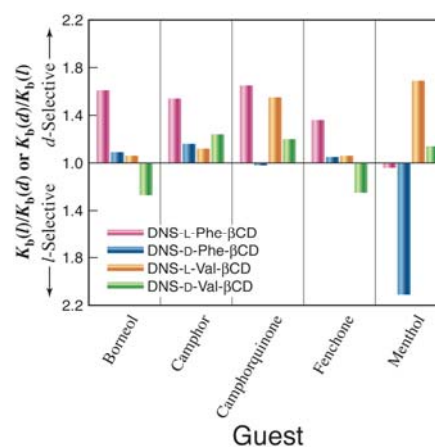


図7 不斉識別可能な蛍光センサー

きも推定が可能な場合があることがわかった。

(6) 本研究の成果により、有機分子の検出にセンサーアレイがきわめて有効であることを、初めて具体例を持って示すことができた。

また、本研究において、ハロメタンの検出を可能にするセンサーを世界で初めて作成することに成功した。

今後、CD 以外のホスト分子を利用することにより、より多くの種類の有機分子の検出が可能になると思われる。

さらに実用性を高めるためには、有機分子の存在を色変化で示すことが可能なセンサー技術の開発が必要であろう。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

① H. Ikeda and A. Ueno, "Fluorescent α -Cyclodextrin as a Chemosensor for Halomethanes," *Chem. Commun., in press*, 査読有.

② H. Ikeda and A. Ueno, "Fluorescent Cyclodextrins as Chemosensors for the Detection of Water Contaminants," *Proceedings of the 14th International Cyclodextrins Symposium*, 197-200 (2008), 査読有.

③ H. Ikeda, T. Sugiyama, and A. Ueno, "New Chemosensor for Larger Guests Based on Modified Cyclodextrins Bearing Seven Hydrophobic Chains Each with a Hydrophilic End Group," *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.*, **57**, 83-87 (2007), 査読有.

④ H. Ikeda and A. Ueno, "Fluorescent Cyclodextrins as Chemosensors for Molecule Detection," *Proceedings of Fourth Asian Cyclodextrin Conference*, 14-22 (2007), 査読有.

⑤ H. Ikeda, Q. Li, and A. Ueno, "Chiral Recognition by Fluorescent Chemosensors Based on *N*-Dansyl-Amino Acid-Modified Cyclodextrins," *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 5420-5423 (2006), 査読有.

⑥ H. Ikeda, T. Murayama, and A. Ueno, "Bile Acids-Selective Chemosensors Based on NBD-amine-Modified Cyclodextrins," *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.*, **56**, 101-105 (2006), 査読有.

⑦ T. Murayama, T. Tanabe, H. Ikeda, and A. Ueno, "Direct Assay of α -Amylase Using

Fluorophore-Modified Cyclodextrins," *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 3691-3696 (2006), 査読有.

〔学会発表〕(計9件)

① 池田 博, 上野昭彦, "蛍光性シクロデキストリンを利用した水中での有機分子検出," 第3回バイオ関連化学合同シンポジウム, 2008. 9. 18, 東京工業大学

② 池田 博, 上野昭彦, "蛍光性シクロデキストリンを利用した有機小分子の検出," 第3回ホスト・ゲスト化学シンポジウム, 2008. 5. 31, 上智大学

③ H. Ikeda and A. Ueno, "Fluorescent Cyclodextrins as Chemosensors for Detection of Water Contamination Substances," The 14th International Cyclodextrins Symposium, 2008.5.9, Kyoto, Japan

④ 池田 博, 上野昭彦, 蛍光性シクロデキストリンを利用した水質汚染物質の検出, 第25回シクロデキストリンシンポジウム, 2007. 9. 11, 鳥取県民文化会館

⑤ 池田 博, 村山拓也, 上野昭彦, NBD アミン修飾シクロデキストリンを利用した分子認識センサーの構築, 第2回ホスト・ゲスト化学シンポジウム, 2007. 5. 24, 大阪市立大学

⑥ H. Ikeda, T. Murayama, and A. Ueno, "NBDamine-Modified Cyclodextrins as Fluorescent Chemosensors for Molecule Detection," 4th Asian Cyclodextrin Conference, 2007.5.18, Kyoto, Japan

⑦ 池田 博, 村山拓也, 上野昭彦, "修飾シクロデキストリンを利用した分子骨格を認識する分子認識センサー," 第1回ホスト・ゲスト化学シンポジウム, 2006. 5. 30, つくば国際会議場

⑧ 池田 博, "化学修飾によるシクロデキストリン包接機能の改変・制御," 第24回シクロデキストリンシンポジウム, 2006. 10. 13, 東京大学

⑨ H. Ikeda, T. Murayama, and A. Ueno, "Fluorescent Chemosensor for Molecule Detection Using NBDamine-Modified Cyclodextrin," The 13th International Cyclodextrin Symposium, 2006.5.15, Torino, Italy

〔図書〕（計3件）

①A. Yatsimirsky, H. Ikeda, et al., Wiley-VCH, "Artificial Receptors for Chemical Sensors," *in press*.

②H. Dodziuk, H. Ikeda, et al., Wiley-VCH, "Cyclodextrins and Their Complexes -Chemistry, Analytical Methods, Applications-," **2006**, 31-64.

③ A. Douhal, H. Ikeda, et al., Elsevier, "Cyclodextrin Materials Photochemistry, Photophysics, and Photobiology," **2006**, 267-283.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田 博 (IKEDA HIROSHI)

東京工業大学・大学院生命理工学研究科・助教

研究者番号：70201910

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし