

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：34306

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14891

研究課題名(和文)非侵襲的生体成分モニタリングを目指した分子鋳型イオン液体ゲルセンサーの開発

研究課題名(英文)Development of molecularly imprinted ionic liquid gel sensor for the non-invasive monitoring of biological composition

研究代表者

小西 敦子 (Konishi, Atsuko)

京都薬科大学・薬学部・助手

研究者番号：20634330

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：鋳型分子としてコルチゾール(COR)、機能性モノマーとして4-ビニルフェニルボロン酸(4-VPBA)、溶媒としてイオン液体を用いて、CORを特異的に認識するCORインプリントゲルの開発を試みた。その結果、親水性イオン液体および疎水性イオン液体いずれを用いた場合においても、無色透明で均一なゲルを作製することができた。また、親水性イオン液体を溶媒とし、COR:4-VPBAの配合比を1:5として調製したゲルは、CORに対する高い特異性を有することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分子インプリントゲルは高い分子認識能から、またイオン液体ゲルはイオン液体の電気の通しやすさと不揮発性から、近年注目を集めています。これら二つを組み合わせた分子鋳型イオン液体ゲルセンサーは、互いの利点を同時に生かし、ゲルそのもので分子認識と信号変換の2つの役割を担う、新規なセンサーとすることができま

す。本センサーが開発できれば、汗中に含まれる生体内成分をリアルタイムかつ非侵襲的に測定するなどの応用が考えられ、現在医療現場で精神的肉体的負担を強いられている血液検査を劇的に改善することが期待できま

す。

研究成果の概要(英文)：Cortisol (COR) imprinted gel containing ionic liquid were prepared using COR as a template molecule and 4-vinylphenylboronic acid (4-VPBA) as a functional monomer. The prepared gels were colorless, transparent and uniform using either hydrophilic or hydrophobic ionic liquid. Additionally, the gel prepared which the ratio of COR and 4-VPBA was 1:5 showed the high specificity for COR.

研究分野：分析化学

キーワード：分子インプリント法 ゲル イオン液体 センサー 非侵襲的 モニタリング

1. 研究開始当初の背景

生体内微量成分の検出は、現在主に蛍光免疫測定法や高速液体クロマトグラフィーを用いた方法等が利用され、これには採血を必要とし、患者の精神的肉体的負担が強いられている。また、得られた結果は採血した時点のみの生体内濃度であり、この一点の測定値から各時間におけるおおよその濃度を概算している。しかし、生体内濃度を一時点のみでなく、リアルタイムに経時的变化をとらえることができれば、より確実でより効果的な医療の提供が可能となる。そこで、生体内微量成分の検出において、患者への負担のない測定、リアルタイム測定、測定デバイスの簡単な作製および単純な構造、の3点を叶える測定法の開発を目的とした。

具体的には、イオン液体ゲルと分子インプリントゲルを組み合わせた分子鑄型イオン液体ゲルセンサーの開発を目指した。これまでに、分子インプリント法による有機ゲルはいくつか報告されているが、それらをセンサーとして応用するためには、電気を通しにくい材料、信号変換部である金やカーボンペースト電極などへの固定化が必要であった。一方、イオン液体は電気を通しやすく、液体でありながら蒸気圧がないといった特徴を有する。これにより、イオン液体を溶媒として調製したゲルは、化学的、熱的に安定であるだけでなく、作製されたゲルは電気を通しやすい材料、ゲルそのものを作用電極として利用可能となる。したがって、イオン液体ゲルと分子インプリントゲルを組み合わせることで、結果として、分子認識と信号変換が1パーツで成り立つ、新規なセンサーとすることができる。また、本研究で作製するイオン液体ゲルセンサーは、ゲルであるゆえ、使用する用途や部位により、自由に形を設計できる。このように確立したフィルム状の分子鑄型イオン液体ゲルセンサーは、分子インプリントゲルがテーラーメイドに作製可能であることから、将来皮膚への貼付のみでリアルタイムに種々の生体内成分の測定が可能で、非侵襲的な新規モニタリングデバイスとなりえる。

2. 研究の目的

分子鑄型イオン液体ゲルセンサーの開発に向けて、本研究では、まずその基盤の構築に取り組んだ。モデル分析対象物質としては、ストレスマーカーとして知られるコルチゾール (COR) を選択し、COR インプリントゲルセンサーの開発を目指して、COR インプリントゲルの確立を目的に以下の検討をおこなった。親水性イオン液体を用いた均一なゲルの調製、COR と機能性モノマーの配合比の検討、疎水性イオン液体を用いた COR インプリントゲルの調製と COR 結合量の測定、をおこなった。

3. 研究の方法

(1) COR インプリントゲルの調製

本ゲルは、二重網目構造を有するダブルネットワークゲルとした。分子鑄型を構成する各成分は、第1網目に組み込むように調製した。まず、第1網目は、鑄型分子である COR、機能性モノマーである 4-ビニルフェニルボロン酸 (4-VPBA)、モノマーおよび架橋性モノマーである 2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸と *N,N'*-メチレンビスアクリルアミド (MBAA) を、イオン液体と混合し、均一に溶解させた。その後、重合開始剤として *N,N,N',N'*-テトラメチルエチレンジアミンおよび過硫酸アンモニウムを加え、365 nm の紫外線を3時間照射し重合させた。次に、この第1網目ゲルを、モノマーであるアクリルアミド、架橋性モノマーである MBAA、重合開始剤を混合した第2網目の溶液に48時間浸漬し、第1網目ゲルに第2網目ゲルの前駆体を浸透させた。このゲルに、365 nm の紫外線を3時間照射し、第1網目ゲル中で第2網目を重合させた。最後に、ゲルをメタノール/1 mol/L KCl 水溶液 (1:1) に浸漬し、ゲルから COR を除去し、COR インプリントゲルとした。

(2) COR インプリントゲルに対する結合量の測定

COR インプリントゲルに対する各物質の結合量を紫外吸光度法により測定し、算出した。COR インプリントゲルを種々の溶液 50 mL に浸漬し、24時間攪拌することでゲルに各物質を結合させた後、紫外吸収スペクトルを測定した。測定条件はそれぞれ、測定波長 200-300 nm、波長間隔 0.5 nm、スキャン回数 1 回とし、光路長 1.0 cm の石英セルを使用した。

4. 研究成果

(1) 親水性イオン液体を用いた COR インプリントゲルの調製

イオン液体を用いたゲルの調製においては、イオン液体とその他のモノマー類が相溶性を示す必要がある。また、相溶したイオン液体とモノマーにおいても、重合の過程で相分離するものも多い。そこで、全体が均一で、センサーとして取り扱いが容易な硬さを有するゲルとするため、まず始めに、用いるイオン液体の選択をおこなった。種々の親水性イ



Fig. 1. 親水性イオン液体と COR インプリントゲル

オン液体を用いてゲルの調製を試みた結果、イオン液体として *N*-(2-methoxyethyl)-*N*-methylpyrrolidinium tetrafluoroborate を用いた時、無色透明で均一なゲルとなった (Fig. 1)。以降の検討では、本イオン液体を用いて検討をおこなった。

(2) 鋳型分子除去の溶媒の検討

COR インプリントゲルの作製における鋳型分子 COR の除去において、ゲルの体積に影響を与えず、効率的な鋳型分子除去をおこなえる溶媒の検討をおこなった。イオン性モノマーを用いたゲルを水溶液へ浸漬すると、水とモノマーとの相互作用により、膨潤収縮がおこる。ゲルの膨潤収縮は、作製時からのモノマーの位置が変わることにより、鋳型が変形し分子認識能が低下すると考えられる。そこで、ゲル前駆体である溶液と、浸漬する溶媒の浸透圧を同程度とすることで、ゲルの膨張を防ぐことを目指した。種々の溶媒について浸透圧を測定した結果、メタノール / 1 mol/L 塩化カリウム水溶液 = 1:1 の浸透圧が、ゲル前駆体溶液の浸透圧と近い値となった。本溶液に重合後のゲルを浸漬し、鋳型除去を試みたところ、ゲルが膨潤収縮することなく COR の除去が確認され、鋳型分子除去溶媒として適していることが示された。

(3) COR と機能性モノマーの配合比の検討

分子インプリント法により調製したゲルやポリマーの分子認識には、調製時の鋳型分子と機能性モノマーの配合比が、分子認識能に影響を及ぼすことが知られている。そこで、COR に対して機能性モノマーである 4-VPBA が 3, 5, 10 の配合比となるように調製した 3 種の COR インプリントゲルについて、COR に対する結合量を測定することで、適する配合比の検討をおこなった。各 COR インプリントゲルに対する COR の結合量を Fig. 2 に示す。4-VPBA の配合量により、COR インプリントゲルの COR に対する結合量は変化した。また、COR と 4-VPBA を 1:5 の配合比で調製した COR インプリントゲルが、最も COR の結合量が多いことが明らかとなった。以降の検討では、COR:4-VPBA=1:5 の配合比によりゲルの調製をおこない、検討をおこなった。

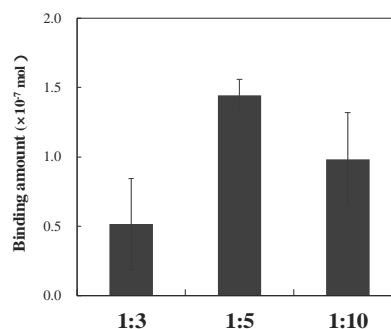


Fig. 2. COR と 4-VPBA の配合比の検討

(4) COR インプリントゲルの特異性の検討

これまでの検討により決定した条件に基づき調製した COR インプリントゲルが、ゲル中に形成された鋳型により COR を特異的に認識しているかを確認した。COR インプリントゲル (COR(+)/4-VPBA(+)) および、COR もしくは 4-VPBA を混合せずに調製したコントロールのゲルに対する COR 結合量を比較した。その結果を Fig. 3 に示す。COR インプリントゲルに対する COR の結合量は、COR を混合せずに調製したゲルに対する COR 結合量と比較して優位に大きく、COR インプリントゲルが分子インプリントの鋳型により COR を特異的に認識していることが示された。また、4-VPBA を混合せずに調製したコントロールゲルにおいても、COR 結合量は優位に低かった。このことから、COR インプリントゲルによる COR の認識において、鋳型内に固定化された 4-VPBA が COR と相互作用することで、COR の特異的認識に重要な役割を果たしていることが示された。

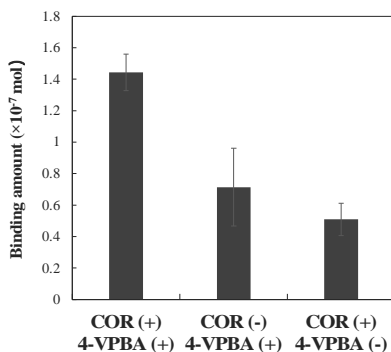


Fig. 3. COR インプリントゲルとコントロールゲルの COR 結合量

(5) 疎水性イオン液体を用いた COR インプリントゲルの調製と結合量の測定

親水性イオン液体を用いた COR インプリントゲルにおいて、調製時および鋳型除去の際に、イオン液体がゲル内部から浸漬溶媒中へ漏出していることが危惧された。そこで、疎水性イオン液体を用いることで、ゲルからのイオン液体の漏出を防ぐことを目指した。種々のイオン液体を用いてゲルの調製を試みたところ、溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を増加させることにより、均一なゲルとなる傾向が見られた。そこで、疎水性イオン液体である *N*-Butyl-*N*-methylpyrrolidinium bis(trifluoromethanesulfonyl)imide を用いた COR インプリントゲルについて、COR に対する結合量を測定した。その結果、疎水性イオン液体を用いた COR インプリントゲルに対する COR の結合量は、親水性イオン液体を用いた場合と比較して低い値となった。これは、第 2 網目ゲルの前駆体溶液中に第 1 網目ゲルを浸漬した際、増加した DMSO の働きにより、疎水性の COR が DMSO と共にゲルから漏出し、第 2 網目の重合形成時に鋳型が破壊されていることが原因であると考えられた。これは、調製時の DMSO 量を減少させることで、COR インプリ

トゲルの COR 結合量が増加したことから裏付けられる。

今後は、疎水性イオン液体を用いた COR インプリントゲルの COR 結合量の向上に取り組み、センサーへの応用に向けて展開していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Konishi Atsuko, Takegami Shigehiko, Kitade Tatsuya	4. 巻 16
2. 論文標題 Construction and Studies of Histamine Potentiometric Sensors Based on Molecularly Imprinted Polymer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 788 ~ 794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1573411015666190613165529	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Konishi Atsuko, Takegami Shigehiko, Idosaki Yoko, Kitade Tatsuya	4. 巻 36
2. 論文標題 Application of Molecularly Imprinted Polymer-modified Potentiometric Sensor for Quantitative Determination of Histamine in Serum	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1561 ~ 1563
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20N018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Konishi Atsuko, Takegami Shigehiko, Kitade Tatsuya	4. 巻 35
2. 論文標題 A Molecularly Imprinted Polymer-modified Potentiometric Sensor for the Detection of Glutathione	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1111 ~ 1115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.19P166	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小坂彩, 高石真子, 芝野華奈, 小西敦子, 武上茂彦, 北出達也
2. 発表標題 イオン液体含有ヒスタミンインプリントゲルにおけるヒスタミン吸着量とゲル体積抵抗率の相関
3. 学会等名 第80回 分析化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小西敦子, 武上茂彦, 北出達也
2. 発表標題 分子インプリントポリマーを感応素子としたヒスタミン電位検出型センサーを用いた血清中ヒスタミンの定量分析
3. 学会等名 第80回 分析化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中亜季, 小西敦子, 武上茂彦
2. 発表標題 分子インプリントポリマーを感応素子とするグルタチオンセンサーの生理的pHにおける応答性能の向上
3. 学会等名 第70回 日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井戸崎 瑤子, 小西 敦子, 武上 茂彦, 北出 達也
2. 発表標題 分子インプリントポリマーを感応素子としたヒスタミン電位検出型センサーにおけるポリマー表面の機能性モノマーの化学修飾による選択性能の改善
3. 学会等名 日本薬学会第140年会(京都)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤未来, 劔持愛梨花, 小西敦子, 武上茂彦, 北出達也
2. 発表標題 コルチゾール特異的認識能を有するイオン液体含有コルチゾールインプリントゲルの開発における機能性モノマー量の検討
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小西敦子, 岡田麻里奈, 川原智美, 武上茂彦, 北出達也
2. 発表標題 分子インプリントポリマーを感応素子としたリドカイン電位検出型センサーにおける機能性モノマーの検討
3. 学会等名 日本分析化学会第68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 芝野華奈, 小西敦子, 武上茂彦, 北出達也
2. 発表標題 イオン液体含有ヒスタミンインプリントゲルにおけるヒスタミン認識能に及ぼす機能性モノマーの配合量の検討
3. 学会等名 第78回分析化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小西敦子, 芝野華奈, 武上茂彦, 北出達也
2. 発表標題 イオン液体含有ヒスタミンインプリントゲルのヒスタミン特異的認識能の検討
3. 学会等名 第9回イオン液体討論会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

京都薬科大学ホームページ
https://www.kyoto-phu.ac.jp/education_research/laboratory/?c=laboratory_view&pk=5
 京都薬科大学 薬品分析学分野ホームページ
<http://labo.kyoto-phu.ac.jp/bunseki/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------