

生体系診断材料を指向した水中での ペプチドアロステリック増幅センシング

代表研究者

福原 学

東京工業大学 理学院化学系 准教授



1. 研究背景

現在、医薬・農薬・香料など幅広い分野における生理/薬理活性体の増加に伴い、これらを高感度・高選択的に検知できる超分子センサーが性急に望まれている。従って、超分子センサーの開発は基礎・応用両面で波及効果が大きく、現代化学の最重要テーマの一つである(八島ほか *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 6102; Swagerほか *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 4488)。これまでに超分子的アプローチによる化学センサーが数多く報告されてきているが、これらは検体認識サイトの立体的あるいは電子的変化に基づくスペクトル変化を読み取るものが主流であり、もし設計・合成後にゲスト化合物(検体)に対してホスト(センサー)の認識サイトの形やサイズが適合しなければ低感度あるいは低選択性といった問題点を抱えていたのが現状であり、よほど革新的なことがない限りこの問題点を解決するのは難しいと考えられてきた(福原 *Polym. J.* **2015**, *47*, 649)。

研究代表者はこのような背景の基、生体内認識過程で精緻に活用されているアロステリック効果に想を得て、レセプターから柔軟な高分子主鎖へとアロステリックに伝播した情報を増幅して読み取るセンシング手法を提案した(図1)。この概念は図1に示したように、(i)精密に設計されたホスト-ゲスト識別超分子空間での検体の吸着・包接に伴うセンシング部位自身の動的構造変化により、(ii)アロステリック効果によってシグナル増幅高

分子への伝播を引き起こさせ、(iii)ここから増幅したシグナルを得るという手法であり、研究代表者はこの一連のプロセスを利用するセンシング方法論を"超分子アロステリックシグナル増幅センシング (Supramolecular Allosteric Signal-amplification Sensing)" (SASS)と定義し、依頼論文として研究代表者単名でまとめた *Polym. J.* の Focus Review で詳述しており、世界的にもこの分野を先導している。



図 1. SASS の概念図

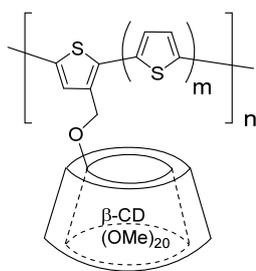
2. 研究目的

本研究では、最近研究代表者が提唱している SASS 手法を活用することで、薬理活性物質を標的とした機能性高分子センサーの開発を目的としている。本課題は、生体内で"スマート"に活用されているアロステリック効果に想を得て、認識サイトから離れた部位での変化を鋭敏に捉え、伝播した高分子主鎖から増幅した光学出力を検出する "SASS" の新概念を実践し、汎用性の高い手法として拡大・展開し最終的には応用まで試みる挑戦的なテーマ設定である。

従って、研究代表者が見出した進展著しい "SASS" が、これまでの「センサー自身の光学変化を読み取るセンサーの問題点」を解決でき得る新機構であることは疑いなく、これを利用して生体系に近い環境 (水中) でのペプチドをセンシング可能なセンサー材料の構築が達成できれば革新的である。本研究提案は、これら新現象を出発点に多分野にまたがる境界新領域「生体系診断材料を指向した水中でのペプチドアロステリック増幅センシング」を開拓・展開し、拡大一般化することを目指す。

3. 研究概要

本研究では、水中に存在する特定のオリゴペプチドをポリチオフェン(PT)主鎖からの光学出力として検出するために、完全メチル化 β -CDをPT側鎖に直結したCPC m (図2, $m = 1, 2$) を設計した。CPC m は、芳香環が包接可能な β -CD誘導体を認識部位として一定の距離と配置で主鎖に直結することで、それに適合する芳香族アミノ酸配列を有するオリゴペプチドのセンシングを目指すとともに、アロステリック増幅センシングの適用範囲を調べた。



CPC m ($m=1,2$)

図2. シクロデキストリン PT センサー

CPC m のキロプティカル特性を CCl_4 から H_2O までの種々の溶媒中で検討したところ、 E_T 値が高くなるにつれ、UVスペクトルでは長波長シフトが、円二色性(CD)スペクトルではエキシトンカップリングが観測された。次に、10% MeOHを含むpH 7.2の33 mMリン酸緩衝溶液中にCPC2を溶かし、オリゴペプチドとして血圧上昇作用を有するアン

ジオテンシンI~IV、ならびに生体内に存在し血圧低下および胃収縮作用を有するキセノプシン-2 (XP-2)、その構成要素である種々のアミノ酸を加えるとPT主鎖の π, π^* 遷移の吸光度変化によるセンシングが可能であることが明らかとなり、Hill plotによりHill係数 n と錯形成定数 K_d を求めた。滴定の結果から、芳香族部位を複数持つオリゴペプチドに対し強い錯形成能を示し、XP-2による滴定実験のHillプロットからHill係数 n が2.5と求まった。CDスペクトル滴定とJob Plotの結果から、このXP-2の正のアロステリズムは、CD認識部位の構造変化によるものと推測できた。

4. 結言

以上、本提案である高分子の柔軟な主鎖構造の微小な変化を様々な分光分析手法(紫外可視近赤外、蛍光、円二色性、電流応答)によって読み取る「生体系診断材料を指向した水中でのペプチドアロステリック増幅センシング」は、幅広い検体(特に生体関連物質)を高感度かつ選択的にセンシングできる手法ではあることを示唆する結果であり、まだまだ可能性に満ちた大きなフロンティアである。

5. 主な発表論文・学会発表等

[2017年度雑誌論文] (計2件)

- 1) **Fukuhara, G.***; Sasaki, M.; Numata, M.; Mori, T.; Inoue, Y.*: Oligosaccharide Sensing in Aqueous Media by Porphyrin-Curdlan Conjugates: A Prêt-à-Porter Rather Than Haute-Couture Approach, *Chem.-Eur. J.* **2017**, *23*, 11272-11278. [Inside Cover]
- 2) Yao, J.#; Wu, W.#; Liang, W.; Feng, Y.; Zhou, D.; Chruma, J. J.; **Fukuhara, G.**; Mori, T.; Inoue, Y.; Yang, C.* (# Equal contributions): Temperature-Driven Planar Chirality Switching of a Pillar[5]arene-based Molecular Universal Joint, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 6869-6873.

〔2017年度学会発表〕(他6件)

Chirality 2017@早稲田大学(7/9-12)

○Gaku Fukuhara・Mayuko Sasaki・Munenori
Numata・Tadashi Mori・Yoshihisa Inoue
Oligosaccharide Sensing in Aqueous Media by
Porphyrin-Curdlan Conjugates Using Circular
Dichroism Spectroscopies

第63回高分子研究発表会(神戸)@兵庫県民会館
(7/14)

範國正拓・黒原大輝・沼田宗典・松崎典弥・森 直・
木田敏之・○福原 学
ローダミンリポーター修飾カードランによる水溶
液中でのオリゴ糖センシング

第11回超分子若手懇談会—超分子技術を利用した
新規ナノ材料—@箱根路 開雲(9/13-14)・招待講演

○福原 学

マイクロナノ空間を操る超分子センシング
～アロステリズムに魅せられて～

パイスター分子制御による未来型物質変換研究拠
点(12/16)・招待講演

○福原 学

アロステリズム機構が発現する分析化学センサー
の創成