

研究主論文抄録

論文題目 生物学的に重要な物質の電気化学的な検出および特性評価
Electrochemical Detection and Characterization of Biologically
Important Substances

熊本大学大学院自然科学研究科 物質・生命科学 専攻 応用物質生命化学 講座
(主任指導 國武 雅司 教授)

論文提出者 稲田 和文 (by Kazufumi Inada)

主論文要旨

化学物質計測のためのセンサの開発は、医療診断、環境診断において極めて重要である。電気化学測定法には、他の手法と比較して測定が容易、迅速、高感度、安価といった長所がある一方で、酸化還元電位が近接した化合物が共存する場合、それぞれのピークが重なって選択性が得られにくいという欠点がある。例えば多種の化合物が共存する生体内等では、検体を選択的に測定することが極めて困難とされ、選択性の改善が望まれる。さらに長期間の使用による電極劣化に伴った感度などの悪化もしばしば起こるため、電極の安定性の向上、あるいは再生の簡略化が望まれる。

薬剤やタンパク質といった複雑な構造の化合物を知る上で、その中心となる部位の研究が極めて重要である。金属錯体はしばしばタンパク質などの中心となり、電気化学的性質を含めた金属錯体の性質の解明が、薬剤やタンパク質の機能発現メカニズムの解明に通じるものと考えられる。ブレオマイシンは抗癌機能を持ち、その金属錯体部位は DNA 切断の役割を担っていることから、類似した構造の金属錯体の研究から錯体の構造と DNA 切断能力の関係が明らかになっていく可能性がある。その活性中心は銅イオンに種々アミノ酸の S や N 原子が配位した構造となっており、そのモデル錯体である低分子量銅錯体の研究がタンパク質機能発現メカニズムの解明につながる可能性がある。

以上の点を鑑みて、本研究では、トリプトファン、セロトニン、尿酸、ドーパミン等の検出のための新規な電気化学的測定法の開発を第一部、薬剤やタンパク質のモデルとなる金属錯体についての、電気化学を含めた特性評価を第二部としてこれらの研究成果を全 8 章にまとめた。

第 1 章では本研究の背景、目的ならびに意義などを述べる。

第 2 章では、種々妨害物質共存下における、トリプトファンおよび 5-ヒドロキシトリプタミン (セロトニン) の新規な電気化学的測定法の開発について述べる。トリプトファンが酸化されると酸化生成物が生成し、酸化生成物はトリプトファンよりもはるかに負電位側に酸化還元ピークを与える。一方トリプトファン検出において妨害物質とされてきたチロシンについては酸化生成物による酸化還元ピークは認められなかった。酸化生成物の酸化還元ピークを用いることによって、少なくとも 5 倍過剰のチロシン共存下においてもトリプトファンを選択的に検出することが可能であった。セロトニンについても、その酸化生成物の酸化還元ピークを用いることにより、尿酸およびアセトアミノフェンの影響が良好に除去され、200 倍の尿酸やアセトアミノフェン共存下での、選択的なセロトニンの検

出が可能であった。また電極材料としてカーボンペーストを用いていることから、作製および再生が極めて容易であり、コストの改善が期待できる。

第3章では、アスコルビン酸やアセトアミノフェン共存下における、尿酸の新規な電気化学的測定法の開発について述べる。これまではアスコルビン酸と尿酸のピークが重複し、尿酸の選択的検出は困難とされていたが、カーボン粉末の種類や組成比の影響について検討を行った結果、グラッシーカーボンペースト電極上においてはアスコルビン酸の酸化ピークは尿酸のピークよりも 160 mV 負電位側にあり、尿酸の選択的な検出が可能となることを見出した。さらに尿酸とアセトアミノフェンのピーク分離幅が溶液の pH に依存することを見出し、0.01 M NaOH 溶液中では 140 mV と十分な分離幅が得られた。以上のことから、未修飾のカーボンペースト電極上においても、アスコルビン酸およびアセトアミノフェンの影響が良好に除去された。

第4章では、アスコルビン酸共存下におけるドーパミンの新規な選択的測定法の開発について述べる。リン酸緩衝液中において、電気化学的酸化処理を行ったカーボンペースト電極上では、用いたカーボン粉末の種類に依らずアスコルビン酸とドーパミンのピークは良好に分離され、数 10 回電位掃引を行っても感度やピーク電位に変化は認められなかった。一方アルブミン共存下では *crystalline* のカーボン粉末から成る電極が良好な安定性を示したのに対して、*natural* の粉末から成る電極上では、掃引数が増加するにつれてアスコルビン酸の酸化ピーク電位が正電位にシフトし、ドーパミンの検出を妨害した。

第5章では、亜硝酸イオン検出限界改善のための新規な電極の開発について述べる。亜硝酸イオンは電気化学活性であり種々の電極で検出可能であるが、しばしばバックグラウンド電流の存在が微量の検出を妨害する。バルクの白金電極は亜硝酸イオン還元に対して良好な感度を示したが、バックグラウンド電流が大きく、微量 (1 μM) の亜硝酸イオンの検出は困難であった。白金をグラッシーカーボンに適量修飾したグラッシーカーボン電極上では、1 μM 亜硝酸イオンが明確なシグナルを与えた。これはバックグラウンド電流に対するシグナルの比が改善されたためと考えられる。

第6章ではブレオマイシンモデルとしての Fe 錯体の特性評価について述べる。Fe 錯体にカルバマイド基を置換すると、Fe (III) 錯体の EPR スペクトルや吸収スペクトル特性には大きな相違は認められなかったが、Fe (III/II) 酸化還元電位は 90 mV 程度負電位側にシフトした。このことより、カルバマイド基置換によって Fe (II) 状態が安定化されることが推察された。

第7章ではブレオマイシンモデルとしての Cu 錯体の特性評価について述べる。水素原子をメチル基に置換した場合の Cu-錯体の性質の変化について検討を行った。Cu(II)錯体の構造は、置換されるメチル基の数が增加するほど四角錐から両三角錐へ近づいていくことが、結晶構造などから確認された。また、メチル基を置換すると Cu(II/I) の還元ピーク電位が正電位側へシフトし、Cu(I) 状態が安定化されることが推察された。

第8章ではブルー銅タンパク質モデルとしての、ポリチオエーテルおよびポリアザエーテル銅錯体の特性評価について述べる。両者の錯体は Cu(II/I) 電子移動過程において構造変化を伴った。シミュレーションにより構造変化速度を種々の条件化で評価した結果、構造変化速度が溶液中に共存するアニオンや溶媒に大きく影響されることが確認された。アセトニトリルはポリチオエーテル銅錯体の構造変化速度を加速する一方、ポリアザエーテル銅錯体の構造変化速度を抑制することが確認され、アセトニトリルの電子吸引性のためであると推察された。