

【2024年4月16日】
送付枚数 本票含め5枚

バケツ分子を被せて必須アミノ酸 L-フェニルアラニン高感度検出 ～表面増強フォトクロミズムを検出原理とする新規ラベルフリー比色定量法～

【発表のポイント】

- 必須アミノ酸のひとつである L-フェニルアラニンをラベルフリー高感度検出
- 既存の比色測定法・計測法を3桁上回る検出感度を達成
- POCT (Point-of-Care Testing) に対応可能な新しいラベルフリー比色分析システムとして期待



【概要】

山口大学大学院創成科学研究科（理学系）の安達健太准教授らの研究グループは、表面増強フォトクロミズム^{*1}を検出原理とする新しい比色定量法を開発しました。バケツ状分子であるシクロデキストリン誘導体により包接された L-フェニルアラニン (Phe) を無機酸化物半導体である三酸化タングステン(VI) (WO_3) の微粒子表面に吸着させると、 WO_3 の表面増強フォトクロミズムによる着色効果が飛躍的に高まることに着目し、既存の分光学的測定法や電流計測法における Phe の検出限界を3桁上回る高感度検出(検出限界 LOD: $3.2 \times 10^{-8} \text{ mol/dm}^3$) を実現しました。本研究結果は、 WO_3 微粒子をプローブとした表面増強フォトクロミズムに基づくラベルフリー比色分析システム^{*2} の設計と開発に興味深い話題を提供します。

本研究は、2024年4月15日（現地時間）に、米国化学会誌「ACS Omega」に掲載されました。

【論文情報】

論文名：Cyclodextrin-Assisted Surface-Enhanced Photochromic Phenomena of Tungsten(VI) Oxide Nanoparticles for Label-Free Colorimetric Detection of Phenylalanine

「フェニルアラニンのラベルフリー比色検出のためのシクロデキストリン支援
三酸化タングステン(VI)微粒子の表面増強フォトクロミック現象」

著者名：Kenta Adachi*, Hiro Azakami, Miyuki Yamauchi, Moeka Koshoji, Asami Yamamoto,
Shohei Tanaka

雑誌名：ACS Omega

公表日：2024年4月15日 (web-published)

DOI：10.1021/acsomega.3c09239

【研究背景】

「未病」という言葉を目にします。未病とは「いまだ病に至らぬ」状態を指し、健康と病気との領域を意味します。超高齢化社会となった現在、発症前に疾病の徴候を見つけ、適切な医療対応を受けることができれば、患者の生活の質の低下を引き起こさないだけでなく、医療費の抑制にも繋がります。疾病の徴候となる事象をより早期に、より簡単に捉えられるバイオマーカー^{*3}の測定技術の開発に期待が寄せられています。

アミノ酸は私たちの身体を形作る上で不可欠な有機化合物です。アミノ酸は、養源として食事によって摂取、あるいは体内で生合成され、代謝ネットワークにおける重要な化学物質です。血液を含め多くの生体サンプル中に比較的多量含まれるため様々な疾病バイオマーカーとして最適です。最近では、がんによって血清中のアミノ酸の濃度バランスが変化し、がんの種類によって特徴的なアミノ酸の変化パターンを示すことが報告されています。

【社会的意義】

必須アミノ酸のひとつである L-フェニルアラニン (Phe) は興奮性の神経伝達物質のドーパミン、ノルアドレナリン、アドレナリンの合成に関係しており、血圧を上昇させる作用があると報告されています。また生体試料中の Phe 濃度測定は、アミノ酸代謝異常症の一種であるフェニルケトン尿症の診断に有用であることから、様々な検出技術が開発されてきました。医療現場では必要に応じてリアルタイムに得られる測定データが求められます。しかし、既存の方法でサンプル中の Phe を検出するためには、Phe 分子の標識化 (ラベル化とも呼ばれる) などの煩雑な前処理操作が必要であるため、POCT (Point-of-Care Testing) ^{*4}に対応できる無標識 (ラベルフリー) で簡便・迅速に Phe を検出する新しい手法が待ち望まれていました。

【研究内容と成果】

ブドウ糖が環状に連なったオリゴ糖であるシクロデキストリンは、バケツのようなかたちをしています。シクロデキストリン分子の外側は親水性、内側は疎水性というユニークな化学特性を有しているため、様々な有機化合物をその分子内に閉じ込めること（包接）ができます。シクロデキストリンに包接されたアミノ酸化合物は、無機酸化物表面に強固に吸着すると知られていました。（図1参照）

本研究では、安達健太准教授らの研究グループにてこれまでに培ってきた「無機酸化物半導体微粒子による表面増強フォトクロミズム現象」に関する知見と「シクロデキストリンによるアミノ酸化合物の吸着促進効果」の研究事例をヒントに、新しい Phe のラベルフリー比色定量法を開発しました。

今回、Phe、シクロデキストリン誘導体、そして無機酸化物半導体である三酸化タングステン(VI) (WO_3) 微粒子を混ぜ合わせた3元系水溶液の、紫外線照射に伴う色調変化を調査しました。詳細な解析の結果、シクロデキストリン誘導体に包接された Phe 分子は、一般的な非共有結合性の外圏吸着ではなく、共有結合性の内圏吸着するため、 WO_3 微粒子表面に高濃度に濃縮されることを突き止めました。また、3元系水溶液への紫外線照射により顕著な色調変化（表面増強フォトクロミズム：無色透明→青色透明）を示しました。紫外線照射に伴うフォトクロミック着色速度と WO_3 微粒子表面に吸着濃縮された Phe 表面濃度との間の明確な線形関係の回帰分析により、Phe 濃度を定量可能であると実験的に証明しました。これにより、ラベル化のような煩雑な前処理や特別な装置を必要とせず、『Phe』・『シクロデキストリン誘導体』・『 WO_3 微粒子』の3成分を水中で混ぜ合わせ、紫外線照射による発現する表面増強フォトクロミズムの色調変化を観察するだけという単純かつ簡単な操作で高感度な Phe の定量を達成しました。（図2参照）

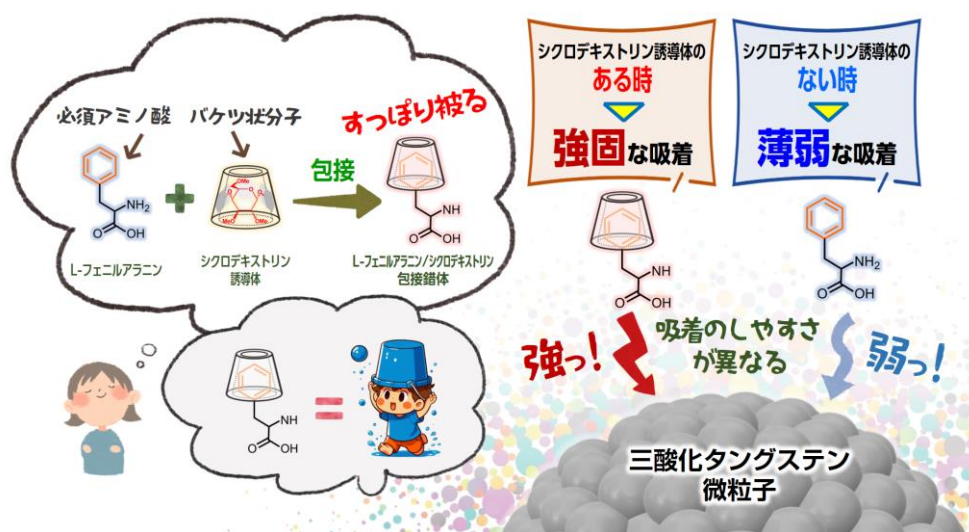


図1 (左図) シクロデキストリン誘導体が L-フェニルアラニンを含むイメージ図
(右図) L-フェニルアラニンが三酸化タングステン表面に吸着するイメージ図

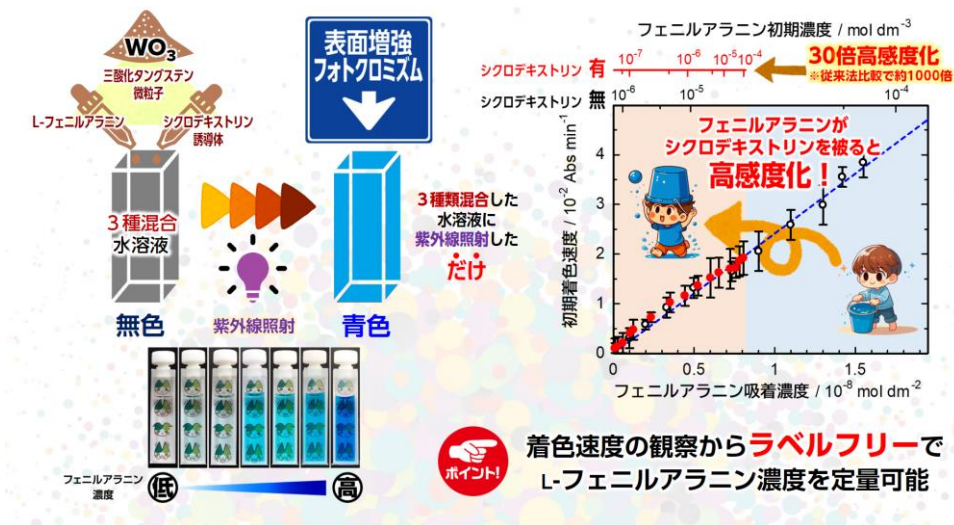


図2 表面増強フォトクロミズムを検出原理としたL-フェニルアラニンのラベルフリー定量法の概要

【今後の展開】

本実験結果から Phe の検出限界 (Limit of detection : LOD) は、 $3.2 \times 10^{-8} \text{ mol/dm}^3$ と見積られました。この値は、既存の分光学的測定法や電流計測法を3桁上回る検出感度です。表面増強フォトクロミズムを示す WO₃ 微粒子は、POCT に対応可能な新しいプローブ粒子として有用です。本研究グループでは、今後も表面増強フォトクロミズムを検出原理とした無機酸化物半導体微粒子のラベルフリー比色分析システムの開発を進めていく予定です。

【謝辞】

本研究の一部は、日本学術振興会、科学研究費補助金基盤研究(C)（課題番号：19K05525・22K05154）、JST 研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP)（課題番号：JPMJTM20GC）の助成を受けて実施しました。

【用語解説】

- ※ 1 **表面増強フォトクロミズム**：フォトクロミズム（photochromism）とは『単一の化学種が、光の作用により分子量を変えずに、色の異なる2つの状態間を可逆的に異性化する現象』を指す。無機酸化物半導体表面にカチオン供給性有機化合物が吸着することで、フォトクロミック特性が飛躍的に向上する現象。無機酸化物半導体ナノサイズ化させ比表面積を増加させることで、その現象は顕著となる。
- ※ 2 **比色分析**：呈色反応によって生じる色調変化から目的物質の濃度を定量する分析法。色の濃淡で濃度を判定するため、医学・食品分野における現場分析に広く利用されている。
- ※ 3 **バイオマーカー**：ある疾病の有無や、進行状態を示す目安となる生理学的指標。生物指標化合物とも呼ばれる。
- ※ 4 **POCT (Point-of-Care Testing)**：臨床現場即時検査。特別な大型機械や煩雑な前処理を必要とせず、小型分析器、迅速診断キット、体外診断薬などを用いて、患者の近くでリアルタイムに行う検査。病院や診療所などの医療現場や在宅医療などで行われ、結果を速やかに診療に活かすことができる。

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

山口大学大学院創成科学研究科（理学系学域）

准教授 安達 健太（あだち けんた）

E-mail：k-adachi@yamaguchi-u.ac.jp

<報道に関すること>

山口大学総務企画部総務課広報室

電話：083-933-5007

F A X：083-933-5013

E-mail：sh011@yamaguchi-u.ac.jp