

5-1552

「活性特異的濃縮基材と精密質量数による  
内分泌かく乱化学物質のスクリーニング法開発」

サブテーマ（2）

「活性選択的濃縮基材の作製とそれを用いた  
一次スクリーニングシステム構築に関する研究」

久保 拓也

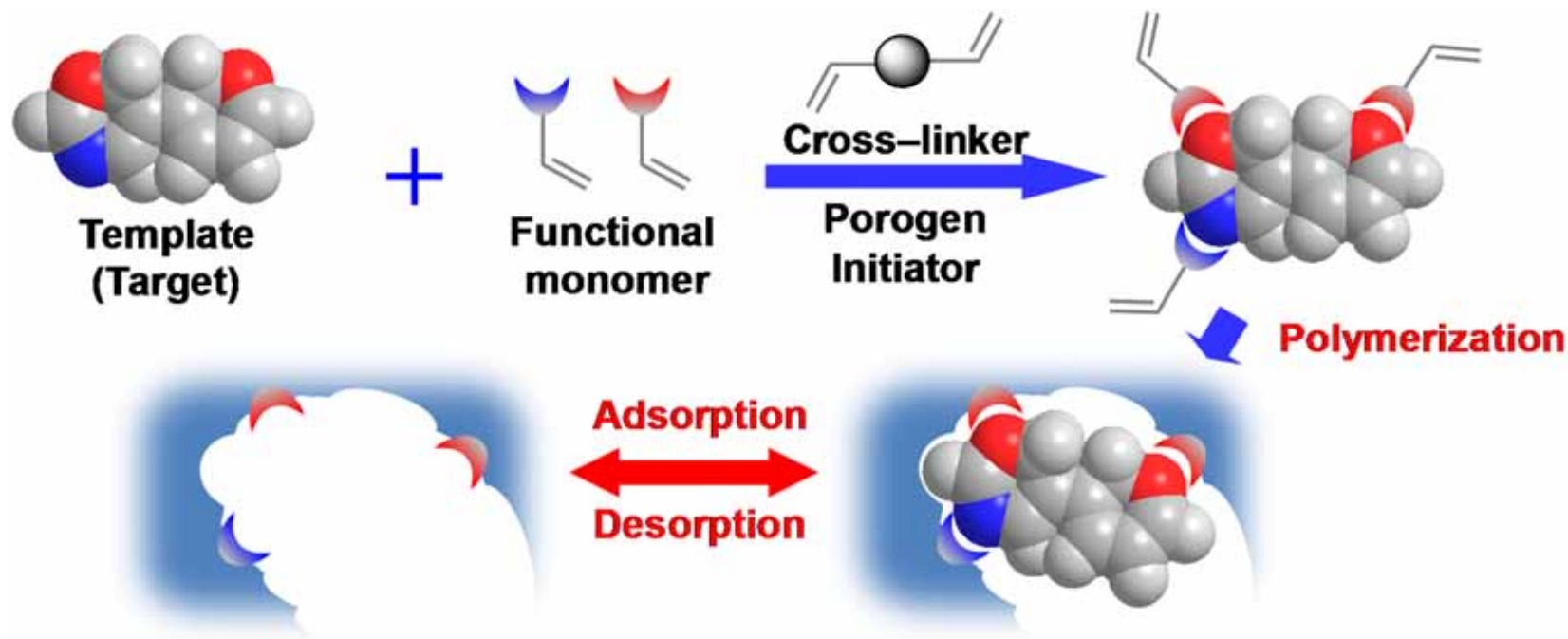
（京都大学 大学院工学研究科）



*Analytical Chemistry of Materials*  
Department of Material Chemistry  
Graduate School of Engineering  
*Kyoto University*

# 分子インプリント法について

## Molecularly Imprinted Polymer (MIP)

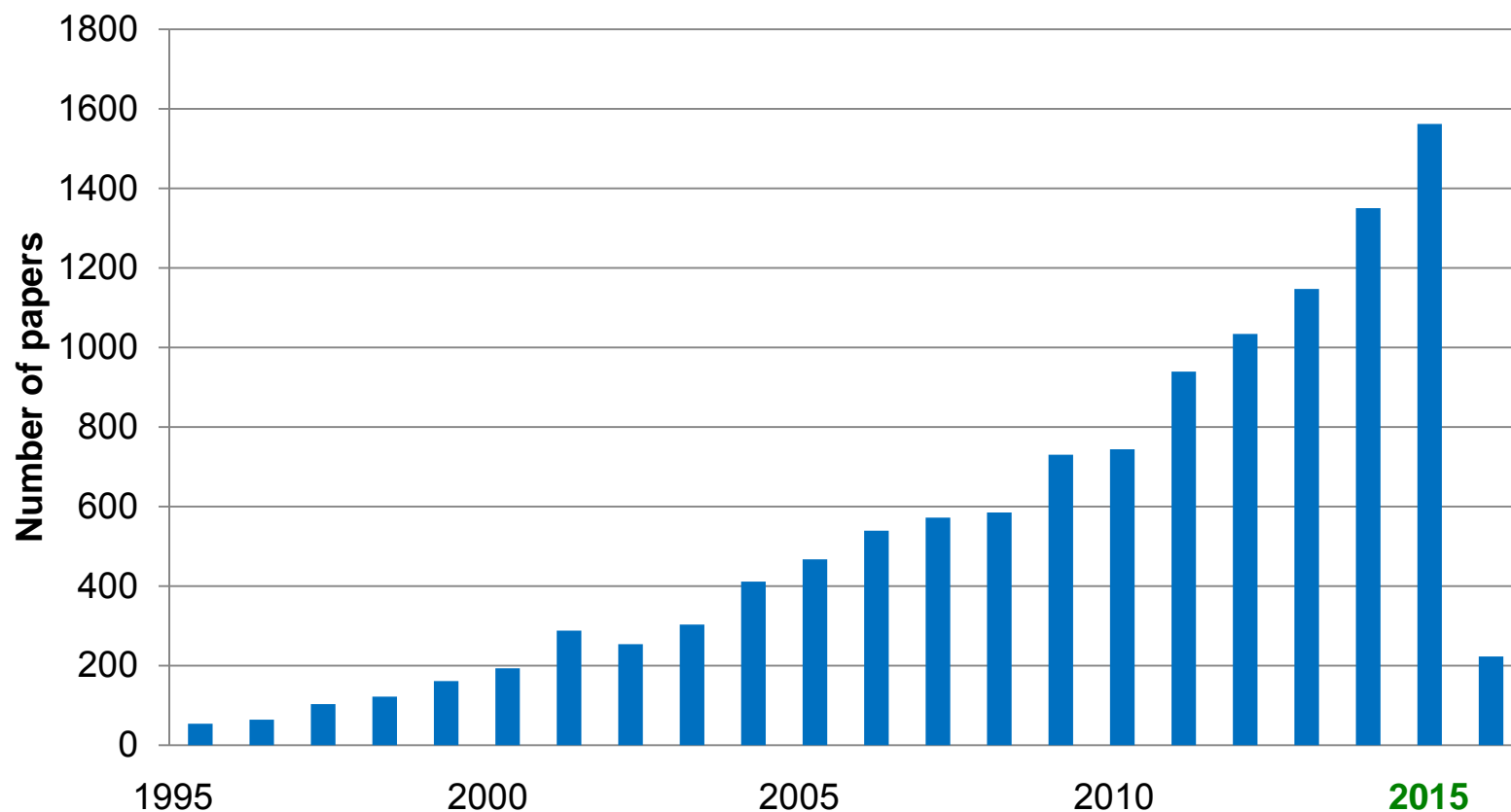


選択的な分子認識能をもつ材料

Ex. 環境・生体試料の分離剤，化学センサー，人工酵素・抗体，触媒



# MIPに関する学術論文数

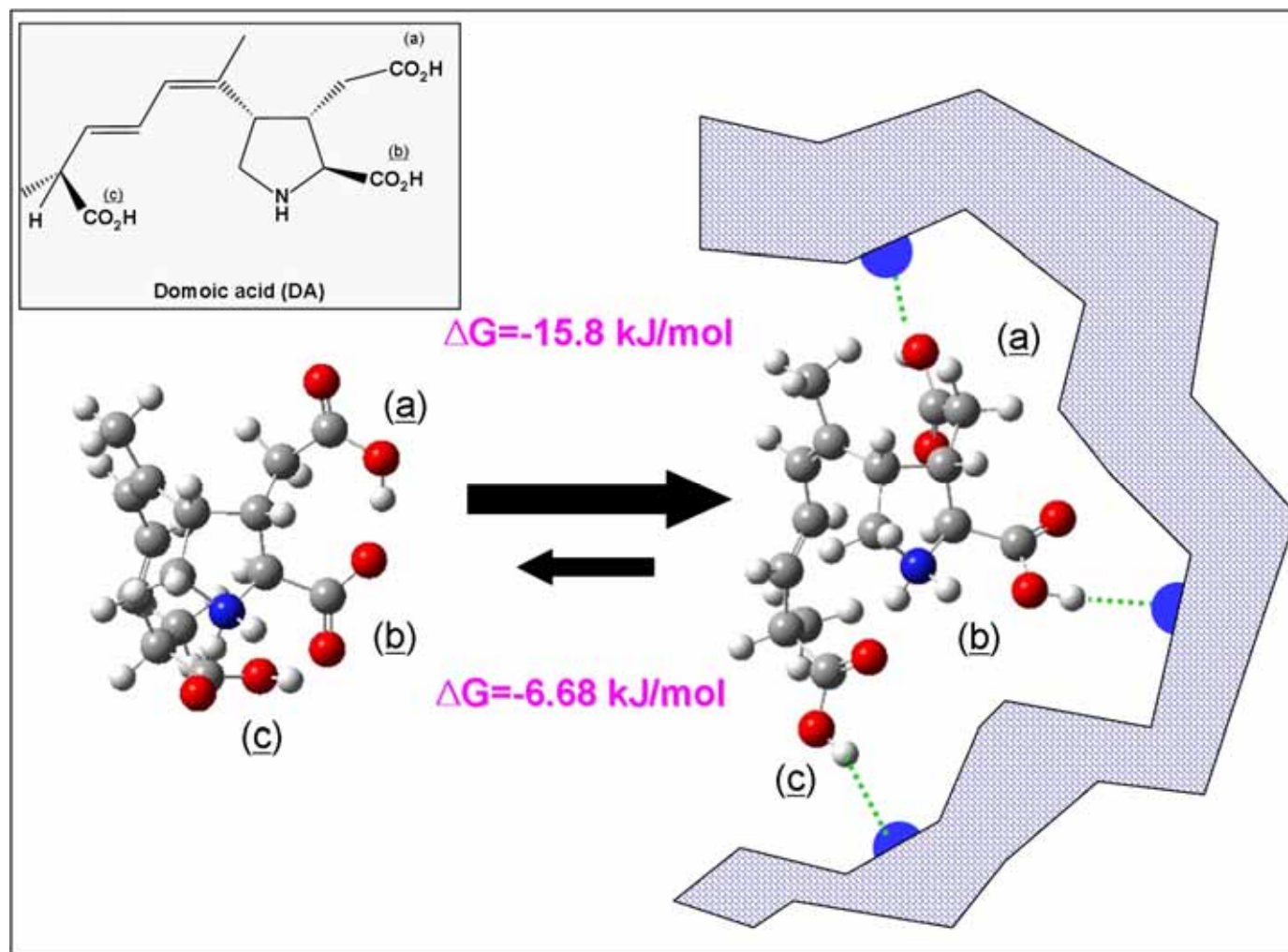


*J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 9358-9360. *Nature* **1993**, 361, 645-647. *Natl. Acad. Sci.* **1995**, 92, 4788-4792. *Nature* **1999**, 398, 593-597. *Nature* **2000**, 403, 286-289. *Adv. Mater.* **2013**, 25, 1048-1051. *Biosens. Bioelectron.* **2013**, 48, 113-119. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 1511-1514. *Plos One* **2013**, 8, e57681. *Langmuir* **2013**, 29, 9891-9896. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 5336-5339. *Adv. Funct. Mater.* **2013**, 23, 2821-2827.

*Macromolecules* **2015**, 48, 4081-4087; *Micropor. Mesopor. Mater.* **2015**, 218, 112-117; *Trends Anal. Chem.*, in press



# 天然毒物の選択的分離



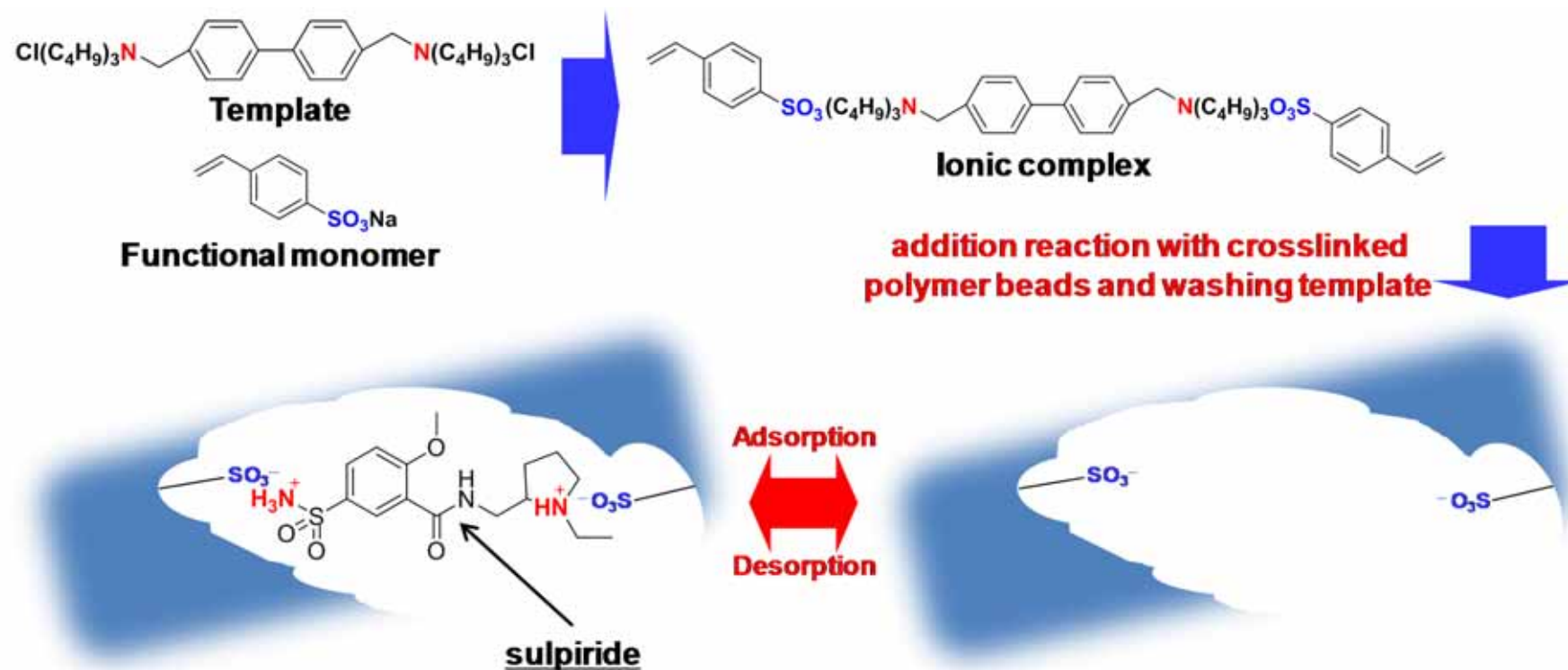
官能基間距離固定技術を提唱

*Anal. Chim. Acta* **2006**, 577, 1-7.  
*J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 13626-13632.

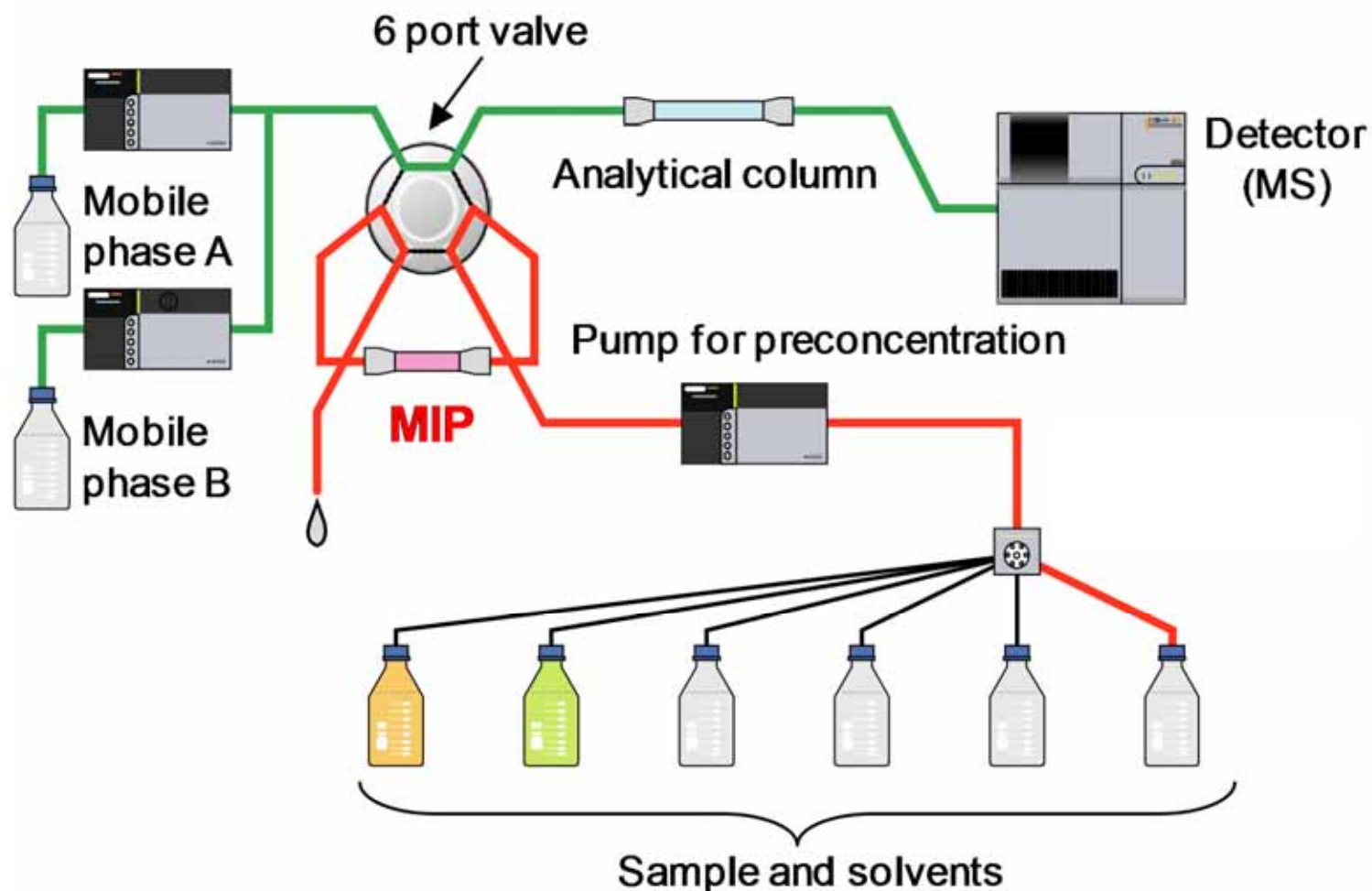


# 環境中のPPCP物質の微量分析

Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs)



# オンライン濃縮と定量分析



## Preconcentration

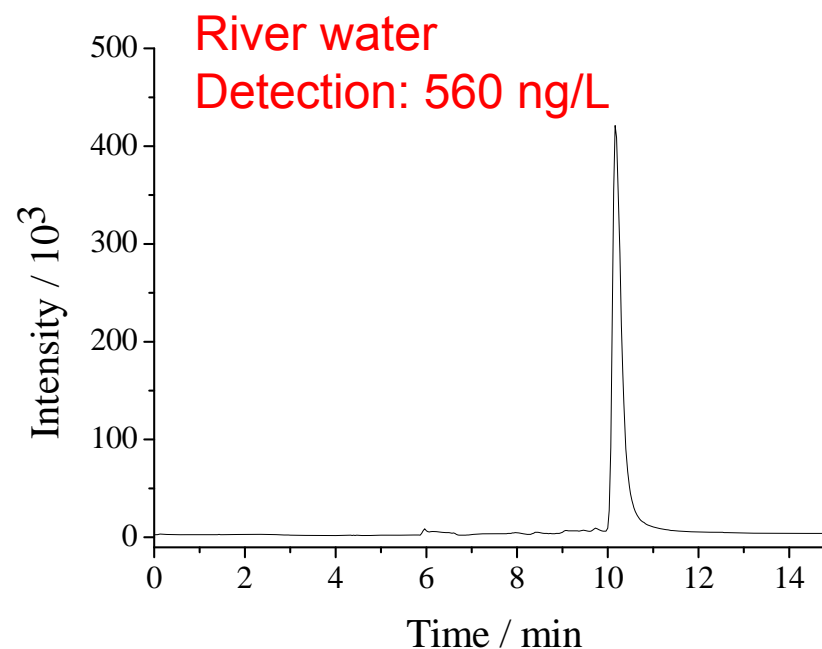
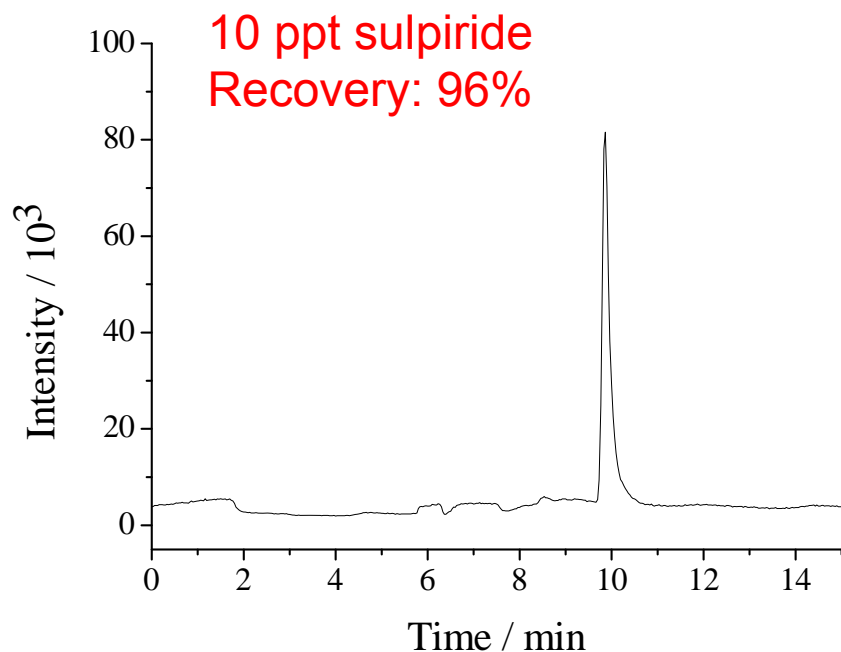
conditioning with water, 4 mL; **10 ppt sulpiride aqueous solution or river sample (Nishi-Tenjin river, Kyoto), 10 mL;**  
washing with water, 1 mL; washing with MeCN, 1 mL.





# 実試料中のスルピリドの検出 / 定量

オンラインカラムスイッチングシステムでの低濃度スルピリド水溶液および実試料前処理濃縮(西高瀬川, 京都市伏見区)



· LC

mobile phase, 100 mM formate buffer (pH 3.0) / acetonitrile = 2/8 (v/v); flow rate, 0.2 mL/min;  
column, TSKgel Amide-80 (150 mm × 2.0 mm i.d.); temperature, 40 °C.

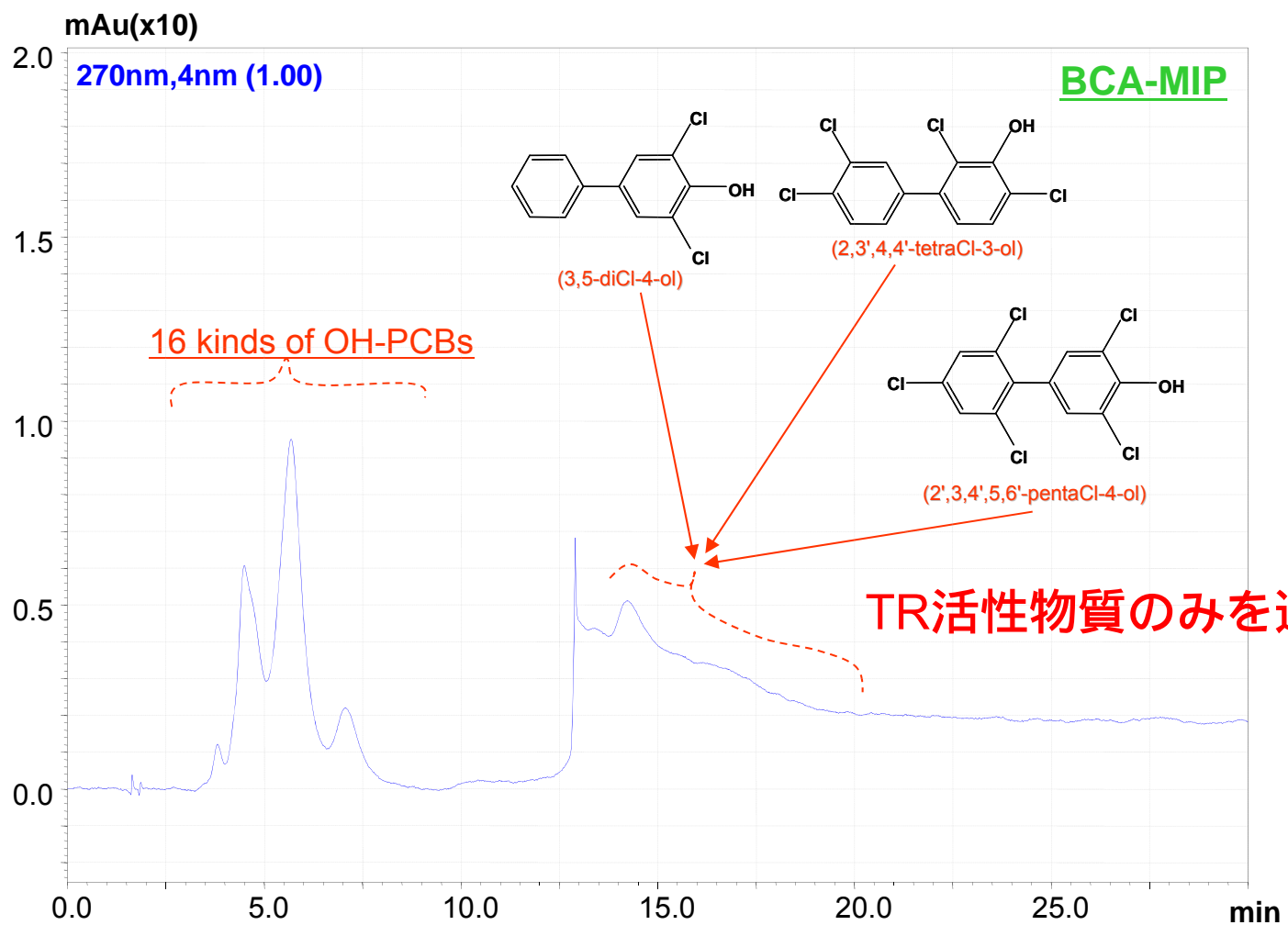
· MS

nebulizer gas, N<sub>2</sub>, 1.5 L/min; voltage of interface, 4.5 kV; voltage of detector, 1.5 kV; ionization method, ESI;  
detection:  $m/z = +342.05$ .

*J. Pharm. Biomed. Anal.* **2014**, *89*, 111-117.



# 活性特異的な分離例

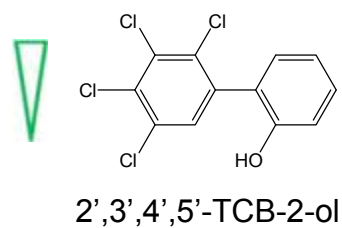
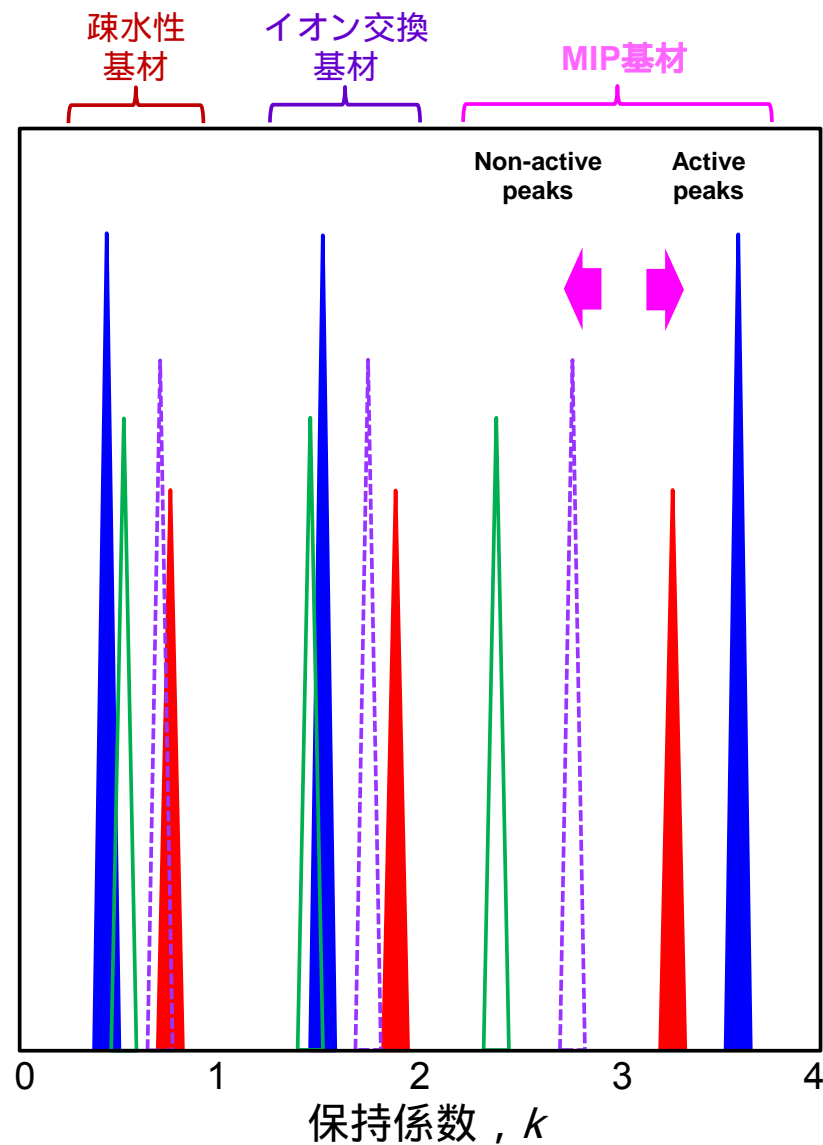


*Anal. Chim. Acta* 2007, 589, 111-117.

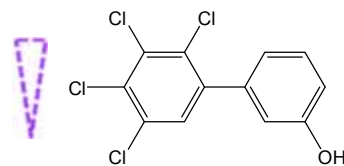




# モデル実験

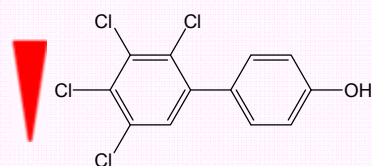


2',3',4',5'-TCB-2-ol

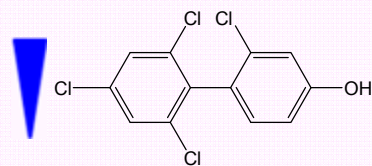


2',3',4',5'-TCB-3-ol

(ER結合活性なし)



2',3',4',5'-TCB-4-ol  
( $EC_{x10}=58nM$ ) 弱い



2,2',4',6'-TCB-4-ol  
( $EC_{x10}=6.3nM$ ) 強い

(ER結合活性あり)



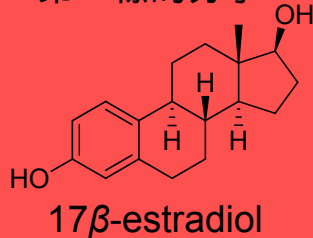
# 平成27年度研究計画

化学構造の類似するステロイド系化合物をその活性別に見分けるには、精密な三次元構造に基づく認識部位構築が求められ、本検討では、**高親水性架橋剤（ポリエチレングリコール、PEG骨格を含む）**および**ステロイド骨格を有する新規モノマー**を利用する。前者は、相対的な選択性を向上させるために他の疎水性物質の吸着を大幅に低減させる、後者は、ステロイド骨格同士の（疎水的）相互作用を狙うものである。さらに、アンドロゲン、エストロゲン、プロゲステロンそれぞれの**官能基に対して相互作用する機能性モノマーを網羅的に選定**し、得られた分子鑄型の吸着選択性を液体クロマトグラフィーまたはサブ（1）による受容体結合活性試験を用いて評価する。

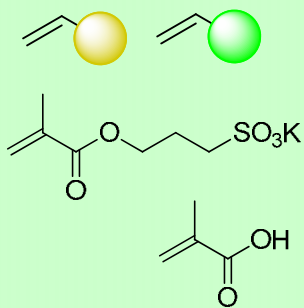


# 活性選択的濃縮基材の合成イメージ

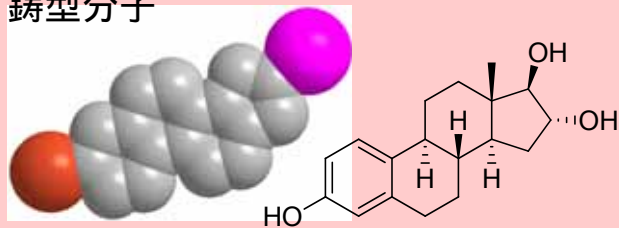
第一標的分子



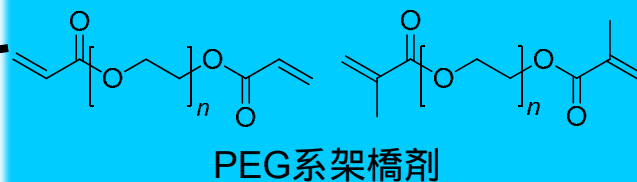
機能性モノマー



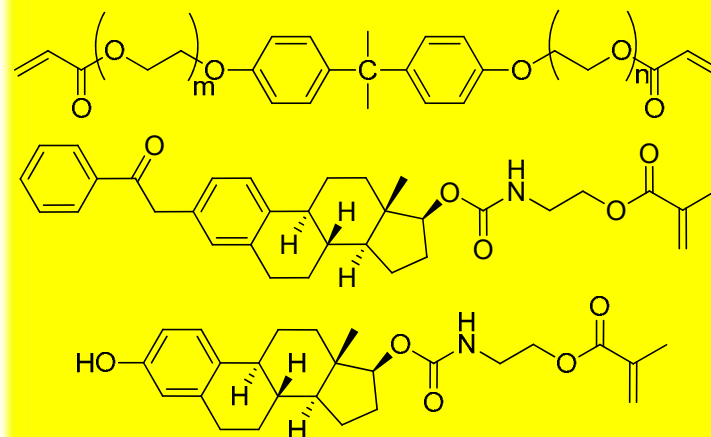
鑄型分子



超親水性マトリックス



皿形機能性モノマー

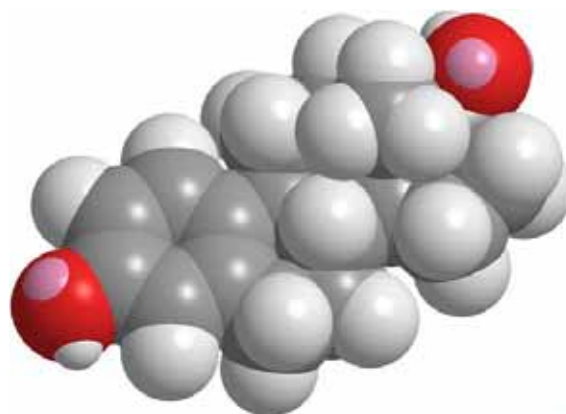
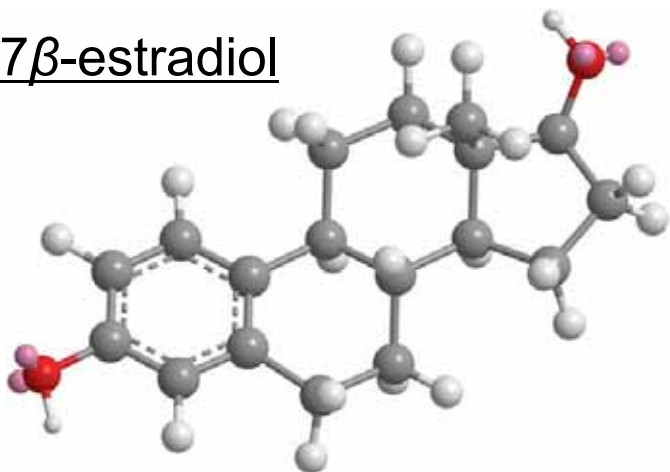


非特異的な疎水性吸着を極限まで低減し、ステロイド骨格の選択的捕捉を可能にする、新規濃縮基材の合成が可能に。

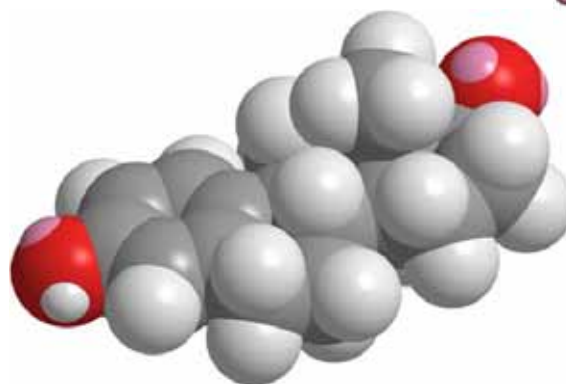
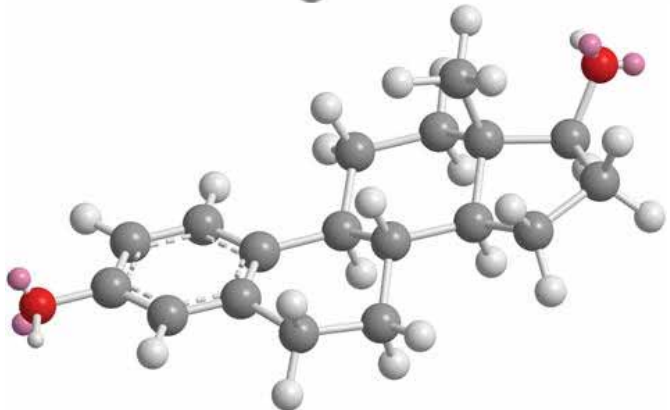
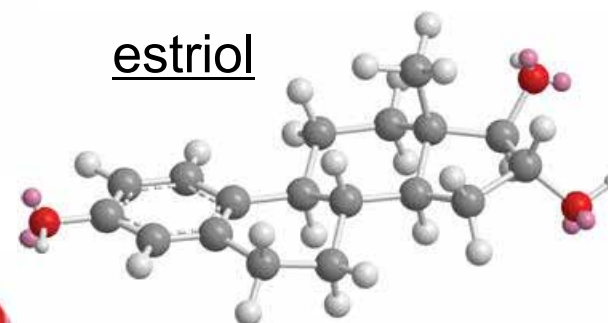


# 17 $\beta$ -estradiolの立体構造

17 $\beta$ -estradiol



estriol



hER $\alpha$  (-S9)

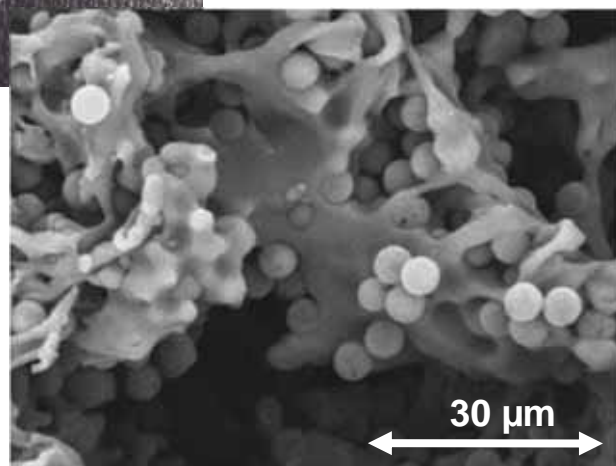
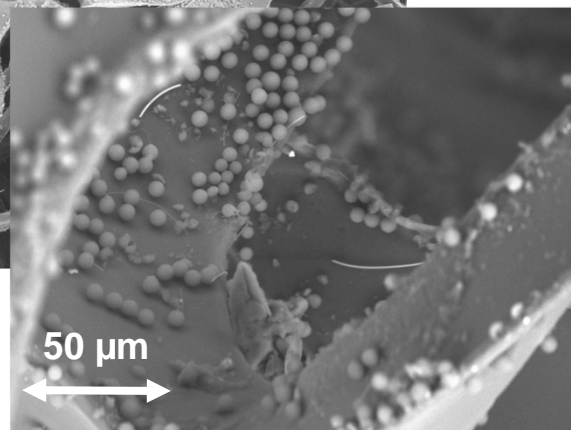
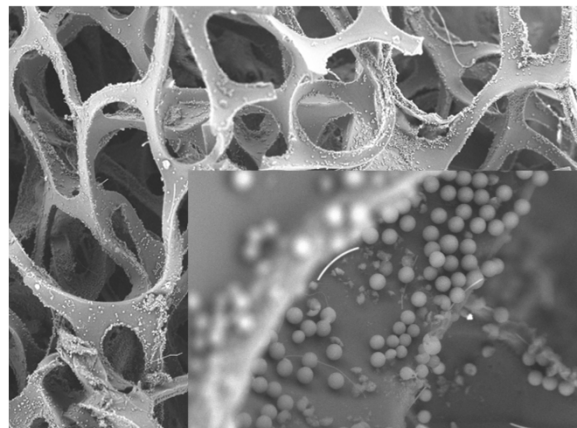
17 $\beta$ -estradiol: = 0.1

estriol: 26.4

17 $\beta$ -estradiolの精密立体構造を認識するエストロゲン受容体を模倣できれば，エストロゲン受容体活性物質の構造活性相関を導くことができる。



# 本研究における最終形態



ハイスループット  
短時間  
低コスト





# 内分泌かく乱作用に関する試験対象物質選定

