

D,L-アミノ酸の電気化学的個別検出

生体内ではアミノ酸を代表とするキラル化合物を巧みに識別して生命活動を維持している。多くのアミノ酸は電気化学的に不活性なため、キラル部位を識別した上で電気化学的に検出するには精密な分析系の設計が必要となる。

Kong¹⁾らは電気化学的に活性なフェロセン基 (Fc) とキラル中心を持つ Fc-(1S,2S)-*N*¹,*N*¹-ジメチルシクロヘキサン-1,2-ジアミン (Fc-(S,S)) を付加したクロロメチルスチレンポリマーをグラシックカーボン (GC) 電極上に滴下・固定し、0.5 mM のプロリン、アラニン、スレオニンをサイクリックボルタンメトリー (CV) によって検出した。最適な pH 6.5 の条件下でプロリン、アラニンでは L 体の電流値が高く、スレオニンでは逆になった。pH 6.5 以上ではアミノ酸のカルボシ基がイオン化し、Fc-(S,S) 基の二つのアミノ基と複合体を生成し、D,L 体によって立体配置が異なったために電流値に差が出たと考えられる。両者に差があることは、ガウシアンを用いた D,L-アミノ酸と Fc-(S,S) との複合体構造の最適エネルギー計算からも確認できた。

同様にシクロファン化合物 (ホスト) であるシクロピス (パラクアト-*p*-フェニレン) (CBPQT⁴⁺) を GC 電極上に修飾させた上で、銅イオン存在下 Fc-(S,S) を加え、アミノ酸 (スレオニン、ロイシン、ヒスチジン) を CV により検出できることが報告されている²⁾。L 体のアミノ酸と Fc-(S,S) からなる銅錯体は D 体よりも安定性が高いため、電極上の CBPQT⁴⁺ の穴に入ることができず D 体の電流値が L 体に比べて大きくなり、両者に差が生じた。一方、グルタミンは D 体と L 体の電流値の大きさが逆転した。これは銅錯体へのグルタミンの配位が他のアミノ酸と異なるためと考えられる。

これらの方法は、電気化学的に活性なフェロセン基を備えたキラル部位を 2 か所持つ化合物を用いて、アミノ酸との錯体の立体配置を巧みに制御することでフェロセン基の酸化還元電位に差が生じることを利用している。この方法はアミノ酸を誘導化することなく直接検出可能な方法である。またキラル化合物を捕まえるホストを巧みに設計することでアミノ酸以外のキラル化合物にも応用が期待できる。

- 1) D. Wu, C. Ma, F. Pan, Y. Tao, Y. Kong: *Anal. Chem.*, **93**, 10160 (2021).
- 2) D. Wu, F. Pan, L. Gao, Y. Tao, Y. Kong: *Anal. Chem.*, **92**, 13711 (2020).

[山口大学教育・支援機構 藤原 勇]

電極統合マイクロ流体デバイスを用いた
経上皮電気抵抗測定

Organ-on-a-chip は、マイクロ流体デバイスを用いて生体内に近い環境で細胞を培養し、生体組織を再現する技術である。創薬における候補物質のスクリーニングへの応用が期待されている。しかし、デバイス内の情報をリアルタイムに取得することが困難であるという課題が存在する。そこで、電気化学測定によるリアルタイム測定可能な電極統合型デバイスが提案されている。

創薬において、薬剤の細胞透過性は重要な項目であり、生体外での薬剤試験を実現するためには、適切な細胞バリア機能の再現が必要である。細胞バリア機能を測定する手法として、経上皮電気抵抗 (transepithelial electrical resistance: TEER) 測定がある。細胞層を介した二つの溶液間に交流電位を印加して得られるインピーダンスを測定することで、非侵襲かつリアルタイムに細胞バリア機能の測定が可能である。Henry らは、電極を統合した 2 チャネルのマイクロ流体デバイスを開発した¹⁾。細胞層の TEER や静電容量の測定が可能であり、それらの情報から上皮細胞に生じる密接な細胞間結合であるタイトジャンクションの形成や細胞分化の観測が可能であった。近年では、さらなる応用に向けて新たなデバイス開発が進んでいる。従来、電極はスパッタリングにより作製されており、高価であり手間がかかっていた。そこで、Bossink らは、流路横に白金線を挿入することで容易に電極を導入可能なデバイスを開発した²⁾。タイトジャンクションを形成するヒト結腸癌由来細胞株 (Caco-2) を培養して TEER 測定を行った結果、TEER 値とタイトジャンクション形成に関連があることが確認され、細胞バリア機能評価に有用であることが示された。また、従来はスルーポット性や多孔膜の存在により純粋な細胞層の TEER 測定が難しいという課題も存在した。そこで、Nicolas らは、40 組の流路を並列したハイスルーポットなデバイスを用いて TEER 測定を行った³⁾。また、流路間にはフェーズガイドが存在し、メニスカス形成によりそれぞれの溶液を隔てることができ、純粋な細胞層の TEER 測定が可能となった。Caco-2 を炎症性サイトカインに暴露させ、炎症性腸疾患を再現した結果、TEER 値が 50 % 低下した。さらに、炎症メディエーターの増加も確認され、炎症による影響を評価可能であることが示された。

これらの電極統合型デバイスは、薬剤スクリーニングの効率化・迅速化への貢献が期待される。また、TEER 測定のみならず、細胞代謝物の検出等にも利用可能であると考えられ、今後の幅広い活用が期待される。

- 1) O. Y. F. Henry, R. Villenave, M. J. Cronce, W. D. Leineweber, M. A. Benz, D. E. Ingber: *Lab Chip*, **17**, 2264 (2017).
- 2) E. G. B. M. Bossink, M. Zakharova, D. S. Bruijn, M. Odijk, L. I. Segerink: *Lab Chip*, **21**, 2040 (2021).
- 3) A. Nicolas, F. Schavemaker, K. Kosim, D. Kurek, M. Haarmans, M. Bulst, K. Lee, S. Wegner, T. Hankemeier, J. Joore, K. Domansky, H. L. Lanz, P. Vulto, S. J. Trietsch: *Lab Chip*, **21**, 1676 (2021).

[東北大学環境科学研究科 宇田川喜信]