総合論文

シグナル増幅センシング：アロステリズム機構が働く 化学センサの構築[†]

中舎 琴恵¹, 福原 学^{*1,2}

既存の化学センサの基本概念である鍵と鍵穴モデルに則ると、化学センサの認識部位が分析検体の構造に合致する必要がある。しかしながら、生体内での検出に目を向けると、検体及び化学センサが様々なコンフォメーションを有し、予想もできない溶媒和殻が形成される。この結果として、低感度・低選択性を付することが多々ある。このような従来法と相補的な代替戦略として、著者らは「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)手法を提唱した。本法の特徴は、精密な構造合致の必要がなく、アロステリズムを鍵過程として錯形成定数、ひいてはシグナル応答を増幅させることである。シグナル増幅リポーターとしてポリチオフェンやグルカンを用いることにより、これまでに分析が困難であったアミノ酸、ペプチド、オリゴ糖の高感度な検出を達成している。本稿では、このSASSの計測原理とその研究事例について紹介する。

1 緒言

一般的な化学センサは、標的である検体を感知しその情報を種々のシグナル(光学的あるいは電気化学的)として出力する。例えば、pH試験紙は標的である水素イオンを感知し、試験紙の色の変化からpHを判断できる。当然ながら、化学センサを用いる計測は検体の物質量と密接に関連してその難易度は変わる。では、検体が極微量の場合はどのように検出すればよいのだろうか。限られた微量の検体を計測するための最も単純な解は、シグナルを増幅することであろう。例えば、昨今の新型コロナウイルス感染症においてポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による検査が世界中で行われている¹⁾。PCR検査では、患者から得られたDNA中の特定領域を増幅させることで、少量のDNA検体からでもシグナル(検査結果)が得られる。PCRと同様に、抗原抗体反応の組合せを利用した酵素結合免疫吸着検査法(ELISA)も増幅計測の代表格である²⁾。これら既存の化学センサは、すべて、ある原理に基づいている。つまり、これまでに開発されてきた化学センサの多くは、1894年にEmil Fischerによって提唱された鍵と鍵穴モデル(lock-and-key principle)³⁾⁴⁾にしたがって構成されている。鍵と鍵穴モデルはその名のとおりに、鍵(検体)が鍵穴(化学センサの認識部位)にぴったりと合うことで検体の検出が可

能になるという計測モデルである。したがって、検体に対して認識部位のサイズや形を一致させることを最優先に指向しており、ある意味では非常にわかりやすい指針のため、提唱されて120年以上経った現在でも一般的な戦略とされている⁵⁾。

しかしながら、このように万能に思える鍵と鍵穴モデルにもやはり限界はある。例えば、PCRやELISA法には適用しづらい標的分子(糖鎖や小分子等)は、生体内のような夾きょうぎつ雑系水溶液中においては、様々なコンフォメーションをとることが容易に考えられる。このような動的な構造変化が起こってしまうと、鍵と鍵穴双方の形状が合致しづらくなり、計測能としては低感度・低選択性を供する。熱力学的観点から考えると、化学センサが検体とぴったり合致して錯形成を引き起こすということは、いかにして負に大きなエンタルピー変化、すなわち発熱させるかが重要になる。一方で、このような弱い相互作用が働く系(～10 kcal mol⁻¹)では、準熱力学関係であるエンタルピー・エントロピー補償則(Fig. 1)^{6)~8)}が適用できる。この法則に従うと、負に大きなエンタルピー変化が生じるほど、それを補償するエントロピー損失も同時に生じてしまう。つまり、化学センサと検体が完全に一致するような分子設計が施されていたとしても、そこに生じるエントロピー損失までは考慮されていない。結果として、強固な錯形成を期待して構築した化学センサであっても、いざ使用してみると、予想していた錯形成定数とは程遠い格差に落胆することが多々ある。このようなジレンマを抱えている鍵と鍵穴モデルと相補的な計測手法として、著者らは「超分子アロステリック

[†] 本論文は、急逝された内山一美先生(日本分析化学会前会長)に捧げるものである。

* E-mail: gaku@chem.titech.ac.jp

¹ 東京工業大学理学院: 152-8551 東京都目黒区大岡山 2-12-1

² JST さきがけ: 332-0012 埼玉県川口市本町 4-1-8

Fig. 1 Model example for an enthalpy-entropy compensation plot

Fig. 2 Concept and mechanism of supramolecular allosteric signal-amplification sensing (SASS)

Reproduced from ref. 17 with permission. Copyright 2020 Elsevier.

シグナル増幅センシング」(Supramolecular Allosteric Signal-amplification Sensing; SASS)を提唱している。本稿では、この計測原理と研究例について紹介したい。

2 SASS

超分子アロステリックシグナル増幅センシング (SASS) の最も重要な過程は、言わずもがな、アロステリズム伝播である。アロステリック効果とは生体内、特に酵素反応においてしばしば見られ、酵素の活性部位や基質結合部位とは異なる(遠隔の)結合サイトにエフェクターが結合することでその酵素活性が促進・抑制される現象である。なかでも血中のヘモグロビン四量体が有名な例である⁹⁾。エフェクターである酸素分子がヘモグロビンの一つ目の結合サイトに配位すると、二つ目の酸素分子を捕捉しやすい形へと構造変化を引き起こし、これを繰り返して次々に酸素分子の結合が促進されていく。このように結合が逐次的に促進されることを正のアロステリズムといい、反対に次第に抑制されていくことを負のアロステリズムという^{10)~13)}。一方、化学センサと検体との錯形成定数 (K) が増大すると、初期濃度範囲では観測したいシグナルは相対的に増幅して観測することができる¹⁴⁾。したがって本稿において、

Fig. 3 Illustrative SASS mechanism of the BPT sensor

Reproduced from ref. 19 with permission. Copyright 2010 Wiley-VCH.

アロステリック効果によって K が増加することと、シグナル増幅は同義として扱うものとする。著者らはこのアロステリック効果とそのシグナル増幅の関係性に着目し、柔軟な高分子主鎖をシグナルリポーターとして用いる増幅計測系を考案した。これは Fig. 2 に示したとおり、(1) 検体 (Analyte) を捕捉・包接することで認識部位の逐次的構造変化を誘起し (Supramolecular complexation), (2) この構造変化による検体認識情報をアロステリズム機構によって高分子主鎖へと伝播させ (Allosteric propagation), (3) 高分子リポーター (Amplifying Reporter) から増幅された分光シグナル (Amplified signal) を読み取るという計測手法である^{15)~17)}。以下の節では、生体関連物質であるアミノ酸やペプチド、オリゴ糖など様々な検体へと本法を適用した結果を述べる。

3 ポリチオフェンセンサ

3.1 ビナフトクラウンエーテル架橋ポリチオフェン (架橋型)

3.1.1 比色分析 この SASS の実証のためにはシグナル増幅リポーターの選定が重要となる。この候補として、適切なコンフォメーション変化を起こし、それに伴って分光シグナルが変化することが知られている共役ポリマーのポリチオフェン (PT)¹⁸⁾を選択した。生体関連物質を標的とし、アミノ酸塩酸塩や塩化アセチルコリンなどのカチオン包接によって SASS が発動するように、主鎖に上述のとおり選定した PT、側鎖にキラルなビナフトクラウンエーテルを架橋した BPT を合成したので紹介する (Fig. 3)¹⁹⁾。このポリマー化学センサでは、ビナフトクラウンエーテルの空孔が検体であるキラルカチオンを包接することで PT 主鎖の構造変化を誘起し、アロステリズムによって主鎖上へと認識情報を伝播させ、結果として増幅したシグナル (本系では吸収スペクトル変化) を読み取る。D 体のアラニンメチルエステル塩酸塩を検体として BPT の

Fig. 4 (a) UV/vis spectral changes of a dichloromethane solution of **BPT** upon the gradual addition of **D-Ala-OMe·HCl**. (b) Nonlinear least-squares fit, assuming the 1:1 stoichiometry, to determine the binding constant

Data were extracted from ref. 19.

ジクロロメタン溶液に滴定した場合、短波長側で濃色効果、長波長側では淡色効果が観測され、スペクトル全体は短波長シフトした (Fig. 4a)。これはPT主鎖が *anti* から *syn* へとねじれ、共役長が短くなったことを示唆している。モノマーユニットと1:1の錯組成であることを仮定した非線形最小二乗法により K を求めると 93500 M^{-1} であった (Fig. 4b)。モノマーセンサに対する同検体の K は 2320 M^{-1} であることから、40 倍増幅されていた。同様の滴定実験をバリン、ロイシン、プロリン、フェニルアラニンのメチルエステル塩酸塩及び塩化アセチルコリンを標的として行ったところ、これらの K は $10^4 \sim 10^5 \text{ M}^{-1}$ であり、 μM オーダーでの検出が可能であった。さらにこの **BPT** センサの面白いところは、キラルなビナフチルを用いているためキラリティーセンシングも可能である。実際にバリン誘導体のエナンチオマー対を検体に用いたところ、7.3 という比較的高いエナンチオ選択性 (K_D/K_L) を示した。

3.1.2 蛍光分析 次にこの **BPT** センサが蛍光性であることを利用して、本質的に感度のよい蛍光シグナルによる計測を行った²⁰⁾。検体としては蛍光消光性、かつ光学活性な α -メチル-4-ニトロベンジルアミン ((*R*)- or (*S*)-**MNBA**) を選択した。前項と同様に吸収スペクトルによって滴定実験を行ったところ、基底状態での K_R は 2.83×10^5

Fig. 5 Fluorescence spectral changes of dichloromethane solutions of **BPT** excited at 395 nm with (a) (*R*)-**MNBA** and (b) (*S*)-**MNBA**

Data were extracted from ref. 20.

M^{-1} , K_S は $1.31 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ であり、エナンチオ選択性 (K_R/K_S) は 2.16 と求められた。これらの吸収スペクトルの滴定時には 395 nm の等吸収点が観測されたため、蛍光スペクトル滴定の際にはこの波長を励起波長として蛍光滴定を行った結果、*R* 体のほうが大きく消光された (Fig. 5)。これらの蛍光消光データを定量的に解釈するために Stern-Volmer 解析 ($I_F^0/I_F = 1 + k_q\tau^0[\text{MNBA}]$; I_F^0 , I_F は標的非存在下・存在下での蛍光強度; k_q は蛍光消光速度定数; τ^0 は標的非存在下での蛍光寿命) を行い、このプロットの傾きから Stern-Volmer 係数 ($K_{SV} = k_q\tau^0$) を求めたところ、 1450 M^{-1} (*R* 体)、 650 M^{-1} (*S* 体) であった。したがって、励起状態でのエナンチオ選択性 (k_{qR}/k_{qS}) は 2.23 と算出され、基底状態での値とよく一致した。これは消光過程が静的であり、エナンチオマー間での差がないことを意味している。実際に **BPT** のみの蛍光寿命 (τ^0) を時間相関単一光子計測から求めると 2.6 ns であったことから、それぞれの消光速度定数は $5.6 \times 10^{11} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (*R* 体)、 $2.5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (*S* 体) であった。これらの値は、溶媒であるジクロロメタンの拡散速度定数 ($1.5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) より 1 桁速いことから、ビナフトクラウンエーテル空孔内での静的消光であることは明らかであった。

3.2 シクロデキストリン修飾ポリチオフェン (側鎖型)

これまでの2例は有機溶媒中での計測であったが、SASS法を水溶液中での計測に拡張するため、完全メチル化 α -シクロデキストリンを側鎖に修飾したPT (**CDPT**) を合成した (Fig. 6)²¹⁾²²⁾。本項は、検体をアミノ酸及びペプチドに設定し、シクロデキストリン空孔にペプチドのアミノ酸残基が包接した際にPTの構造変化が誘起される系である。このSASSシナリオは、シクロデキストリン・ペプチド (アミノ酸残基) 錯体の疎水性が高くなり、疎水相互作用によってPT主鎖へと凝集することが主鎖全体の構造変化を引き起こし、続くシグナル増幅が観測されるというものである。Fig. 7は、**CDPT** の50%メタノール水溶液にL-フェ

Fig. 6 Illustrative SASS mechanism of the **CDPT** sensor

Reproduced from ref. 21 with permission. Copyright 2012 Wiley-VCH.

Fig. 7 UV/vis spectral changes of a 50 % aqueous methanol solution of **CDPT** upon the gradual addition of **L-Phe-OMe·HCl**

Data were extracted from ref. 21.

ニルアラニンを添加していった吸収スペクトルの滴定結果である。標的検体を加えるにつれて長波長側で淡色効果が観測され、これは**BPT**の場合と同様にPT主鎖が*anti*から*syn*へとねじれたことを意味する。計測結果として、種々のアミノ酸やジペプチド類の*K*も 10^5 程度と算出され、モノマーユニット（シクロデキストリン）の*K*と比較すると数千～万倍増幅されていた。興味深いのは、協同性の指標であるHill係数(*n*)が1.8と正の協同性（ホモトロピックアロステリズム）を示した。さらに、ジペプチドのキラル認識評価を行ったところ、フェニルアラニルフェニルアラニンのエナンチオ選択性($K_{D(D)}/K_{L(L)}$)は13.7と、シクロデキストリンをキラル認識部位として用いた場合ではかなり高い値を示した。この原因についての詳細はまだわかっていないが、アロステリズムが働いていることと無関係ではないだろう。

3.3 ビスチオウレアービナフチルーポリチオフェン(連鎖型)

これまで紹介してきた例のように、PT主鎖がSASSを発揮するリポーターであることはある程度わかってきたが、

Fig. 8 (a) Chemical structure of **BBP** and (b) illustrative SASS mechanism of the **BBP** sensor

Reproduced from ref. 14 with permission. Copyright 2020 American Chemical Society.

その増幅機構の起源については未解明であった。ごく最近、このSASSの実証及びその機構の全貌を解明したので、それについて紹介する¹⁴⁾。モデル検体としてフタル酸類及びその塩の包接に伴うピチオフェンモノマーユニットのS-C-C-S二面角変化をPT主鎖へと伝播させる計測系の構築のため、検体の認識部位にアニオンとの錯形成でよく知られるチオウレア基、錯形成に伴う認識情報を伝播させるトランスデューサーとしてビナフチルを導入したPT誘導体(**BBP**)を化学センサとして設計した(Fig. 8a)。初めにモノマーユニットを用いてクロロホルム中でフタル酸類とその塩の錯形成実験を行ったところ、検体の滴下に伴い吸収スペクトルが長波長シフトした。また*K*の温度変化をもとに各種熱力学パラメーターを算出したところ、フタル酸類の場合、 ΔH° 及び ΔS° がともに負の値であることから一般的なエンタルピー駆動による錯形成であることが判明した。一方、ジアニオンを検体とした場合、 ΔS° が正の値であることから錯形成に伴うジアニオンの大きな脱溶媒和が示唆された。次に**BBP**の錯形成挙動を吸収スペクトル測定で調査したところ、検体の滴下に伴い345 nmに等吸収点を持ち370 nm付近のPTの π - π^* 遷移由来の吸光度が減少した。この結果から、**BBP**は検体の錯形成に伴い二面角が*syn*から、より*syn*にねじれたことが示唆された。モノマーユニットの*K*と**BBP**を比較すると5～15倍に増幅しており、低濃度領域において分光シグナル応答の増幅が観測された。種々の分光結果と熱力学的解析から**BBP**のセンシング機構はFig. 8bのように説明される。まずエフェクターとして1分子目のジアニオン検体が錯形成することで、より*syn*へのねじれを生じさせ(i → ii)、その構造変化がチオウレア主鎖に伝播し、結果として遠隔位のビスチオウレア認識部位の閉口(Tight)が誘起される(ii → iii)。このタイトな認識部位が次の錯形成を促進し、正のホモトロピッ

Fig. 9 (a) Chemical structures of Cur, **DABz-Cur**, and Acarbose. (b) CD spectral changes of **DABz-Cur** in DMSO (broken line) and in 1:9 (v/v) DMSO-H₂O in the absence (dotted line) and presence (solid line) of acarbose (30 mM)

Data were extracted from ref. 28.

クアロステリズムが発現した。

4 グルカンセンサ

前章で述べてきたアミノ酸やペプチド分析と同様に、水中での糖鎖計測は、分析化学の観点からはもちろん医学の見地においても検査・診断・治療を行ううえで非常に重要なトピックである²³⁾²⁴⁾。このように重要な領域ではあるものの、計測が非常に困難であり問題点が山積している。とりわけ難しいとされている理由として、糖鎖が多様な立体化学やコンフォメーションを有していること、強く水和して化学センサと結合しにくいなどが挙げられる¹⁵⁾²⁵⁾。著者らは、このような問題点を解決できるレセプターとして多糖であるグルカンに着目している。 β -1,3結合で連なったグルカンは、他の多糖であるアミロース (α -1,4) やセルロース (β -1,4) とは異なり、ジメチルスルホキシド (DMSO) 中ではランダムコイルを、水中では三重らせんを形成するという非常に面白い特徴をもつ²⁶⁾²⁷⁾。この興味深いグルカンを化学センサとして用い、その構造変化を利用して水溶液中での高感度な糖鎖計測を達成したので紹介する。

4.1 ジメチルアミノ安息香酸修飾カードラン (修飾型 1)

初めに報告した例は、グルカンのなかでも扱いやすいカードラン (Cur; Fig. 9a) に分光リポーターとしてジメチルアミノ安息香酸 (DABz) を修飾した **DABz-Cur** である (Fig. 9a)²⁸⁾。水溶液中での糖鎖計測シナリオは、次のとおりである。ランダム構造をとっている Cur の DMSO 溶液に水を添加すると、徐々に Cur が三重らせんを再構築していく。この巻きなおしの際に、水中に糖分子を添加しておくと Cur の水素結合ネットワークに糖分子も同時に取り込まれながら高分子錯体の構造変化が生じる。この構造変化を分光リポーターに伝播させ、円二色性 (CD) スペクトルから定量する方法である。後述するが、のちの詳細な原子間力顕微鏡 (AFM) の調査により、この糖分子を取り込みながら巻きなおした Cur 鎖は、三重らせんではなく glob-

ule であった²⁹⁾。Fig. 9b から、DMSO 中の **DABz-Cur** は分子内電荷移動帯で非常に弱い負の Cotton 効果を示し、ランダムコイル状態であることがわかった。一方、10 % DMSO 水溶液では同吸収帯において負のエキシトンカップリングが観察され、発色団同士が平均的に左ねじれで配向している globule であることが示唆された。この **DABz-Cur** センサは、四糖であるアカルボース (Fig. 9a) を特異的に検知することが可能である。アカルボースは、II 型糖尿病や肥満の治療薬として用いられている一方で、副作用軽減のために血中での正確な定量が求められている³⁰⁾。**DABz-Cur** の 10 % DMSO 水溶液にアカルボースを添加した CD スペクトル (Fig. 9b) では、非存在下と比較して CD 強度が大きく減少したことから **DABz-Cur** とアカルボースとの相互作用によって生じた globule の構造変化を分光学的に読み取れた。アカルボース以外の 23 種の糖についても同様に調べたところアカルボースにおける高い選択性が示されるとともに、検出限界 (LOD) は 10 mM であった。この研究から、グルカンを化学センサとする水中での糖鎖計測のさらなる可能性が示された。

4.2 ポルフィリン修飾カードラン (修飾型 2)

前項の **DABz-Cur** センサでの課題として、検出波長が^{けっしょう}血漿中のタンパクの吸収帯に重なることが挙げられた。本項ではこれを避け、なおかつさらなる感度向上を目指し、分光リポーターとして生体系の波長に適したポルフィリンを修飾した **Por-Cur** センサ (**H₂Por-Cur**, **ZnPor-Cur**, **AlPor-Cur**, **AlTPP-Cur**) を合成した (Fig. 10a)²⁹⁾³¹⁾。ポルフィリンは可視部に強い吸収 (Soret 帯) をもつため、可視領域での励起子カップルリポーターとして機能する。いずれの **Por-Cur** センサにおいても DMSO 中では Soret 帯に非常に弱いエキシトンカップリングを示した。予想に反し、10 % DMSO 水溶液中での CD スペクトルのエキシトンカップリングの振幅は小さく、吸収スペクトルでのピークのブロードニング及び淡色効果が見られたことから、修飾ポルフィ

Fig. 10 (a) Chemical structures of **Por-Cur**. The net changes of couplet amplitudes (ΔA) in (b) **AlPor-Cur** and (c) **H₂Por-Cur** as a function of acarbose concentration
 Data were extracted from refs. 29 and 31.

Fig. 11 (a) Chemical structures of **PyPT**, **SPG**, and **6BG3**. (b) CD spectra of a 1:9 (v/v) DMSO-H₂O solution of **PyPT** and Cur in the absence (dotted line) and presence (solid line) of 1.0 μM acarbose
 Data were extracted from ref. 32.

リン同士のスタックが示唆された。これらの分光学的知見と AFM による直接観測からすべての修飾 Cur において水溶液中で globule になることが明らかとなった。実際に 10 % DMSO 水溶液中でアカルボース計測を行ったところ、**AlPor-Cur** では標的濃度に対して CD カップルの振幅強度が直線的に負方向へと増加し (Fig. 10b), **AITPP-Cur** での LOD も 100 μM とよい感度を示した。興味深いことに、ある置換度 x の **H₂Por-Cur** を用いた場合、標的濃度に対してシグモイド曲線を示し (Fig. 10c), かなり大きな Hill 係数 ($n = 10.2$) が観測されたことから正の協同性が働いていることが明らかとなった。したがって、オリゴ糖計測において正のアロステリズムによる増幅センシング、いわゆる SASS の適用が可能であった。

4・3 *in situ* グルカンセンサ (混合複合型)

本項では、このグルカンセンサに SASS 機構を積極的に適用し、系中で混ぜるだけで形成される *in situ* センサの例を紹介する³²⁾³³⁾。新海らの先行研究によると、Cur と同じ β -1,3-グルカン類であるシゾフィラン (SPG; Fig. 11a) と水

溶性 PT が異種三重らせん構造を形成し、大きなエキシトンカップリングシグナルを与えることが明らかにされている³⁴⁾。この事実に着目し、アカルボースレセプターとして未修飾の天然 Cur を選択し、そのシグナルを増幅できるリポーターとして水溶性 PT (**PyPT**; Fig. 11a) を合成した。Cur の DMSO 溶液に **PyPT** 水溶液を添加していくと、**PyPT** の π - π^* 遷移に強い正のエキシトンカップリングが観測された。これにより [**PyPT**・Cur] の錯形成が示唆され、見かけの K は 24300 M^{-1} であった。この [**PyPT**・Cur] 複合体を用い、10 % DMSO 水溶液中でアカルボースの計測能を評価した。アカルボースの添加によりエキシトンカップリング強度が増加したことから (Fig. 11b), *in situ* 錯体にアカルボースが取り込まれることで、PT 主鎖がさらにねじれることが示唆された。本系での LOD は 1 μM と、これまでのグルカンセンサよりも高感度であり、より発展的な SASS を実証した。のちの詳細な検討により、Cur と **PyPT** は静電相互作用で錯形成することが明らかになった。DMSO 中でランダムコイル状の Cur に **PyPT** 水溶液を添加すると、Cur の三重らせんのうち一本鎖が **PyPT** に置き換

わった [PyPT·(Cur)₂] の異種三重らせんを形成した。さらにこの異種三重らせんは熱・pH・塩などの外部刺激によって [PyPT·Cur] の異種二重らせんへと構造変化を起こし、その高次構造は動的に制御可能であることが明らかになった。本 *in situ* 錯体を用いるアカルボース計測においては、pH 変化を加味しなければならないという重要な知見も得られた。Cur や SPG と同じ β -1,3-グルカン類である 6BG3 (Fig. 11a) を用いた場合では、6BG3 が PyPT と異種二重らせんを形成し、その高次構造もまた pH 変化によって動的に制御可能であることが明らかになった³⁵⁾。このように外部刺激に応答する動的制御可能な化学センサは、今後も糖鎖計測やドラッグデリバリーシステムなど様々な分野への展開が期待される。

5 結 言

本稿では、従来の鍵と鍵穴モデルと相補的、あるいは^{りょう}凌駕^ができる可能性を秘めている分析戦略として、「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) について紹介した。本手法の最大の特徴は、やはり化学センサの認識部位を分析検体に合わせてあらかじめ構造を合致させておく必要がないことであり (non-preorganize)、正のアロステリズムを利用した錯形成定数 (K) の増加に伴うシグナル応答を増幅させることにある。この考え方によって、これまで分析が困難であったアミノ酸、ペプチド、オリゴ糖 (特にアカルボース) の高感度な計測を達成した。本手法がこれまでの化学センサの概念を覆し、新たな分析戦略の基礎となれば望外の喜びである。

謝 辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金「若手研究 (スタートアップ)」(20850023)、「若手研究 (B)」(23750129)、「挑戦的萌芽研究」(26620061)、「若手研究 (A)」(JP16H06041)、「基盤研究 (B)」(19H02746) 及び戦略的創造研究推進事業 (JST) さきがけ (JPMJPR17PA) の支援によりなされたことを付記し、ここに謝意を表します。

文 献

- 1) F. J. G. de Abajo : *medRxiv.*, 20037663 (2020).
- 2) S. X. Leng, J. E. McElhaney, J. D. Walston, D. Xie, N. S. Fedarko, G. A. Kuchel : *J. Gerontology: Series A.*, **63**, 879 (2008).
- 3) E. Fischer : *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **27**, 2985 (1894).
- 4) D. E. Koshland, Jr. : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **33**, 2375 (1994).
- 5) K. P. McDonald, Y. Hua, S. Lee, A. H. Flood :

- Chem. Commun.*, **48**, 5065 (2012).
- 6) J. E. Leffler : *J. Org. Chem.*, **20**, 1202 (1955).
- 7) M. V. Rekharsky, Y. Inoue : *Chem. Rev.*, **98**, 1875 (1998).
- 8) D. H. Leung, R. G. Bergman, K. N. Raymond : *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 2798 (2008).
- 9) I. Tyuma, K. Imai, K. Shimizu : *Biochem.*, **12**, 1491 (1973).
- 10) S. Shinkai, M. Ikeda, A. Sugasaki, M. Takeuchi : *Acc. Chem. Res.*, **34**, 494 (2001).
- 11) L. Zhu, E. V. Anslyn : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 1190 (2006).
- 12) C. G. Oliveri, P. A. Ulmann, M. J. Wiester, C. A. Mirkin : *Acc. Chem. Res.*, **41**, 1618 (2008).
- 13) J. R. Williamson : *Nat. Chem. Biol.*, **4**, 458 (2008).
- 14) T. Tsuchiya, G. Fukuhara : *J. Org. Chem.*, **85**, 13239 (2020).
- 15) G. Fukuhara : *Polym. J.*, **47**, 649 (2015).
- 16) G. Fukuhara : *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **93**, 127 (2019).
- 17) G. Fukuhara : *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.*, **42**, 100340 (2020).
- 18) M. J. Marsella, T. M. Swager : *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 12214 (1993).
- 19) G. Fukuhara, Y. Inoue : *Chem. Eur. J.*, **16**, 7859 (2010).
- 20) G. Fukuhara, Y. Inoue : *Chem. Commun.*, **48**, 1641 (2012).
- 21) G. Fukuhara, Y. Inoue : *Chem. Eur. J.*, **18**, 11459 (2012).
- 22) Y. Ishida, G. Fukuhara : *ACS Omega*, **3**, 6279 (2018).
- 23) R. A. Tromans, T. S. Carter, L. Chabanne, M. P. Crump, H. Li, J. V. Matlock, M. G. Orchard, A. P. Davis : *Nat. Chem.*, **11**, 52 (2019).
- 24) B. Adamczyk, T. Tharmalingam, P. M. Rudd : *Biochim. et Biophys. Acta*, **1820**, 1347 (2012).
- 25) A. P. Davis : *Org. Biomol. Chem.*, **7**, 3629 (2009).
- 26) T. Yanaki, T. Norisuye, H. Fujita : *Macromolecules*, **13**, 1462 (1980).
- 27) Y. Deslandes, R. H. Marchessault, A. Sarko : *Macromolecules*, **13**, 1466 (1980).
- 28) G. Fukuhara, Y. Inoue : *Chem. Commun.*, **46**, 9128 (2010).
- 29) G. Fukuhara, M. Sasaki, M. Numata, T. Mori, Y. Inoue : *Chem. Eur. J.*, **23**, 11272 (2017).
- 30) I. Eleftheriadou, P. Grigoropoulou, N. Katsilambros, N. Tentolouris : *Curr. Diabetes Rev.*, **4**, 340 (2008).
- 31) M. Sasaki, Y. Ryoson, M. Numata, G. Fukuhara : *J. Org. Chem.*, **84**, 6017 (2019).
- 32) G. Fukuhara, Y. Inoue : *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 768 (2011).
- 33) G. Fukuhara, M. Imai, D. Fuentealba, Y. Ishida, H. Kurohara, C. Yang, T. Mori, H. Uyama, C. Bohne, Y. Inoue : *Org. Biomol. Chem.*, **14**, 9741 (2016).
- 34) C. Li, M. Numata, A.-H. Bae, K. Sakurai, S. Shinkai : *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 4548 (2005).
- 35) K. Tamano, K. Nakasha, M. Iwamoto, M. Numata, T. Suzuki, H. Uyama, G. Fukuhara : *Polym. J.*, **51**, 1063 (2019).

Signal-Amplification Sensing: Creation of Chemosensors Operated by Allosterism

Kotoe NAKASHA¹ and Gaku FUKUHARA^{*1,2}

^{*} E-mail : gaku@chem.titech.ac.jp

¹ Department of Chemistry, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1, Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8551

² JST, PRESTO, 4-1-8, Honcho, Kawaguchi-shi, Saitama 332-0012

(Received October 19, 2020; Accepted November 30, 2020)

Although the lock-and-key principle is a basic concept not only for highly selective enzymatic equilibria/reactions, but also for molecular recognition and supramolecular assembly, there are some problems in applying the principle to chemical sensing with artificial chemosensors. One of the most inherent examples may be an unexpected solvation, *i.e.*, mutual entropy losses, based on an enthalpy-entropy compensatory relationship. So far, we have proposed a novel sensing methodology, “supramolecular allosteric signal-amplification sensing” (SASS), enabling us to selectively and sensitively detect various analytes that are difficult to sense in using lock-and-key-type chemosensors. In this review, we want to highlight the concept, strategy, and applications of SASS with our recent studies.

Keywords: chemosensor; allosterism; amplification sensing; polythiophene; glucan; spectroscopy.