II. 材 料

膜界面における分子認識に基づく化学センシング

雨 宮 成*・梅 澤 喜 夫*

Chemical Sensing Based on Molecular Recognition at Membrane Surfaces

Shigeru AMEMIYA* and Yoshio UMEZAWA*

The signal transduction/amplification based on the change of membrane potential or permeability can be modulated by molecular recognition of analytes with artificial receptors at the membrane surfaces, making it a very interesting approach to chemical sensing. Membrane potential was changed with the following modes of molecular recognition at the liquid membrane surfaces. (i) Multitopic hydrogen bonding of nucleobases or inorganic anions by receptors with cytosine residue or with two urea (thiourea) groups, respectively. (ii) Inclusion of nonpolar moieties of amine analytes by a calix-[6]arene hexaester or a β -cyclodextrin derivative. The principles of ion-channel sensors based on chemically switchable membrane permeability changes are demonstrated by intermolecular as well as intramolecular channels using monolayers formed with hydrogen bonding receptors and the β -cyclodextrin derivative. Finally, examples of fluorescence mediated sensing of guanosine derivatives based on multitopic hydrogen bonding and orthophosphate ion sensors based on a quartz crystal microbalance are also presented.

Key words: Chemical sensor, Membrane surface, Membrane potential, Membrane permeability, Ion-selective electrode, Ion channel sensor, Molecular recognition, Multitopic hydrogen bonding.

1. はじめに

生体膜表面に見られるように、膜界面での分子認識は化学物質の構造に選択的な膜電位や膜透過性の変化という形で情報の変換・増幅を誘起する。これは、均一相バルクにおける分子認識においては見られない現象であり、そのままイオン・分子の高選択的・高感度な検出法として分析化学的に有用な方法を提供する。このような膜界面の特性を具体的に化学センシングの原理として取り入れる上では、生体内で機能している蛋白などを直接用いる生体系からのアプローチと、それらと類似の機能を持ったレセプター分子を合成して用いる人工系からのアプローチの両方が考えられる。後者のアプローチに基づく化学センサーとしては、膜電位および膜透過性の変

化を利用したものが代表的であり、それぞれ、液膜型イオン選択性電極、およびイオンチャンネルセンサーとして知られている。本稿では我々の開発例をもとに、それらの化学センサーの原理および特性について主に紹介する。なお、その詳細および生体系からのアプローチについては、他の総説も合わせて参照されたい¹⁾。

2. 膜電位変化に基づく化学センサー

2.1. 液膜型イオン選択性電極の原理

液膜界面でのイオンの認識とそれに伴う膜電位の変化は、イオン選択性電極(Ion-Selective Electrodes)の原理として用いられている。ここでは、その基本的な機構について述べる²⁾。液膜型イオン選択性電極(以下、液膜電極)では、目的イオンと選択的に錯形成するレセプターを溶解した可塑化PVC膜が一般的に用いられる。さらに、レセプターが電気的に中性の場合には、目的イオンの脂溶性塩が液膜に加えられ、これらはイオンサイトと呼ばれる³⁾。仮に、中性レセプターとイオンサイト

* 東京大学大学院理学系研究科化学専攻 ()

* Department of Chemistry, School of Science, The University of Tokyo ()

Fig.1 Schematic representation of charge separation at the membrane/sample solution interface for anion-selective electrodes based on a neutral receptor and added ionic sites.

からなるアニオン選択性液膜電極を試料溶液と接触させると、その界面では試料溶液中の目的アニオンの濃度に応じて、レセプターと目的アニオンの錯形成または解離が起こり、膜電位(界面電位)が変化する(図1)。

従って、この膜電位の変化を電気化学的に測定することによって目的アニオンの定量を行うことができる。膜電位の変化を誘起するような界面現象は、電荷分離(charge separation)と呼ばれ、ATR-IR 法⁴⁾や、第二高調波発生(SHG)法⁵⁾による検証がなされており、液膜電極の電位応答機構を分子レベルで議論する上での基礎となってきた。

2.2. 多点水素結合に基づく液膜電極

DNA の二重らせん構造の形成、蛋白質による基質の認識など、生体内においては、数本の水素結合によって高度な分子認識がなされている例が随所に見られる⁶⁾。近年、ホスト-ゲスト化学においても、多点水素結合による分子認識は大きな注目を集めており、各方面への応用の可能性が示唆されている⁷⁾。そこで、このような多点水素結合を原理とすることによって、ヌクレオチドおよび各種無機アニオンに対する液膜電極の開発を試みた。

2.2.1. ヌクレオチド選択性液膜電極

ヌクレオチドは、遺伝情報の伝達、エネルギーの代謝など、数多くの生体内反応に関与する重要な物質であるため、その化学的検出法の開発は、医療や生化学の分野に対して大きな貢献をなすものと考えられる。まず、人工レセプターを用いたヌクレオチドに対する初めての化

学センサーとして、大環状ポリアミン誘導体を用いた ATP 選択性液膜電極の開発を行った⁸⁾。この電極では、プロトン化したレセプターとヌクレオチドのリン酸基の間で電荷-電荷相互作用に基づく錯形成が起こり、その結果、アデノシンヌクレオチドの中では、3 または 4 価の 5'-ATP に対して高い選択性が見いだされている。さらに、図2のように、多点水素結合による相補的塩基対の形成と電荷-電荷相互作用に基づく二点認識によって、5'-GMP と強く錯形成する、シトシン修飾トリアミン1 が開発された⁹⁾。

このレセプターを用いた電極では、シトシンと相補的なグアニン塩基を持つヌクレオチドに対してのみ選択的なアニオン性の電位応答が得られた(図3)¹⁰⁾。

Fig.2 Suggested structure for the complex formed between receptor 1 and 5'-GMP.

Fig.3 Calibration curves for 5'-GMP(○) and 5'-AMP (+) as obtained at pH 6.8 (0.1 M HEPES-NaOH) with electrodes based on (1) receptor 1, (2) receptor 2a and 150 mol% TDDMACl, respectively.

その一方で、この電極で得られた電位応答の直線領域における勾配(−10 mV/decade)はネルンスト式から予測される値(−29.1 mV/decade at 20 °C)と比べて小さく、その感度を減少させる結果となった。そこで、より単純な系として、核酸塩基の脂溶性誘導体 **2a**, **3a**, **4**(図4)からなる液膜電極を用いて、多点水素結合に基づく選択性に影響を及ぼす要因について検討を行った¹¹⁾。

Fig. 4 Neutral receptors for nucleobases. **2a**, **3a**: R = 2-heptylundecyl; **2b**, **3b**: R = octadecyl; **4**: R = 3, 7, 11, 15-tetramethylhexadecyl.

イオンサイトとしては、トリドデシルメチルアンモニウムの塩化物塩(TDDMACl)を液膜に加えた。目的イオンとして、5′-GMP および 5′-AMP を用いたところ、いずれのヌクレオチドに対しても傾き −29 mV/decade の直線応答が得られた。これらの応答が、その傾きから予想されるとおり 2 価のヌクレオチドに対するネルンスト応答であることが、溶媒抽出実験からも支持された。シトシンの誘導体 **2a** を用いた場合には、相補的な 5′-GMP に対して選択的な電位応答が得られた(図3)。さらに、同様な 5′-GMP 選択性を示したレセプター **4** を含む液膜の ¹³C-NMR スペクトルを測定したところ、水素結合によるレセプターの自己会合および溶媒和が観測され、これらが選択性を減少させる要因となっていることが確認された。また、レセプター **4** と TDDMACl の膜中濃度比に依存してヌクレオチド間の選択性の度合いが変化することから、ヌクレオチド-レセプター間の錯形成比は、1:1 のみではないことが結論された。

Table 1 Association constants (K_{11} , M^{-1} , in DMSO- d_6) of the 1:1 complexes of receptors **5a**~**d**, **6a**, **b** with various anions¹³⁾.

anion ^a	5a	5b	5c	5d	6a	6b
H ₂ PO ₄ [−]	110	820	4600	1000	55000	195000
CH ₃ CO ₂ [−]	47	470	2300	350	38000	
Cl [−]	4	9	10	5	840	1000
HSO ₄ [−]	1	2				
NO ₃ [−]	<1	<1				
ClO ₄ [−]	NC ^b	NC ^b				

^a Counter cation: (C₄H₉)N⁺. ^b NC = negligible complexation.

これら一連の研究から、ヌクレオチドのような、水素結合のドナーおよびアクセプターを共に持つ有機物イオンに対して選択的な液膜電極を開発する上では、レセプターによる相補的な多点水素結合が有効であることが示された。しかし、より優れた選択性を得るためには、レセプターの錯形成能を向上させると同時に、それに伴って生じるレセプターの自己会合や強い溶媒和を防ぐような分子設計および膜溶媒の選択が重要である。

2.2.2. 無機アニオン選択性液膜電極

各種無機アニオン選択性液膜電極については、比較的以前から研究が進められてきていたが、親水性アニオンの選択的な検出は原理的に困難であるとされてきた。一方、優れた水素結合のドナーである尿素、およびチオ尿素部位を持つレセプターによって、水素結合のアクセプター部位を持つ親水性アニオンを認識しようとする試みが、近年の分子認識化学において注目を集めている¹²⁾。そこで液膜電極への応用を目的に、尿素およびチオ尿素部位を 2 つ持つ一連のレセプター **5a**~**d**, **6a**, **b** の設計、合成を行った(図5)¹³⁾。

¹H-NMR 分光法を用いて評価した、これらのレセプターと各種無機アニオン間の 1:1 錯形成定数を表1に示す。

その結果、いずれのレセプターも、図5のように4本の水素結合によって1価のリン酸イオン(H₂PO₄[−])と選

Fig. 5 Suggested structures of 1:1 complexes of dihydrogen phosphate with bis-urea or bis-thiourea receptors.

択的に錯形成していることが確認され、また、その錯形成の強さおよび選択性は、(1)レセプターの水素結合ドナー部位の酸性度、(2)2つの尿素またはチオ尿素を結びつけるスパーサー部位の剛直さ、(3)各種アニオンの水素結合アクセプターとしての強さによって支配されていることが明らかになった。広い分野での応用が期待できることから、これまでも H_2PO_4^- を認識する中性レセプターがいくつか報告されているが、ここで得られたレセプター 6b はその中でも最も強い錯形成能を持っている。さらに、レセプター 5c, 6a は、有機溶媒への溶解性が高く、また低誘電率の溶媒中でも自己会合による錯形成能の低下などが見られなかった。そこで、これらのレセプターを、液膜電極に用い、その選択性を評価した。

レセプター 5c に基づく液膜電極を用いて測定した各種無機アニオンに対する電位応答を図 6 に示す¹⁴⁾。

膜溶媒としては、*o*-ニトロフェニルオクチルエーテルを、イオンサイトとしては TDDMACl を用いた。一般に、TDDMACl のみからなる液膜電極の電位応答は、脂溶性の高いアニオンに対して強く、その選択性はホフマイスター型の序列として知られている。これに対してレセプター 5c が存在する場合、親水性の高い硫酸イオン、塩化物イオン、リン酸イオンに対する選択性の改善が見られた。ここで得られたリン酸イオンに対する選択性は十分とは言えないが、硫酸イオンに対して強い電位応答が得られたことは大変興味深い。その電位応答は、 $1\mu\text{M}$ 以上の濃度領域で直線的であり、その勾配は $-28.1 \pm 1.8\text{ mV/decade}$ であった。この電位応答勾配はネルンスト式から予想される 2 価アニオンに対する値 (-29.1

Fig. 6 Calibration curves for anions as obtained at pH 6.8 (0.1 M HEPES-NaOH) with an electrode based on receptor 5c and 55 mol% TDDMACl.

mV/decade at 20°C) とよく一致することから、この電位応答が 2 価の硫酸イオンに対するものであることを示している。これまで、多価アニオンに対する液膜電極の報告は比較的少なく、硫酸イオンに対して選択的な液膜電極としてはこれが初めての例である。一方、キサンテン骨格を持つレセプター 6a に基づく液膜電極は、環境および医療分析において重要な塩化物イオンに対して選択的な応答を示すことが見いだされ(図 7)、実際の応用例として馬の標準血清中の塩化物イオンの定量に用いられた¹⁵⁾。ここで得られた塩化物イオンに対する選択性は、レセプター 6a と塩化物イオンの間で、合計 8 本の水素結合による 2:1 錯体が形成されるためであることが示唆されている。

このような水素結合のドナー部位のみを持つ中性レセプターをアニオンの認識に用いた液膜電極の報告例はこれまでになく、今後、各種アニオン選択性液膜電極への広い応用が期待される。

2.3. 分子内孔による非極性部位の認識に基づく

液膜電極

上で述べた多点水素結合が、極性官能基を持つイオンの認識に有効であったのに対して、様々な有機物イオンの認識を行う上での一方のアプローチとして、その疎水基の識別が考えられる。カリックス[6]アレーンの長鎖エステル誘導体 7 は、プロトン化した有機アミンと水素結合を形成すると同時に、その疎水基を環の中に取り込んだ構造の錯体を形成することが期待される(図 8)。

実際に、このイオノフォアを用いた液膜電極は、アミ

Fig. 7 Calibration curves for anions as obtained at pH 6.8 (0.1 M HEPES-NaOH) with an electrode based on receptor 6a and 50 mol% TDDMACl.

Fig. 8 (a) Suggested structure of 1:1 complex between calix [6] arene hexaester 7 and a protonated primary amine, and (b) structure of an alkyl derivative of β -cyclodextrin 8.

ン類の疎水基の構造に依存した選択性を示し、 $-\text{NH}_3^+$ 基の α 位に置換基を持たない β -フェネチルアミンの類縁体、たとえば神経伝達物質として重要なドーパミンなどに対して選択的である¹⁶⁾。さらに、 ^1H -NMR の結果から、 β -フェネチルアミンのフェニル部位がカリックスアレーンの内孔に取り込まれた構造の錯体を形成していることが確認された。また、シクロデキストリンのアルキル誘導体 8 (図 8) を用いた液膜電極においても、同様な選択性が見いだされている¹⁷⁾。このような目的物質の非極性部分の構造認識に伴う膜電位変化に基づく化学センシングは、定まった構造のゲスト取り込み内孔を持つレセプターに特有の興味深い現象である¹⁸⁾。

3. 膜透過性の変化に基づく化学センサー

生体膜上で機能するリガンド作動性イオンチャンネル蛋白質は、目的化学物質との錯形成によるチャンネルの開閉により、膨大な数のイオンの膜透過を誘起する。分子認識に伴うイオンの膜透過性の変化という、チャンネル蛋白質の持つ特性は、極めて大きな化学シグナル増幅に結びつく現象であるため、高感度な化学センサーの原理として極めて魅力的である。そこで、このような特性に基づく人工的な化学センサーを、イオンチャンネルセンサーとして位置づけ¹⁹⁾、以下に述べる 2 つのアプローチから、その開発を行った。

3.1. 分子間透過型イオンチャンネルセンサー

ここではまず最初のアプローチとして行った、分子間透過型イオンチャンネルセンサーの原理について、最近の開発例をもとに解説する。我々は、核酸塩基に対して多点水素結合能を持つレセプター 2b, 3b, 9a (図 9) の Langmuir-Blodgett 単分子膜を分子間透過型チャネル

Fig. 9 Suggested structure of 1:1 complex between guanine base and receptor 9a, b.

ル膜として用い、マーカーの膜透過性に対するヌクレオチド選択性の評価を行った²⁰⁾。

レセプター 9a はそれ自身が、レセプター 2b, 3b はオクタデカノールと混合することによって、気液界面で安定な単分子膜を形成する。フェロシアン化カリウムをマーカーとして用いて、これらの膜に対する透過性の変化を通常の CV 法、もしくは水平付着 CV 法²¹⁾によって評価した。その結果、いずれのレセプターについても、相補的な核酸塩基部位を持つ 5'-GMP または 5'-AMP を溶液中に添加した場合に、選択的な電流値の減少が見られた (図 10)。

これは、レセプターとヌクレオチドの錯形成によって、電極表面が負に帯電し、負電荷を持つマーカーの接近が妨げられたためであると考えられる (図 11)。

この結果は、単分子膜表面での多点水素結合の形成によって起こる分子認識が、イオンの膜透過性変化として変換・増幅されることを示している点で興味深い。また、この他にも長鎖アルキルリン酸¹⁹⁾、大環状ポリアミンや β -シクロデキストリンのポリアミン誘導体²²⁾、カリックス [6] アレーン誘導体²³⁾ などのレセプターを用いた分子間透過型チャンネルセンサーが開発されている。これらの結果は、一般的に単分子膜表面での種々の分子間力によるイオン・分子認識が、膜のイオン透過性を変化させること、すなわちイオン・分子の検出の尺度として用いうることを示している²⁴⁾。

3.2. 分子内孔透過型チャンネルセンサー

一方、生体のイオンチャンネルにおける極めて効率的なイオン透過性の制御は、そのチャンネル構造によるところが大きい。従って、その特性を化学センサーの原理として再現する上では、先に述べたアプローチをさらに発展させ、明確なチャンネル構造を合わせ持ったレセプター分子からなるセンシング膜を開発することも興味深い。そこで、レセプターの分子内孔をチャンネル構造として用いることによって、分子内孔透過型チャンネルセ

Fig. 10 Horizontal touch cyclic voltammograms of 1.0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ as permeability marker recorded with a Highly Oriented Pyrolytic Graphite (HOPG) electrode coated with a monolayer of receptor **9a** on 0.1 M phosphate buffered subphase (pH 6.0, 20 °C) containing 5'-GMP (B-D). Curve A indicates the response at the bare electrode obtained without analyte. Curves B-D indicate the response at the electrode with a monolayer of receptor **9a** on buffered subphases containing 0, 1.00, and 3.00 mM of 5'-GMP, respectively. The monolayer was formed at the air/water interface at an applied surface pressure of 20 mN m⁻¹. The direction of the potential scan is indicated by an arrow.

ンサーの開発を試みた(図 12)²⁵⁾。

分子内チャンネル類似構造を持つレセプターとしてはシクロデキストリンの長鎖アルキル誘導体 **8**²⁶⁾を用いた。図 13 に示したように、気液界面にレセプターの圧縮単分子膜を形成し、シクロデキストリンの内孔よりも大きなマーカー($[\text{Co}(\text{phen})_3]^+$, $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}$)と、小さなマーカー(*p*-キノン)ついて、それぞれゲストであるシクロヘキサノールの添加による膜透過性の変化を水平付着 CV 法によって評価した。

$[\text{Co}(\text{phen})_3]^+$ または $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}$ を用いた場合、シクロデキストリン単分子膜の存在によるマーカー透過性の抑制は顕著であったが、ゲストを加えたことによる透過性の変化は、ほとんど見られなかった。それに対して、

Fig. 11 Schematic representation of possible mode for changes in membrane permeability through intermolecular voids induced by complexation of receptor **9a** with 5'-GMP.

p-キノンを用いた場合、レセプターの圧縮単分子膜の存在によるマーカー透過性の抑制はそれほど顕著でないが、ゲストの添加によって有意な透過性の減少が観測された。

この結果は、マーカー自身は立体的にシクロデキストリンの内孔を透過することが可能であるが、ゲストとレセプターの錯形成によってチャンネル入口がブロックされると、その透過が妨げられるためであると考えられる(図 12)。さらに数種類のゲストに対してマーカー透過性の抑制効果を調べたところ、ゲストによるチャンネルのブロック能の違いを反映した選択性が得られ、分子内孔透過型機構が支持された。

上述の分子間透過型チャンネルセンサーが電荷を有する目的物質に対して働くのに対して、電荷中性分子に対しては、後者の分子内透過型チャンネルセンサーが有効である。また、分子内透過型機構では、とりもなおさず分子間透過の寄与を完全に抑えることが前提となるため、分子レベルで可能な限り欠陥のない単分子膜が必要である。そのような観点から、金単結晶や水銀上でのチオール自己集合膜による分子内透過型チャンネルセン

Fig. 12 Schematic representation of possible mode of complexation induced changes in membrane permeability through intramolecular voids.

Fig. 13 Experimental system for the measurement of the horizontal touch cyclic voltammetry. W, working electrode (HOPG: highly oriented pyrolytic graphite); R, reference electrode (Ag/AgCl); A, auxiliary electrode (platinum wire).

サーについても、現在検討を行っている。

4. その他の情報変換機構に基づく化学センサー

4.1. 多点水素結合に基づく蛍光センサー

図9に示したレセプター9a, bは蛍光性であり、グアニン誘導体を5本の水素結合によって認識するのに伴って、消光することが確認された²⁷⁾。一方、アデニン誘導体を加えた場合には、蛍光強度の変化は全く観測されず、その高いグアニン選択性が示された。また、レセプター9aの蛍光強度はレセプター9bと比べて20倍強く、励起光に対しても安定であった。そこで、この消光現象に基づく蛍光センサーとして、レセプター9aおよびTDDMAClを含むPVC液膜を作製し、5'-GTPの水溶液に接触させたところ、蛍光強度の減少が見られた。これは、レセプターとの錯形成にともなって、5'-GTP

が塩化物イオンとの交換反応によって膜中に抽出されたためであると考えられる。その蛍光強度の変化は、5'-ATPの水溶液に接触させた場合と比べて大きく、均一溶液中で見られたグアニン選択性が保たれることが確認された。これは、多点水素結合に基づく蛍光センサーの可能性を示す初めての例である。

4.2. 無機難溶性塩に基づく水晶発振子型センサー

人工レセプターに基づく液膜電極による塩化物イオンや硫酸イオンの検出例については上で述べたが、その一方で、 CrPO_4 や LaPO_4 などの難溶性リン酸塩を用いることによって、リン酸イオンの検出が可能である²⁸⁾。これらの難溶性塩と水溶液の界面では、リン酸イオンが溶解度積に従い強く吸着するため、水晶発振子の上にこれらのリン酸塩を修飾・固定化することにより単分子層レベルのリン酸イオン吸着を重量(周波数)変化として選択的に検出することができる。この選択性の発現は、「無機自己集合系」の形成による効果として捉えることができ、興味深い。

5. おわりに

人工(合成)系に基づく化学センサーは、分子認識化学と膜化学に立脚することで、一般に、特定の化学物質に対する高感度・高選択的な検出法を目指している。一方、本稿では詳しく触れなかったが、膜蛋白イオンチャンネルレセプターを直接用いた生体系イオンチャンネルセンサーにおいては、膜蛋白自身が持つアゴニスト選択性などの生理的な活性の評価が興味の対象となっており²⁹⁾、人工系との目的の違いがより明確になってきている。

さらに、上で述べた膜電位変化に基づく液膜電極および、膜透過性変化に基づくイオンチャンネルセンサーに加えて、本稿では触れなかったが、やはり増幅を伴う膜透過性変化を分析の指標とする人工系、生体系能動輸送膜センサー³⁰⁾、AFM探針の化学修飾に基づく化学力顕微鏡³¹⁾などにおいても膜界面での分子認識に引き続く情報変換がイオン・分子の検出法として用いられている。今後も、分子認識化学の発展とともに、これらの化学センサーはその対象物質の範囲を広げつつ、選択性・感度などをさらに向上させていくものと考えられる。

(平成9年2月14日受理)

文 献

- 1) K. Odashima, P. Bühlmann, M. Sugawara, K. Tohda, K. Koga, Y. Umezawa, "Advances in Supramolecular Chemistry", Vol.4, ed. by G. W. Gokel, Jai Press, Greenwich, 印刷中; M.

- Sugawara, H. Sato, T. Ozawa, Y. Umezawa, "Frontiers in Biosensorics I Fundamental Aspects", eds. by F.W. Scheller, F. Schubert, J. Fedrowitz, Birkhäuser Verlag, Basel, 1997, p. 121; 遠田浩司, 小田嶋和徳, 菅原正雄, 梅澤喜夫, 膜, 19, 122 (1994)
- 2) 遠田浩司, 分析化学, 45, 641 (1996); E. Pungor, Pure Appl. Chem., 64, 503 (1992); W.E. Morf, "The Principles of Ion-Selective Electrodes and of Membrane Transport", Elsevier, New York, 1981
- 3) P. Bühlmann, S. Yajima, K. Tohda, Y. Umezawa, Electrochim. Acta, 40, 3021 (1995); D. Ammann, W.E. Morf, P. Anker, P.C. Meier, E. Pretsch, W. Simon, Ion-Sel. Electrode Rev., 5, 3 (1983)
- 4) K. Umezawa, X.M. Lin, S. Nishizawa, M. Sugawara, Y. Umezawa, Anal. Chim. Acta, 282, 247 (1993); K. Tóth, E. Lindner, E. Pungor, E. Zippel, R. Kellner, Fresenius' Z. Anal. Chem., 331, 448 (1988)
- 5) K. Tohda, Y. Umezawa, S. Yoshiyagawa, S. Hashimoto, M. Kawasaki, Anal. Chem., 67, 570 (1995); P. Bühlmann, S. Yajima, K. Tohda, K. Umezawa, S. Nishizawa, Y. Umezawa, Electroanalysis, 7, 811 (1995); S. Yajima, K. Tohda, P. Bühlmann, Y. Umezawa, Anal. Chem., 印刷中
- 6) G.A. Jeffrey, W. Saenger, "Hydrogen Bonding in Biological Structures", Springer, Heidelberg, 1994
- 7) J.-M. Lehn, "Supramolecular Chemistry", VCH, Weinheim, 1995; J.C. MacDonald, G. M. Whitesides, Chem. Rev., 94, 2383 (1994); A.D. Hamilton, E. Fan, S.V. Arman, S.J. Geib, J. Yang, Philos. Trans. Roy. Soc. London Ser. A, 345, 57 (1993); J. Rebek Jr., Acc. Chem. Res., 23, 399 (1990)
- 8) Y. Umezawa, M. Kataoka, W. Takami, E. Kimura, T. Koike, H. Nada, Anal. Chem., 60, 2392 (1988)
- 9) H. Furuta, D. Magda, J.L. Sessler, J. Am. Chem. Soc., 113, 978 (1991)
- 10) K. Tohda, M. Tange, K. Odashima, Y. Umezawa, H. Furuta, J.L. Sessler, Anal. Chem., 64, 960 (1992)
- 11) S. Amemiya, P. Bühlmann, K. Tohda, Y. Umezawa, Anal. Chim. Acta, 印刷中
- 12) C. Seel, J. de Mendoza, "Comprehensive Supramolecular Chemistry", vol.2, ed. by F. Vögtle, Elsevier Science, Oxford, 1996, p.143
- 13) S. Nishizawa, P. Bühlmann, M. Iwao, Y. Umezawa, Tetrahedron Lett., 36, 6483 (1995); P. Bühlmann, S. Nishizawa, K.P. Xiao, Y. Umezawa, Tetrahedron, 53, 1647 (1997)
- 14) S. Nishizawa, P. Bühlmann, K.P. Xiao, Y. Umezawa, 未発表
- 15) K.P. Xiao, P. Bühlmann, S. Nishizawa, S. Amemiya, Y. Umezawa, Anal. Chem., 69, 1038 (1997)
- 16) K. Odashima, K. Yagi, K. Tohda, Y. Umezawa, Anal. Chem., 65, 1074 (1993)
- 17) K. Odashima, H. Hashimoto, Y. Umezawa, Mikrochim. Acta, 113, 223 (1994)
- 18) W.H. Chan, K.K. Shiu, X.H. Gu, Analyst (London), 118, 863 (1993)
- 19) M. Sugawara, K. Kojima, H. Sazawa, Y. Umezawa, Anal. Chem., 59, 2842 (1987); K. Odashima, M. Sugawara, Y. Umezawa, "Interfacial Design and Chemical Sensing", eds. by T. E. Mallouk, D.J. Harrison, ACS Symposium Series 561, American Chemical Society, Washington, 1994, p.123
- 20) K. Tohda, S. Amemiya, S. Nagahora, S. Tanaka, T. Ohki, P. Bühlmann, Y. Umezawa, Isr. J. Chem., 印刷中
- 21) M. Fujihira, T. Araki, Chem. Lett., 1986, 921; C.J. Miller, A.J. Bard, Anal. Chem., 63, 1707 (1991)
- 22) S. Nagase, M. Kataoka, R. Naganawa, R. Komatsu, K. Odashima, Y. Umezawa, Anal. Chem., 62, 1252 (1990)
- 23) K. Yagi, S.B. Khoo, M. Sugawara, T. Sakaki, S. Shinkai, K. Odashima, Y. Umezawa, J. Electroanal. Chem., 401, 65 (1996)
- 24) M. Maeda, K. Nakano, S. Uchida, M. Takagi, Chem. Lett., 1994, 1805; M. Maeda, Y. Fujita, K. Nakano, M. Takagi, J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1991, 1724
- 25) K. Odashima, M. Kotato, M. Sugawara, Y. Umezawa, Anal. Chem., 65, 927 (1993)
- 26) S. Taneva, K. Ariga, Y. Okahata, W. Tagaki, Langmuir, 5, 111 (1989)
- 27) S. Amemiya, P. Bühlmann, Y. Umezawa, J. Chem., Soc. Chem. Commun., 印刷中
- 28) K. Iitaka, Y. Tani, Y. Umezawa, Anal. Chim. Acta, 338, 77 (1997)
- 29) M. Sugawara, A. Hirano, M. Rehák, J. Nakanishi, K. Kawai, H. Sato, Y. Umezawa, Biosensors & Bioelectronics, 印刷中
- 30) K. Odashima, M. Sugawara, Y. Umezawa, Trends Anal. Chem., 10, 207 (1991); 菅原正雄, 分析化学, 40, 433 (1991)
- 31) T. Ito, M. Namba, P. Bühlmann, Y. Umezawa, Langmuir, 印刷中