

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	生体環境で機能する感圧化学センサーの創製
Title(English)	
著者(和文)	木下智和
Author(English)	Tomokazu Kinoshita
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京科学大学, 報告番号:甲第214号, 授与年月日:2025年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:福原 学,火原 彰秀,豊田 真司,河野 正規,澤田 知久
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Institute of Science Tokyo, Report number:甲第214号, Conferred date:2025/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

生体環境で機能する感圧化学センサーの創製

木下 智和 (主指導教員：福原 学、副：火原 彰秀)

【緒言】

比較的弱い相互作用が働く超分子的アプローチによる化学センサーの系 ($\Delta G \sim 10 \text{ kcal mol}^{-1}$) では、準熱力学的関係にあるエンタルピー・エントロピー補償則 ($\Delta(\Delta H) = \beta\Delta(\Delta S)$) に束縛される傾向にあるため、所望の K を得るためにはこれらを絶妙に制御する必要がある (式 1) ¹。

$$\Delta G = -RT \ln K$$

$$= \Delta H - T\Delta S \quad (1)$$

$$= \Delta F + P\Delta V \quad (2)$$

一方、式 2 は、圧力を系に印加することで、エントロピー変化よりも比較的予想のしやすい体積変化 (ΔV) に基づいて K を制御できることを示唆している。実際、福原らは、圧力がエントロピー制御の代替因子となり得ることを様々な化学センサーを使った静水圧 (等方的な圧力) 実験から実証してきた²。このような静水圧制御コンセプトは、ナノスケールの化学センサーのみならず、弱い相互作用が働く生体系の中でも成り立ち、例えばタンパク質や細胞³のようなマイクロスケールでも観測されてきた。また、近年のメカノバイオロジー分野では、力学刺激としての圧力が細胞の形状や分化能の変化などの生化学反応を惹起していることが明らかにされつつある^{4,5}。一方で、圧力を用いたセラノスティクス (診断と治療) に向けては、生体環境で瞬時的かつ局所的な圧力変化の可視化・定量化がボトルネックとなっているのが現状であった。この課題解決に向けては数 MPa の圧力スケール、サブマイクロメートルの空間スケール、ナノ秒の時間スケールでシグナル変化を示す感圧化学センサーの包括的な作動機構の開拓が求められていた。

以上の背景から、本博士論文では目標とする感圧化学センサーの探索から分子スケールでの感圧応答性の作動機構を体系的に明らかにし、ナノスケール (分子) からマイクロスケール (細胞) での圧力応答の相関関係の解明およびセラノスティクスへの展開を目的とした。具体的に発見した感圧化学センサーの作動機構としては、**1**.ペリレンビスイミドの分子間 π スタッキング、**2**.ギア型のフタロシアニンの分子間相互作用、**3**.アントラセン縮環ヘリセンの分子内 π スタッキングと続く光反応、**4**.擬ヘリセン構造の溶媒効果、**5**.一重項分裂の溶媒和・コンフォメーション変化の効果、**6**.フォルダマー骨格 (Fig. 1a) のコンフォメーション変化である。さらに、**6** で明らかになった作動機構を利用して**7**.ドラッグデリバリーシステム (DDS, Fig. 1b)、**8**.生体環境での圧シグナルイメージングへの展開を行った (Fig. 1c)。次に、**6-8** の研究成果について概説する。

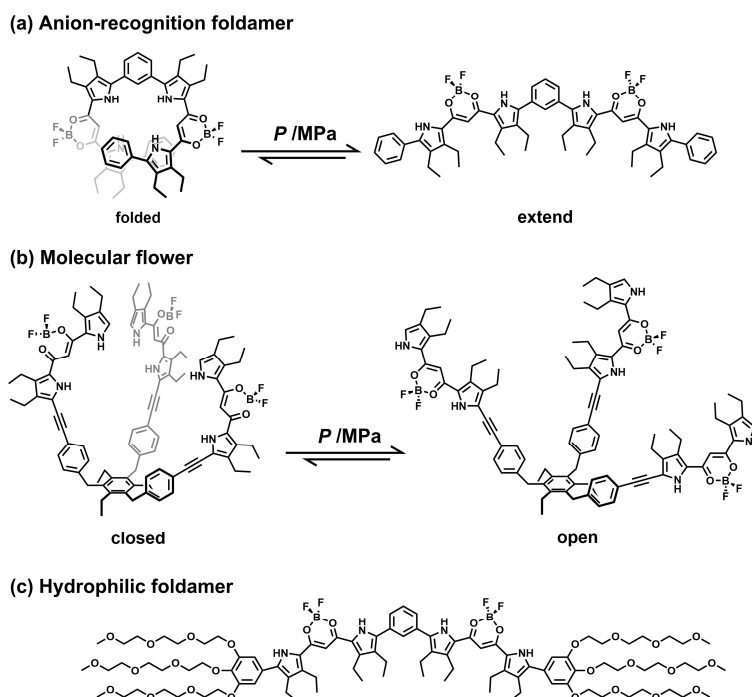


Figure 1. (a) Chemical structures of (a) anion-recognition foldamer (Ph-AR), (b) molecular flower, and (c) hydrophilic foldamer.

【フォルダマー骨格を用いた感圧化学センサー】

生体高分子や合成ポリマーの系で観測されてきた加圧による主鎖の構造変化を利用した新規のオリゴマースケールの感圧化学センサーとして、フォルダマー (Ph-AR, Fig. 1a) に着目した。フォルダマーは標的分子 (アニオン) に対して extend 体から folded 体が誘起される分子である。アニオン非存在下の各種溶媒で UV/vis スペクトル測定を行った結果、高極性のアセトニトリル溶液では疎溶媒効果によって folded 体が形成され、通常の extend

体と平衡状態にあることが明らかになった。この平衡混合溶液に対して圧力を印加すると、folded から extend へのコンフォメーション変化を伴うシグナル変化が観測された (Fig. 2a)。また蛍光寿命の測定結果から、励起状態においても基底状態のコンフォメーションの存在比率を反映した平衡状態にあることが観測され、基底・励起両状態でコンフォメーションを動的に制御できることを示した (Fig. 2b)。この Ph-AR に親水基としてトリエチレングリコール (TEG) 鎖を導入した TEG-AR (Fig. 1c) を用いて同様に感圧応答性を調査した結果、有機溶媒から水-メタノール混合溶媒に至る幅広い極性範囲において、コンフォメーション変化と凝集・解離によって圧シグナルを出力可能な感圧化学センサーとして機能することが示された。また、TEG-AR 溶液 (~0.42 μM PBS 溶液) を用いた HeLa 細胞の染色実験から細胞膜を透過し細胞質へと導入されることが示された。さらに、共焦点レーザー顕微鏡と高圧セルを組み合わせた高圧蛍光顕微イメージングと本感圧化学センサーを用いた圧シグナル計測技術も実証した。

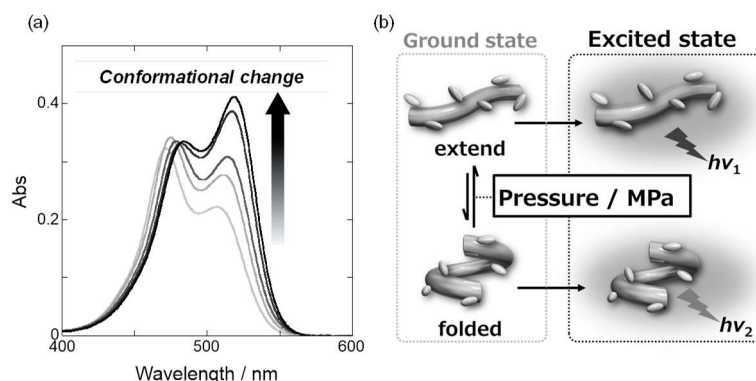


Figure 2. (a) UV/vis absorption spectral changes of the anion-recognition foldamer (Ph-AR) at 0.1–320 MPa in acetonitrile. (b) Excited-state dynamics of Ph-AR.

【“分子フラワー”を用いた DDS モデルの構築】

次に、フォルダマー骨格の検討から明らかになった疎溶媒効果と静水圧効果の作動機構を利用したセラノステイクスの実証を目的とし、コンフォメーション変化によって turn-on 型の蛍光シグナル変化による“診断”と DDS による“治療”が可能な感圧化学センサーの構築を目指した。

分子設計としてはアニオンレセプター1 ユニットの感圧応答性を確かめた上で、三脚型の足場にアニオンレ

セプター部位を配置し、open (蛍光 ON) から closed (蛍光 OFF) のコンフォメーション変化によっ

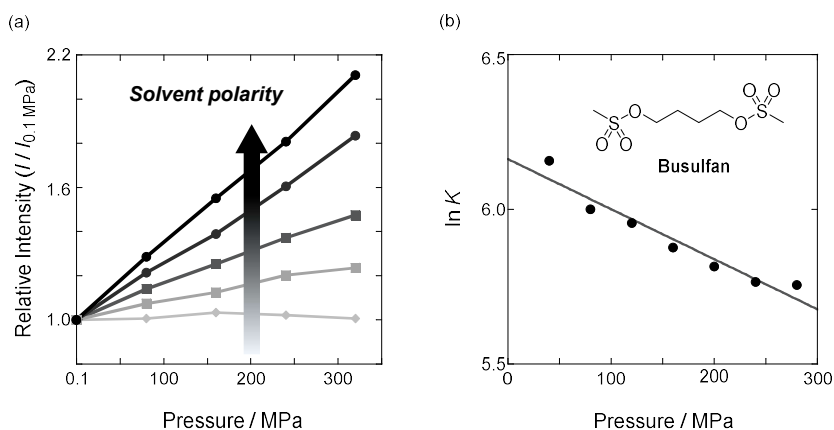


Figure 3. (a) Solvent polarity-dependent pressure-induced fluorescence intensity changes ($I_p/I_{0.1 \text{ MPa}}$). (b) Pressure dependence of the binding constant (K) of molecular flower with busulfan in dichloromethane at room temperature.

て、静水圧で制御可能なナノ空間の創出を目指した。

溶媒効果の検討として、ジクロロメタン、トルエンの他に、アセトニトリル、メタノールの高極性溶媒の混合溶媒を用いて静水圧分光分析を行った。その結果、溶媒極性の増加に応じて蛍光強度の減少が観測された (open→closed) 一方で、静水圧誘起の蛍光強度の変化の大きさは溶媒極性に比例した増加が観測された (closed→open、Fig. 3a)。次に、分子フラワーの分認識能を調査した結果、抗がん剤のブスルファンを $K = 677 \text{ M}^{-1}$ (0.1 MPa) で認識することが示された。 K は 280 MPa まで連続的に減少し (317 M^{-1} , 280 MPa)、この要因としてはアニオンレセプターの構造変化による体積変化 ($\Delta V = 4.0 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$) に基づいていることが明らかになった。この実験事実から、分子フラワーの静水圧刺激によって誘起される薬剤放出過程を初めて明らかにすることができた (Fig. 3b)。

【結言】

本博士論文の成果として、分子の配座や溶媒和に基づく感圧化学センサーの作動機構を体系的に明らかにしたことで、生体環境にも適用可能な瞬間的・局所的な圧力変化の可視化・定量化の分析手法として提示することができた。また、静水圧駆動の DDS モデルの系を初めて実証したことで、圧力を外部刺激とする革新的なセラノスティクスを提示した。本成果により、超分子からメカノバイオロジー、医療診断・治療までを統一的に繋ぐ概念として広範な学術的波及効果が望める。

【参考文献】

1. (a) Leffler, J. E. *J. Org. Chem.* **1955**, *20*, 1202. (b) Fukuhara, G. *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* **2020**, *42*, 100340.
2. Mizuno, H.; Fukuhara, G. *Acc. Chem. Res.* **2022**, *55*, 1748.
3. Silva, J. L.; Oliveira, A. C.; Vieira, T. C. R. G.; de Oliveira, G. A. P.; Suarez, M. C. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 7239.
4. Chugh, M.; Munjal, A.; Megason, S. G. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2022**, *131*, 134.
5. Matsumoto, K.; Nakagawa, K.; Asanuma, D.; Fukuhara, G. *Front. Chem.* **2024**, *12*, 1478034.

【報文目録】

- I. **Kinoshita, T.**; Haketa, Y.; Maeda, H.; Fukuhara, G. Ground- and excited-state dynamic control of an anion receptor by hydrostatic pressure. *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 6691.
- II. **Kinoshita, T.**; Imai, Y.; Fukuhara, G. Hydrostatic Pressure-Controllable Chiroptical Properties of Chiral Perylene Bisimide Dyes: A Chiral Aggregation Case. *J. Phys. Chem. B* **2021**, *125*, 5952.
- III. **Kinoshita, T.**; Fujise, K.; Tsurumaki, E.; Toyota, S.; Fukuhara, G. A pressure-induced ratiometric signalling chemosensor: a case of helical anthracenes. *Chem. Commun.* **2022**, *58*, 3290.
- IV. **Kinoshita, T.**; Nakamura, S.; Harada, M.; Hasobe, T.; Fukuhara, G. Control of intramolecular singlet fission in a pentacene dimer by hydrostatic pressure. *Chem. Sci.* **2023**, *14*, 3293.
- V. **Kinoshita, T.**; Sakamaki, D. Fukuhara, G. Multi-dimensional Dynamic Control of Supramolecular Phthalocyanine Gear: A Self-assembly System Responding to Solvent, Temperature, and Hydrostatic Pressure. *ACS Omega* **2024**, *9*, 34719.
- VI. **Kinoshita, T.**; Watanabe, K.; Tsurumaki, E.; Toyota, S.; Fukuhara, G. Pseudohelicene chemosensor displaying ternary signaling stimulated by hydrostatic pressure and solvent. *Chem. Commun.* **2025**, *61*, 1124.
その他の報文目録 5 報、解説文 2 件

【講演目録】

○**Tomokazu Kinoshita**, Kota Watanabe, Eiji Tsurumaki, Shinji Toyota, Gaku Fukuhara.: “Solvent-directed, pressure-controllable chemosensor: A case of helical anthracene dimer” 日本化学会第 104 春季年会 (2024 年 3 月, 英語口頭) 日本大学 船橋キャンパス, 他 13 件