

アカデミックプログラム [B講演] | 06. 分析化学：口頭B講演

2025年3月27日(木) 13:00 ~ 15:30 [C]C402(第2学舎 2号館 [4階] C402)

[[C]C402-2pm] 06. 分析化学

座長：稲川 有徳、中西 淳

◆ 日本語

13:00 ~ 13:20

[[C]C402-2pm-01]

キャピラリー電気泳動法による水溶液のアルミニウムとリン酸の錯体の分析

○咸 泳植¹ (1. 東京都市大学)

◆ 英語

13:20 ~ 13:40

[[C]C402-2pm-02]

電気化学測定による濃度補正を組み込んだキャピラリーイオン電気泳動に基づいた唾液イオンターゲット分析からのストレスマーカーの同定

○明珍 尋紀¹、上田 忠治¹、Chaleckis Romanas³、大嶋 紀安²、和泉 孝志⁴、久島 達也⁴、森 勝伸¹ (1. 高知大、2. 群馬大、3. 名市大、4. 帝京平成大)

◆ 英語

13:40 ~ 14:00

[[C]C402-2pm-03]

複合型MOF固定相の設計と合成

○松村 俊明¹、植村 卓史¹、細野 暢彦¹ (1. 東大院工)

◆ 日本語

14:00 ~ 14:20

[[C]C402-2pm-04]

BSA-ピロガロールレッドモリブデン酸錯体複合体の均一液液抽出における選択性の検討

○稲川 有徳¹、佐々木 蓮¹、上原 伸夫¹ (1. 宇都宮大学)

14:20 ~ 14:30

休憩

◆ 日本語

14:30 ~ 14:50

[[C]C402-2pm-05]

PDMSマイクロウエルアレイを用いたデジタル逆転写PCRによるSARS-CoV-2の検出

○細川 和生¹、大森 整¹ (1. 理研)

◆ 日本語

14:50 ~ 15:10

[[C]C402-2pm-06]

細胞足場および力学的仕事計測系としての液々界面

○中西 淳¹ (1. 国立研究開発法人物質・材料研究機構)

◆ 日本語

15:10 ~ 15:30

[[C]C402-2pm-07]

ナノ構造基板を用いた上皮成長因子による特異なアポトーシス誘導機構の探究

○山本 翔太¹、中西 淳¹ (1. 物質・材料研究機構)

キャピラリー電気泳動法による水溶液のアルミニウムとリン酸の錯体の分析

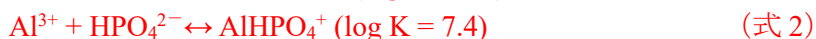
(都市大環) 咸 泳植

Aluminum-phosphate complexes analysis in aqueous solution with capillary electrophoresis
(Department of Restoration Ecology & Built Environment, Faculty of Environment Studies,
Tokyo City University) Young-Sik Ham

Aluminum (Al) is the secondary abundant mineral next to silicon in soils, accounting for around 7.1%. Al can be toxic for some plants and animals under acid conditions, which more than 40% agricultural areas have experienced worldwide. Phosphorus (P) is one of the three major essential elements for plants with N and K. However, the phosphate ions concentration in soil solution is limited by Al ions concentration and pH, which can be complexed with phosphate ions in small biomolecules and agricultural areas. The analysis of aluminum-phosphate complexes is limited with the determination difficulty. This study has performed the analysis of the average molar ratio of Al ions to phosphate ions resulting from the formation of aluminum-phosphate complexes in mixed solutions of Al and phosphate.

Keywords : Aluminum-phosphate complex; Aqueous solution; Capillary electrophoresis; pH; Phosphate/aluminum molar ratio

アルミニウムは土壤に多量に含まれる (平均 7.1%)。近年酸性雨により土壤が酸性化し、土壤溶液中のアルミニウム濃度 (Al^{3+}) の増大が問題視されている。アルミニウムイオンは、植物に対する毒性が強く、土壤微生物の働きを抑制する。リンは N、K と並ぶ植物の三大必須要素であるが、酸性領域において土壤溶液中のリン酸濃度は、 Al^{3+} と pH に律せられている。即ち、 Al^{3+} は溶液中でリン酸イオンとの錯体を形成する。しかし、これまでアルミニウム - リン酸錯体の全量分析は測定上の困難さにより制限されてきた。本研究では、キャピラリー電気泳動法を用い、アルミニウムとリン酸混合溶液中のアルミニウム - リン酸錯体形成によるアルミニウムイオンに対するリン酸イオンの平均的なモル比を求めた。



1) G. Sposito : “The Environmental Chemistry of Aluminum”, Edited by G. Sposito, p. 480 (1996), (CRC Press LLC, Boca Raton).

Identifying salivary stress markers using capillary ion electrophoresis target analysis with electrochemical correction

(¹Graduate School of Integrated Arts and Sciences, Kochi University, ²Graduate School of Medical Sciences, Nagoya City University, ³Graduate School of Medicine, Gunma University, ⁴Faculty of Health Care, Teikyo Heisei University)

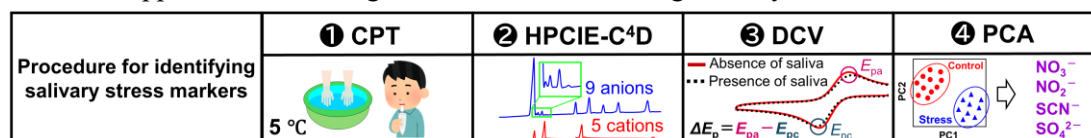
○Hironori Myochin¹, Tadaharu Ueda¹, Romanas Chaleckis², Noriyasu Ohshima³, Takashi Izumi⁴, Tatsuya Hisajima⁴, Masanobu Mori¹

Keywords: Stress; Saliva; Ion; Capillary electrophoresis; Cyclic voltammetry

Salivary analysis has been widely recognized as a non-invasive approach in the bioanalytical fields. Salivary ions, which play key roles in the transport, biosynthesis, and metabolism of biologically active substances, offer valuable insights into an individual health status as potential biomarkers [1]. However, the relationship between salivary ions and health status, especially stress, remains poorly understood. In this study, we developed an analysis method for identifying stress markers focusing on salivary ions.

High-performance capillary ion electrophoresis with a capacitively coupled contactless conductivity detector (**HPCIE-C⁴D**) using a chemically coating capillary was effective for the simultaneous analysis of 14 targeted salivary ions [2]. The capillary, which consists of two different ionic polymers and a quaternary ammonium spacer, can suppress adsorption of glycoproteins. The ion concentrations measured using HPCIE-C⁴D were corrected by the ratio in redox potential (ΔE_p), obtained from direct current cyclic voltammograms (**DCV**) of ferricyanide in the absence and in the presence of saliva. This correction solved the overestimations caused by glycoproteins related to the viscosity of saliva, enabling more accurate statistical analysis.

We applied these ion analytical methods to saliva samples obtained from a Cold Pressor Test (**CPT**), which is an acute stress test, is conducted by immersing both hands in cold water (5 °C) or lukewarm water (25 °C, a control). Principal component analysis (**PCA**) was performed on the corrected data to identify stress-related ions. The results suggested that ions were related to the metabolism of vasodilators induced by acute stress due to cold water stimulation. Specifically, these are nitrate and nitrite ions, which are metabolites of nitric oxide [3], and thiocyanate and sulfate ions, which are metabolites of hydrogen sulfide [4]. In other words, this method is applicable to the diagnosis of acute stress using salivary ions.



References: [1] G. Giacomello, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **191** (2020) 113604. [2] H. Myochin, et al., *J. Chromatogr. A*, **1720** (2024) 464769. [3] X. Chai, et al., *Front. Cardiovasc. Med.*, **11** (2024) 1337281. [4] B. Lv, et al., *J. Adv. Res.*, **27** (2021) 85.

複合型 MOF 固定相の設計と合成

(東大院工¹⁾ ○松村 俊明¹・植村 卓史¹・細野 暢彦¹

Design and Synthesis of MOF Composite Stationary Phases (¹*Graduate School of Engineering, The University of Tokyo*) ○Toshiaki Matsumura,¹ Takashi Uemura,¹ Nobuhiko Hosono¹

We have previously demonstrated the recognition and separation of molecules based on their minute structural differences using metal–organic framework (MOF) particles as stationary phases for HPLC.^{1,2} Though multifunctional pores of MOF have enabled versatile recognition of molecules, conventional MOF columns have only one homogeneous pore environment. Herein, we developed MOF-on-MOF stationary phases to realize multifarious pores, which diversify recognizable molecules dramatically. Two different MOFs are hierarchized by layer-by-layer method (Figure 1).³ The separation characters of the MOF-on-MOF column will be discussed in the presentation. Moreover, MOF@SiO₂ core-shell stationary phases were also fabricated successfully using the layer-by-layer method.

Keywords : column, metal-organic framework, composite, chromatography, polymer

我々はこれまでに多孔性金属錯体 (MOF) の粒子を固定相とした MOF カラムクロマトグラフィーを開発し、従来のカラムでは困難であった分子の微細構造の認識及び分離に成功してきた^{1,2}。MOF の多機能性細孔は分子認識・分離の幅を大きく広げた一方で、従来の MOF カラムでは 1 種類の均一な細孔環境に基づく分離しか行えていなかった。

本研究では、複数種の認識空間、またはその組み合わせに基づく多様な分離の実現に向けて、異なる細孔環境を有する 2 種類の MOF を階層化した MOF-on-MOF 固定相の開発を行った。Layer-by-Layer 法³を用いて 2 種類の MOF ($[\text{M}_2\text{L}_2\text{P}]_n$, $\text{M} = \text{Cu}$ or Zn , $\text{L} = \text{bdc}$ (1,4-benzenedicarboxylate) or ndc (1,4-naphthalenedicarboxylate), $\text{P} = \text{ted}$ (triethylenediamine)) を積層した複合型 MOF 粒子を合成した (Figure 1)。得られた MOF-on-MOF 粒子を固定相として充填したカラムを用いて HPLC における分離特性を評価した。

また本手法は SiO₂ と MOF の複合化についても有効であることを見出し、MOF@SiO₂ コアシェル固定相の合成も行った。今後、基材や複合様式の最適化により高性能かつ多機能性 MOF カラムの実現に繋がると期待される。

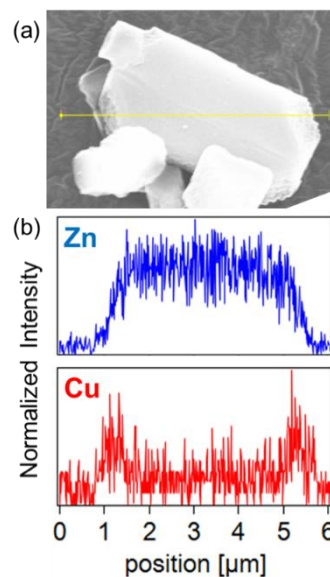


Figure 1. (a) SEM image and (b) EDX line profile of Zn and Cu for $[\text{Cu}_2(\text{bdc})_2\text{ted}]_n$ -on- $[\text{Zn}_2(\text{ndc})_2\text{ted}]_n$ particle.

1) N. Hosono, T. Uemura, *Acc. Chem. Res.* **2021**, 54, 3593.

2) N. Mizutani, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 75, 7644.

3) K. Otsubo, T. Haraguchi, O. Sakata, A. Fujiwara, H. Kitagawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 9605.

BSA-ピロガロールレッドモリブデン酸錯体複合体の均一液液抽出における選択性の検討

(宇都宮大工) ○稲川 有徳・佐々木 蓮・上原 伸夫

Extraction selectivity of BSA-pyllogarol red Molybdate complex on homogeneous liquid-liquid extraction (*School of Engineering, Utsunomiya University*) ○Arinori Inagawa, Ren Sasaki, Nobuo Uehara

This study investigated the homogeneous liquid-liquid extraction behavior of bovine serum albumin (BSA) using an aqueous solution of Triton X-114 (TX114). The addition of pyrogallol-red molybdate (PR-Mo) to the solution enabled the complete extraction of BSA into the TX114-rich phase, although selective extraction of BSA and PR-Mo into the TX114 phase was not achieved. To elucidate the distribution mechanism, photometric titration and circular dichroic (CD) spectroscopy were employed. BSA formed a complex with PR-Mo at a molar ratio of 1:42 in pure water, whereas the ratio shifted to 1:21 in an aqueous solution of TX114, indicating the formation of a ternary BSA-PR-Mo-TX114 complex. CD spectral analysis revealed that the α -helix structure of BSA predominated in pure water, whereas the β -strand structure became dominant in the presence of PR-Mo. These results suggest that the structural change in BSA induced by the formation of the ternary complex serves as a potential switching mechanism for the partitioning behavior of BSA.

Keywords : *bovine serum albumin, homogenous liquid-liquid extraction, pyllogarol red-Molybdate complex*

本研究では、Triton X-114 (TX114) 水溶液を用いたウシ血清アルブミン (BSA) の均一液-液抽出挙動を検討した。溶液中にピロガロールレッド-モリブデン酸 (PR-Mo) を添加することで、BSA を完全に TX114 相へ抽出できることを確認したが、BSA および PR-Mo を選択的に TX114 相へ抽出することはできなかった。分配メカニズムを解明するために、吸光滴定および円偏光二色性 (CD) 分光法を用いて解析を行った。BSA は純水中で PR-Mo と 1:42 の物質質量比で複合体を形成したが、TX114 水溶液中では 1:21 の物質質量比に変化し、三元複合体 BSA-PR-Mo-TX114 が形成されることを示した。CD スペクトル解析により、純水中では BSA の α -helix 構造が優勢である一方、PR-Mo 存在下では β -strand 構造が優勢であることが明らかになった。以上の結果から、BSA が三元複合体を形成することによる構造変化が BSA の分配挙動の切り替えメカニズムである可能性が示唆された。

PDMS マイクロウェルアレイを用いたデジタル逆転写 PCR による SARS-CoV-2 の検出

(理研¹⁾) ○細川 和生¹・大森 整¹

Detection of SARS-CoV-2 by Digital Reverse Transcription PCR on a PDMS Microwell Array
(¹*Materials Fabrication Laboratory, RIKEN Cluster for Pioneering Research*) ○Kazuo Hosokawa,¹ Hitoshi Ohmori¹

Digital PCR enables sensitive and precise analysis for nucleic acids without calibration. However, the commercialized digital PCR instruments are expensive and not yet in widespread use. We previously reported a PDMS microwell array (MWA) chip which realized digital PCR using only common laboratory equipment. The MWA chip had been applied to DNA detection. In this talk, we will report an extension of the above method to 1-step reverse transcription PCR and its application to detection of SARS-CoV-2 genetic RNA.

Keywords : Digital PCR; Microfluidic Chip; 1-Step Reverse Transcription PCR; SARS-CoV-2

デジタル PCR はキャリブレーション不要で高精度な核酸分析法であるが、高価な専用装置を必要とするため、広く普及しているとは言えない。我々は過去に独自のマイクロウェルアレイ (MWA) チップにより、専用装置を用いることなく、一般的なサーマルサイクラーと蛍光顕微鏡のみでデジタル PCR を行い、標的 DNA を検出した¹⁾。本講演ではこの手法を逆転写 PCR に拡張し、SARS-CoV-2 の遺伝子配列を持った RNA の検出に応用した結果を報告する。

MWA チップは PDMS を素材とし、一辺 50 μm 、深さ 100 μm のウェルを 24,840 個備えている。SARS-CoV-2 N 遺伝子の標準試料を鋳型 RNA とし、逆転写 PCR 試薬と混合した。混合液を MWA チップのウェルに導入し、ガラス基板で封入した。チップをサーマルサイクラーに入れて逆転写反応を行ない、引き続いて PCR を行った。

反応後の MWA チップを蛍光顕微鏡で観察したところ、ウェルの蛍光強度に明暗の違いが明確に見られ、明るいウェルの個数は鋳型 RNA 濃度に応じて変化した (Fig. 1)。明るいウェルの個数を定量的に評価したところ、鋳型 RNA 濃度から予測される理論値とよく一致した。以上から、既報¹⁾の手法が逆転写 PCR にも適用できることが分かり、ウイルス感染症の診断などに応用できる可能性が示唆された。

1) K. Hosokawa, H. Ohmori, *Anal. Sci.*, **2023**, 39, 2067.

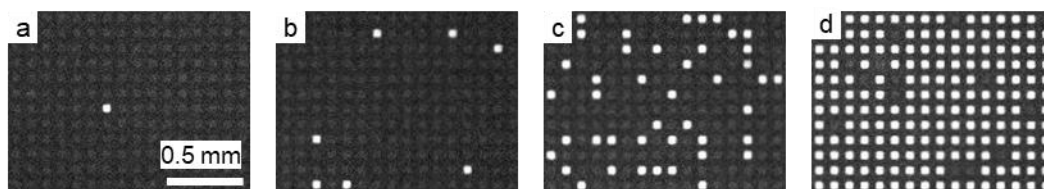


Fig. 1. Fluorescence images of the results of digital 1-step reverse transcription PCR with varying concentrations of the target RNA; (a) 1.0×10^1 copies/ μL , (b) 1.0×10^2 copies/ μL , (c) 1.0×10^3 copies/ μL , and (d) 1.0×10^4 copies/ μL .

細胞足場および力学的仕事計測系としての液々界面

(NIMS¹・京大院工²) ○中西 淳¹

Liquid interface as a cell scaffold and mechanical work meter (¹*National Institute for Materials Science*)○Jun Nakanishi¹

As an alternative to conventional plastics, we are developing a cell culture technology that uses the interface of water-immiscible hydrophobic liquids as a cell scaffold. The interfacial tension drives the jamming transition of adsorbed proteins which can sustain cellular traction forces. Conversely, when the interface is coated with bioinert phospholipid to prevent protein adsorption, it retains the original liquid-like supersoft nature to deform sensitively against the traction forces. In this talk, I will present our recent progress in expanding the repertoire of hydrophobic liquids as cell scaffolds and an application to measure cellular mechanical work by exploiting fluid properties.

Keywords : *Cell Scaffold; Liquid-liquid Interface; Mechanobiology*

実験室では、通常プラスチックなどの硬い基材で細胞培養を行うが、我々は、水と混じり合わないパーフルオロカーボン (PFC) やイオン液体 (IL) などの疎水性液体との界面を細胞足場に用いる技術を開発している^{1,2)}。これは液体界面に吸着したタンパク質が界面張力に駆動されて頑強な固体状のナノ薄膜へと成熟し、それらが細胞の牽引力に抵抗しうるからである。特筆すべきなのは、バルクは液体として流動性を示しつつ、界面は固体のように硬いというトレードオフの関係が成立された力学的特徴である。したがって培養形態も Fig. 1 の写真のように二層分離した静置系に限らず、培地中に疎水相を分散させたエマルションなど、新たな培養モダリティの創出に繋がる可能性を秘める。一方で、界面をリン脂質で修飾し、タンパク質の吸着を抑制すると液体本来の可変形性を維持することができる³⁾。しかもやや逆説的なのであるが、リン脂質に細胞接着性の RGD ペプチドと蛍光式を導入すれば、細胞はこの軟らかい界面の上でも接着・伸展することができ、界面の形状変化から細胞が界面に行う力学的仕事 (力の積分) を計測することもできる (Fig 1)。本発表では、本コンセプトにおいて細胞足場となりうる疎水性液体の拡張に関する検討と、細胞の力学的仕事計測系としての応用に関する最近の進捗を紹介する。

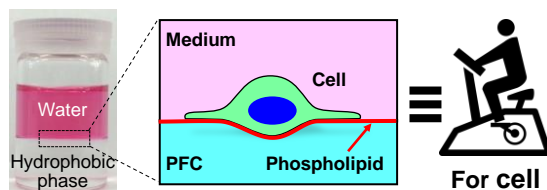


Fig 1: A phospholipid-coated perfluorocarbon (PFC) interface serves as cellular mechanical work meter.

- 1) Modulation of Mesenchymal Stem Cells Mechanosensing at Fluid Interfaces by Tailored Self-Assembled Protein Monolayers, *Small* **2019**, 15, 1804640.
- 2) Ionic Liquid Interface as a Cell Scaffold, *Adv. Mater.* **2024**, 36, 2310105.
- 3) Adaptive Fluid Interfacial Phospholipid Membranes Unveiled Unanticipated High Cellular Mechanical Work, *Adv. Mater.* **2024**, 36, 2403396.

ナノ構造基板を用いた上皮成長因子による特異なアポトーシス誘導機構の探究

(NIMS¹⁾) ○山本 翔太¹・中西 淳¹

Study of mechanism of unique apoptotic induction by epidermal growth factor using nanostructured substrates (¹*Research Center for Macromolecules and Biomaterials, National Institute for Materials Science (NIMS)*) ○Shota Yamamoto,¹ Jun Nakanishi¹

Epidermal growth factor (EGF) is a small secretory protein that induces cell proliferation upon binding to EGF receptor on the plasma membranes. One interesting feature of the protein in the nanomaterial field is its acquisition of apoptosis-inducing activity rather than proliferative one upon conjugation to gold nanoparticles. We have demonstrated that nanoparticles induced apoptosis by modulating signaling through the confinement of EGF receptors within membrane rafts. In this study, we developed nanostructured substrates capable of nanoscopic spatial confinement of EGF exposure and investigated the mechanism of unique apoptotic activity induced by EGF.

Keywords : Anticancer drug, Nanostructured substrates, Epidermal growth factor, Apoptosis, Mechanobiology

細胞増殖を促す上皮成長因子(EGF)は、金ナノ粒子に固定されることでアポトーシス活性を示す¹⁾。これは、ナノ粒子が EGF 受容体を細胞膜上の脂質ラフトというナノサイズの場に拘束し、シグナル伝達を変調することに起因する。そこで本研究では、EGF を暴露する空間をナノスコピックに制限できるナノ構造体を作製し、EGF が誘起する特異なアポトーシス活性の作用機序を調べた。

EGF の暴露方法を制御するため、平坦な金基板にナノ粒子を介して EGF を固定化した EGF 修飾ナノ構造体、および EGF を修飾した EGF 修飾平板を作製した。これらの EGF 修飾材料を、表皮癌の A431 細胞とトリプルネガティブ乳がん細胞の MDA-MB468 細胞の頭頂部に 4 時間接触させ、その抗がん活性を Caspase-3/7 を指標に調べた (Fig. 1)。EGF 修飾平板では、A431 細胞および MDA-MB468 細胞に対して、Caspase-3/7 の活性を示さなかったのに対して、EGF 修飾ナノ構造体は有意に活性化を示した。この結果は、EGF 刺激をナノスケールで制御するだけで、EGF の効果を細胞増殖からアポトーシスへと切り替えることを示している。以上のことから、本研究で開発した方法論は、貼付型抗がん剤をはじめとする新しい治療法の創出に貢献する可能性がある。

1) S. Yamamoto et. al., *Acta Biomaterialia*, **2019**, 88, 383.

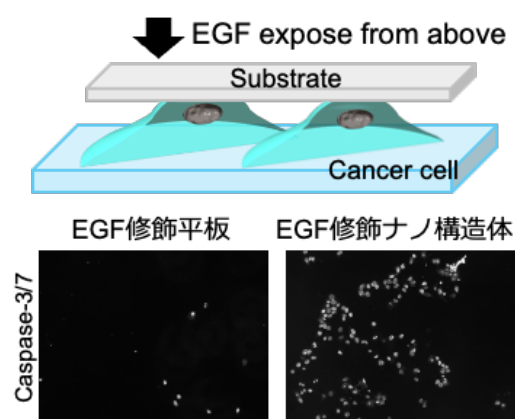


Fig 1. EGF修飾材料をA431細胞に投与後の caspase-3/7の活性