

温度応答性高分子を用いたうま味成分の高感度検出法の確立とそれを用いたドリッブ内における呈味性ヌクレオチド生成の速度論的解析

稲川 有徳 (代理発表: 保田 あさ陽)

うま味成分であるグルタミン酸の定量は食品の質の担保や生体組織内における生理活性機能解明のために重要な役割を果たしている。一般的なアミノ酸の定量は高速液体クロマトグラフィや酵素反応により行われている。しかしながら、煩雑な前処理や厳密な実験条件の管理が必要であり、ルーティン分析に適した新しい手法の確立が求められる。一方で、発表者らの研究室では熱応答性高分子(TRP)の機能化により、静電相互作用を利用することで TRP の相転移挙動を制御することによりタンパク質や糖鎖の定量を可能にしてきた。この概念を小分子であるアミノ酸に適用することができれば、複雑な実験手順を得ることなく「ラフ」な温度管理のみで物質を選択的に検出することができる。そこで、本研究ではグルタミン酸が酸性アミノ酸であることに着目し、様々な電荷を有する TRP プロブを合成し、グルタミン酸(酸性アミノ酸)を選択的に検出および定量することを目指した。

本研究では、特に図 1 に示す poly (*N*-isopropylacrylamide-*co*-*N*-acrylamideethylamine)(pNIP-EA) と poly (*N*-isopropylacrylamide-*co*-methacrylic acid)(pNIP-MA)について詳細に検討した。これは以下のような理由に基づく。すなわち、酸性アミノ酸であるグルタミン酸は等電点が pH 3.2 であり、酸性領域でも負電荷を有する。よって低 pH 領域でカチオン性を有するポリマーと静電相互作用を引き起こし、TRP の相転移を誘発する。実際に pNIP-EA の水溶液を pH4.0 に設定しグルタミン酸を添加すると、グルタミン酸濃度に応じて pNIP-EA の凝集は促進された(図 2)。また中性アミノ酸であるグリシンを添加しても凝集の挙動は変化しなかった。しかしながら、塩基性アミノ酸であるリシンを添加するとグルタミン酸の場合よりも凝集が促進されることがわ

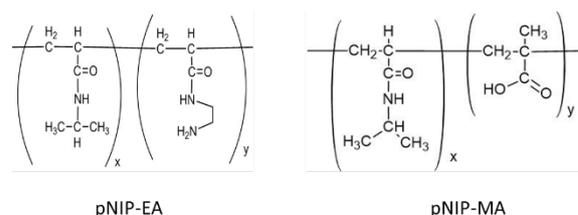


Fig. 1. Chemical structures of the polymer probe examined in this study

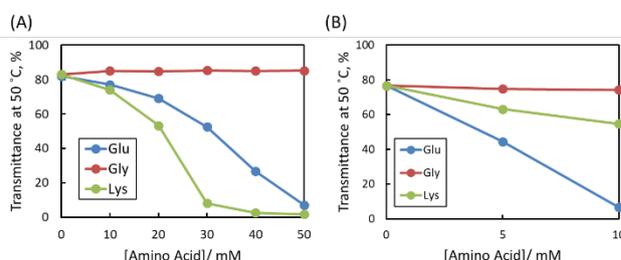


Fig. 2. Transmittance of TRP solutions on addition of various types of amino acids (A)pNIP-EA at pH 4.0 (B) pNIP-MA at pH 5.0

かった。そこで、アニオン性を有する pNIP-MA の pH を 5.0 に設定し、同様にグルタミン酸、グリシン、リシンを添加すると、pNIP-EA とは反対の挙動が観察された。すなわち、グルタミン酸が最も凝集を誘発した。これは、当初のコンセプトとは異なり、アミノ酸と高分子電解質との相互作用が単なるクーロン相互作用では議論することができず、溶液内における高分子の排除体積効果やドナン平衡を考慮する必要があるということがわかった。発表では、これを利用したグルタミン酸の蛍光検出や他のモノマーを用いて合成した TRP とアミノ酸の相互作用についても詳細に報告する。

【発表目録】 (1)保田あさ陽, 上原伸夫, 稲川有徳, 第 80 回分析化学討論会 (2020 年 5 月) (2)A. Yasuda, N. Uehara, A. Inagawa, Royal Society of Chemistry Tokyo International Conference 2020 (December 2020)