

P507

時間分解蛍光イムノアッセイによるエストリオールの高感度測定

科学技術振興事業団・早大理工 ○福井崇・真島桂介・袁景利・王桂蘭・松本和子

【目的】希土類蛍光錯体は有機蛍光物質に比べ、強くシャープな蛍光ピーク、非常に長い蛍光寿命、大きなストークスシフトという利点を持ち、サンプルや測定容器に由来するバックグラウンド蛍光を少なくすることができる。そのため、蛍光ラベル剤としてさまざまなタンパク質や核酸などの生体分子を高感度時間分解蛍光イムノアッセイや、DNA ハイブリダイゼーションアッセイに応用することができる。当研究室では、以前ユウロピウム蛍光ラベル剤 4,4'-Bis(1'',1'',1'',2'',2'',3'',3''-heptafluoro-4'',6''-hexanedion-6''-yl)chlorosulfo-*o*-terphenyl (BHHCT)-Eu³⁺ を合成した。

本研究では、内分泌攪乱物質として疑われている、女性ホルモンであるエストリオール (E3) の測定を BHHCT-Eu³⁺ 蛍光ラベル剤を用いた時間分解蛍光イムノアッセイ法により行った。

【実験】まず、BHHCT を E3-牛血清アルブミン (BSA) と常温で 1 時間反応させ、残留物を Sephadex G50 カラムでゲル濾過して取り除き標識した。

96-well microtiter plate に Goat 抗 Rabbit IgG 抗体を 4 °C で 24 h 放置し、洗浄後、抗 E3 抗体を 4 °C で 2 h 反応させた。洗浄後、E3-BSA を BHHCT に直接標識した溶液に Eu³⁺ を加え、E3 標準溶液と競合させた後洗浄し、固相のまま測定を行った。

【結果】 Fig.1 に得られたエストリオール測定の検量線を示す。

この結果から、検出限界は 86 pg/ml であり、従来よりも 1 ~ 2 桁ほど好感度であることが明らかとなった。本測定法は大変簡易であり、非常に高い感度があるため、今後は河川水中でのエストリオールの微量測定や女性妊婦の血清による胎児のダウン症候群の選別などへの応用が期待される。

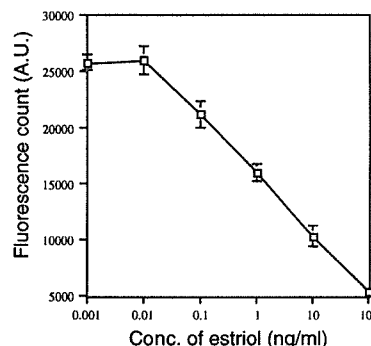


Figure.1 The calibration curve for estradiol

P508

ビバリン酸アミド架橋白金(III)2核錯体と各種アルキンとの反応およびα-アミノケトンの合成

科学技術事業振興団・早大理工 ・○山田 潤・林 泳寿・三澤 英絵・松本 和子

【目的】ケトンとアミド架橋白金(2.25+)4核錯体[Pt₄(C₅H₁₀NO)₄(NH₃)₈]⁵⁺との反応より、ケトンの C-H 活性を経てケトアルキル配位白金(III)2核錯体を生成することが以前の研究で報告されている。このとき白金の電子状態は R-Pt(IV)-Pt(II)に近い状態であり、α-炭素が欠電子性になり求核攻撃を受けやすくなっていると考えられる。今回、アミド架橋白金(III)2核錯体と各種アルキンとの反応においてもケトアルキル配位白金錯体が生成され、これらの錯体と HNEt₂ との反応でα-アミノケトンを得たので報告する。

【実験、結果、考察】白金(III)2核錯体は、白金(2.25)4核錯体を水溶液中で酸化することで得られる。この溶液中でアルキンを反応させ錯体の生成を行った。末端アルキン、内部アルキンどちらを用いた場合も、ケトニル白金(II)2核錯体[Pt(II)₂(C₅H₁₀NO)₂(NH₃)₄(CH R'COR)]³⁺が得られた。これは、アルキン部位での白金への配位に続き、系中の水分子が求核攻撃しケト-エノール互変異性を経て生成されたものと推定される。また 2-Pentyn-1-ol を用いた場合、水分子の求核攻撃が起こり続いてケト-エノール互変異性化を起こすのではなく、分子内における脱水反応が進行しケトアルケニル白金(III)2核錯体[Pt(III)₂(C₅H₁₀NO)₂(NH₃)₄(CH₂CCOCH₂CH₃)]³⁺が得られた。更に、これらのケトニル白金錯体は、HNEt₂ と化学量論的に反応し、α-アミノケトンを生産することが明らかになった。これらの錯体および化合物は、NMR・X 線構造解析・GC-MASS を用いて同定を行った。

