



Tokyo Tech

平成 31 年 4 月 18 日

報道機関各位

東京工業大学広報・社会連携本部長  
佐藤 勲

## 性ホルモンの男女を見分ける分子カプセル

— 男性ステロイドホルモンの超高感度センシング法を開発 —

### 【要点】

- 水中で分子カプセルが種々のステロイド性ホルモンを強く捕捉
- 男性と女性ホルモンの混合物から男性ホルモンを選択的に捕捉
- 数ナノグラム量の男性ホルモンの高感度蛍光センシングに成功

### 【概要】

東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所の山科雅裕博士研究員（当時、現・理学院 化学系 助教）と吉沢道人准教授らは、水中で分子カプセルがステロイド性ホルモンの混合物の中から、男性ホルモンを選択的に捕捉できることを発見した。また、分子カプセルと蛍光色素を組み合わせることで、極微量の男性ホルモンの蛍光センシングにも成功した。本成果は人工のカプセル分子による初の超高感度な男性ホルモンの検出法であり、性ホルモンの生理活性機構の解明やドーピングの新検出剤の開発などが期待される。

酵素のタンパク質ポケットによる生体分子の選択的な捕捉は、続く生理活性や酵素反応を決定付ける重要な第 1 ステップである。生体のステロイド性ホルモンは、わずかな分子構造の差で異なる生理活性を誘導し、その役割によって男性と女性ホルモンの大別される。生体ポケットはこれらの性ホルモンを厳密に識別できるが、従来の合成レセプターでは識別できなかった。

本研究では、同グループが作製した分子カプセルが、種々のステロイド性ホルモンを水中で効率良く取り込むことを見出した。注目すべきは、そのカプセルが類似の構造を持つ男性と女性ホルモンの混合物から、男性ホルモンのみを識別して捕捉できたことである。そのメカニズムとして、剛直なカプセル骨格が内包したホルモンの形状に誘起されて構造変化し、多点の分子間相互作用が働くことが判明した。さらに、あらかじめ蛍光色素を捕捉させた分子カプセルを用いることで、交換反応によりナノグラム量の男性ホルモンの蛍光検出にも成功した。

上記の研究成果は、米国科学振興協会（AAAS）の科学雑誌「*Science Advances*」に、平成 31 年 4 月 19 日（米国東海岸時間）付けで掲載される。

## ●研究の背景とねらい

酵素はタンパク質からなるナノポケットを利用し、狙いとする生体分子を選択的に捕捉することで、続く生理活性や酵素反応を厳密に制御している。この生体系にとって重要な第一段階を人工的に模倣することができれば、特定の生体分子の超高感度な検出法の開発が期待できる。様々な生体分子の中でステロイド性ホルモンは、その構造および機能的な特徴によりアンドロゲン (=男性ホルモン)、プロゲステロゲン (=女性ホルモン) とエストロゲン (=女性ホルモン) に分類される (図 1a)。これらの性ホルモンの分子構造は類似しており、主な違いは4つの環状骨格のAとD環上の官能基のみである。生体のタンパク質ポケットは、その微細な構造の違いを厳密に識別できる。しかしながら、人工のかご型やカプセル型分子の内部空間では、比較的大きな性ホルモンを捕捉すること自体が困難であり、また、男女の識別は達成されていなかった。

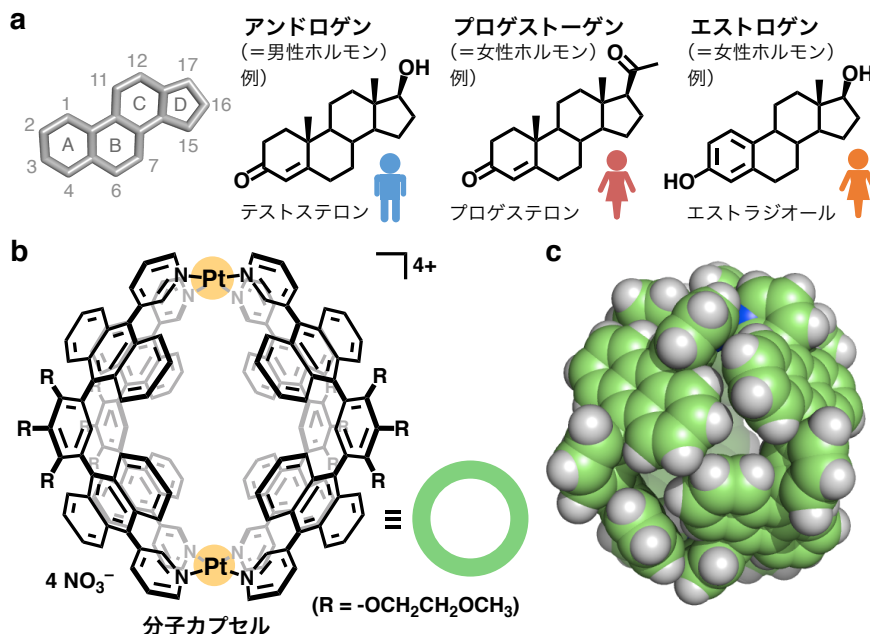


図 1 (a) ステロイド性ホルモンの母骨格と代表的な性ホルモン (b) 分子カプセルの構造と (c) その空間充填モデル (R は省略)

今回、アンドロゲンレセプター [文献 1] の約 10 分の 1 の大きさの分子カプセル (同グループが開発 [文献 2]; 図 1b) が、種々のステロイド性ホルモンを水中で強く捕捉することを見出した。また、詳細な競争実験より、分子カプセルが男性と女性ホルモンの混合物から、男性ホルモン (アンドロゲン) を選択的に捕捉できることを明らかにした。捕捉後の分子カプセルの結晶構造解析から、識別のメカニズムは、カプセル骨格がホルモン構造に誘起されて変形し、分子間相互作用が多点で働くことに起因すると判明した。さらに、蛍光色素を予め捕捉させた分子カプセルを利用することで、水中に溶解する数ナノグラム [用語 1] 量の男性ホルモンの蛍光検出に成功した。

## ●研究内容

### 男性ステロイドホルモンの選択的捕捉

まず、分子カプセル (図 1b) のステロイド性ホルモンに対する捕捉能を調査した。代表的なアンドロゲンのテストステロン (1 当量) を分子カプセルの水溶液に添加し 60 °C で 10 分間加熱攪拌すると、水に難溶なテストステロンは**疎水効果** [用語 2] により定量的にカプセル内に捕捉された。捕捉の事実は<sup>1</sup>H NMR (プロトン核磁気共鳴装置) および ESI-TOF MS (飛行時間型 質量分析装置) 分析で確認した。同様の方法で、代表的なプロゲステロゲンのプロゲステロンとエストロゲンのエストラジオール (図 1a) もそれぞれ効率良く分子カプセルに捕捉された。

続いて、競争実験により捕捉の選択性を評価した。分子カプセルの水溶液に対して、上記のテストステロン、プロゲステロン、エストラジオールを 1 当量ずつ添加し、加熱攪拌した。その結果、テストステロンが 98 % 以上の選択性で分子カプセルに捕捉されることが判明した (図 2a)。その捕捉の強さは、プロゲステロンの 100 倍以上であった。興味深いことに、この選択性は 1 当量のテストステロンと大過剰量のプロゲステロンとエストラジオール (それぞれ 100 当量) を混合した場合でも維持された。

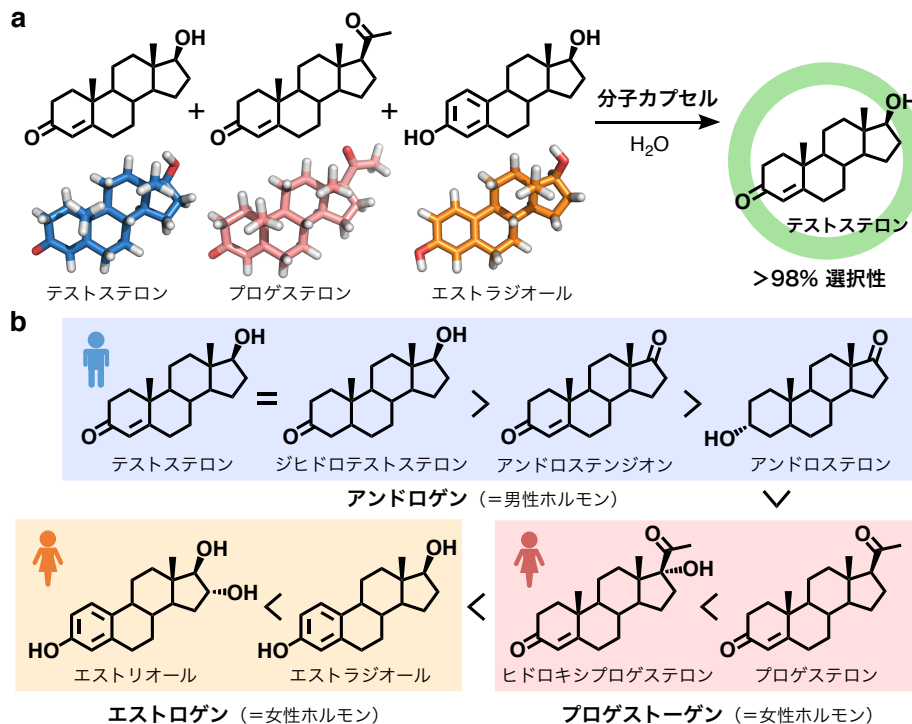


図 2 (a) 分子カプセルによる男性/女性ホルモン混合物中からの男性ホルモンの選択的捕捉  
(b) 分子カプセルによる性ホルモン識別の優先順位

他のステロイド性ホルモンに関して捕捉の競争実験を行った結果、分子カプセルはテストステロンやジヒドロテストステロンやアンドロステロンなどのアンドロゲン (男性ホルモン) に対して、プロゲステロンやヒドロキシプロゲステロンのプロゲステーゲン (女性ホルモン)、エストラジオールやエストリオールのエストロゲン (女性ホルモン)

よりも強く捕捉することが判明した (図 2b)。すなわち、男性と女性ホルモンを明確に識別できることが明らかになった。また、アンドロゲンの中での捕捉の優先順位では、テストステロン、ジヒドロテストステロン、アンドロステンジオンに続いて、アンドロステロンとなった。得られた捕捉の順序は、性ホルモン自身の水溶性の違いには依存していない。

### 選択的な捕捉のメカニズム解明

なぜ、分子カプセルが男性ホルモンを選択的に捕捉できるかを解明するため、テストステロンを含む分子カプセルの単結晶を作製し、その X 線結晶構造解析を行った。その結果、約 1 nm サイズのカプセル空間に、同サイズのテストステロンが完全に内包されていることが判明した (図 3a、b)。このとき、本来の球状カプセル骨格は、板状のテストステロンに合わせて大きく変形していた。この現象は、柔軟なタンパク質ポケットで見られる誘導適合 [用語 3] モデルと同様であるが、剛直な人工空間での発現は稀である。この立体構造変化で、分子カプセルを構成する芳香環パネルは、テストステロンの A と D 環に最近接し、環上の官能基が多点の CH/OH- $\pi$  相互作用 [用語 4] および水素結合していた (図 3c)。性ホルモンの構造の差異は、両端の A/D 環上の官能基に大きく依存することから、D 環がより嵩高いプロゲステロンや A 環がより剛直なエストラジオールより、テストステロンがカプセル空間に最も適合したと考えられる。

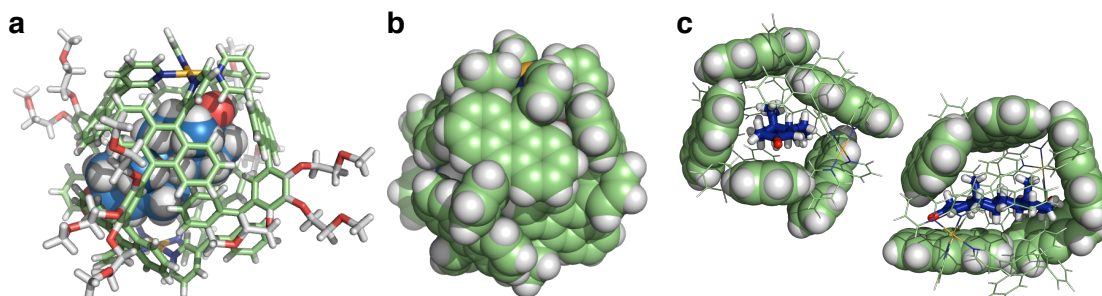


図 3 テストステロン内包体の X 線結晶構造 (a) 分子カプセル：棒モデル、テストステロン：空間充填モデル (b) 空間充填モデル (c) 2 つの角度から見たカプセル空間とテストステロンの配置 (カプセル骨格の一部：空間充填モデル)

### 極微量の男性ホルモンの蛍光センシング

高感度な男性ホルモンの検出デバイスを志向し、分子カプセル内での分子交換反応を利用した、テストステロンの蛍光センシングに挑戦した。本来、水に不溶なクマリン系色素は分子カプセルに捕捉されると水溶化し、紫外光照射で青緑色に発光する (図 4 左) [文献 3]。この水溶液に、約 200 ナノグラムのテストステロンを含む水溶液を添加すると、テストステロンが優先的に捕捉され、クマリンは放出された。その結果、紫外光照射に対して蛍光が顕著に低下した (図 4 右)。この蛍光変化は、蛍光光度計でも明確に検出された。男性ホルモンのナノグラムセンシングに成功した。

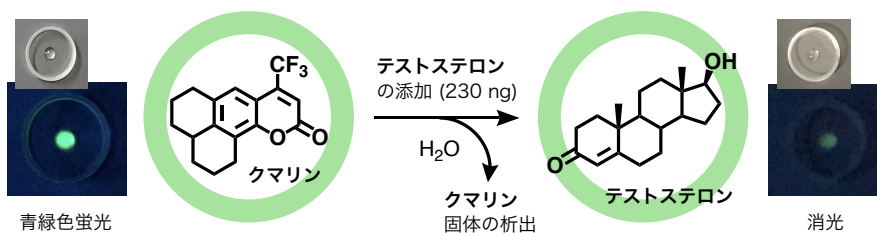


図4 分子交換反応を用いたテストステロンの高感度な蛍光センシング ( $\lambda_{\text{ex}} = 423 \text{ nm}$ )

### ●今後の研究展開

本研究では、山科研究員、吉沢准教授らのグループが開発した分子カプセルを利用することで、これまで困難であった男性ステロイドホルモンの高選択的な識別を達成した。その識別能は、誘導適合による多点の分子間相互作用に起因し、また、蛍光色素との交換反応で、ナノグラム量の男性ホルモンの蛍光検出に成功した。これらの成果は、性ホルモンの生理活性機構の解明や複雑な生体関連分子の識別を可能とする合成レセプターの設計指針を与えるだけでなく、スポーツ界で問題となっているステロイドのドーピング検出などの超高感度分析への展開も期待できる。

### 【用語説明】

- (1) ナノグラム：1 g の 10 億分の 1 の重さ。
- (2) 疎水効果：油と同様の性質をもつ化合物またはその部位が、水中で互いに集合する（引き合う）現象。
- (3) 誘導適合：タンパク質のポケットが、対象となる分子（基質）の形状に合わせて構造変化すること。
- (4) CH/OH- $\pi$  相互作用：炭素または酸素原子上の水素と芳香族化合物の間に働く静電的な相互作用。

### 【参考文献】

- (1) K. Pereira de Jésus-Tran, P.-L. Côté, L. Cantin, J. Blanchet, F. Labrie, R. Breton, *Protein Sci.* **15**, 987–999 (2006).
- (2) M. Yamashina, Y. Sei, M. Akita, M. Yoshizawa, *Nature Commun.* **5**, 4662 (2014).
- (3) M. Yamashina, M. M. Sartin, Y. Sei, M. Akita, S. Takeuchi, T. Tahara, M. Yoshizawa, *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 9266–9269 (2015).

### 【掲載雑誌名、論文名および著者名】

雑誌名： *Science Advances*

論文名： A Polyaromatic Receptor with High Androgen Affinity  
(高いアンドロゲン親和性を有する芳香環レセプター)

著者名 : Masahiro Yamashina, Takahiro Tsutsui, Yoshihisa Sei, Munetaka Akita,  
Michito Yoshizawa

(山科雅裕、筒井貴大、清 悦久、穂田宗隆、吉沢道人)

DOI: 10.1126/sciadv.aav3179

**【研究内容に関するお問合せ】**

東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所 准教授  
吉沢道人

E-mail: yoshizawa.m.ac@m.titech.ac.jp

TEL: 045-924-5284

**【取材に関するお問合せ】**

東京工業大学 広報・社会連携本部 広報・地域連携部門

E-mail: media@jim.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-2975 FAX: 03-5734-3661