

令和 3 年 5 月 4 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K15534

研究課題名（和文）超疎水性を有する複数回膜貫通型フルオラスナノチャネルの開発

研究課題名（英文）Development of perfluorinated multiblock amphiphiles

研究代表者

佐藤 浩平（Sato, Kohei）

東京工業大学・生命理工学院・助教

研究者番号：40825197

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、天然のイオンチャネルタンパク質の基本構造と機能に倣い、新たに疎水部にフッ素原子を導入した複数回膜貫通型交互両親媒性フルオラスナノチャネル分子を合成した。この分子を細胞膜モデルである脂質リポソームへと導入したところ、脂質二重層内部において自己集合し、複数の刺激に対して異方的かつ可逆的に応答する人工イオンチャネルを構築することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の身体を構成する細胞の表面には、多様な刺激に応答してイオンを輸送するイオンチャネルタンパク質が存在し、生命の維持に欠かせない様々な役割を担っている。一方、イオンチャネルタンパク質に異常が生じることによってイオンチャネル病と呼ばれる様々な難治性疾患が生じることも知られている。そこで、本研究で開発した人工イオンチャネルを利用し、異常が生じたイオンチャネルの機能を代替することで、新たな治療法の確立に繋がることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this research, we have developed a novel fluorinated multiblock amphiphile that mimicked the structures and functions of ion channel proteins found in nature. We found that this molecule can be incorporated into the lipid bilayer membranes and self-assemble to form a supramolecular ion channel with anisotropic dual-stimuli-responsiveness.

研究分野：超分子化学

キーワード：有機化学 超分子化学 両親媒性分子 イオンチャネル 刺激応答性分子

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我々の身体を構成する細胞の表面には、多様な刺激に応答して特定の物質を輸送するチャンネルタンパク質が存在し、シグナル伝達やエネルギー変換などの生命の維持に欠かせない様々な役割を担っている。このような天然のチャンネルタンパク質の優れた機能を模倣するべく、現在までに様々な人工チャンネル分子が開発されてきた。そして、チャンネルタンパク質の異常により引き起こされる難治性疾患の治療や、物質精製技術への応用が活発に模索されている。しかし、天然のチャンネルタンパク質と比較すると、いずれの人工チャンネル分子においてもその機能は限定的であり、全く新しい観点からの分子デザイン戦略に基づく新規分子の開発が求められていた。

### 2. 研究の目的

本研究では、天然のチャンネルタンパク質の構造中には存在しないフッ素原子を含んだ交互両親媒性分子を新たに合成することで、従来とは一線を画した特異な機能を有する人工チャンネルの開発を目指した。なお、当初はフッ素化合物が有する超疎水性に着目して研究を遂行していたが、その途上において本研究で開発した人工チャンネルの興味深い外部刺激応答性を見出したため、合わせて報告する。

### 3. 研究の方法

柔軟な親水鎖と剛直な芳香族部位からなる複数回膜貫通型交互両親媒性分子は、芳香環の面同士が重なり合う形で折りたたまれ、脂質二重層内部において自己集合し、超分子チャンネルを形成することが報告されている (*J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 19788–19794.)。そこで本研究では、芳香族部位にフッ素原子を導入した複数回膜貫通型交互両親媒性フルオラスナノチャンネル分子を新たに合成し、その脂質二重層内部における挙動を観察するとともに、膜間物質輸送能を検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 交互両親媒性フルオラス分子の特異な膜局在化能

はじめに、複数回膜貫通型交互両親媒性フルオラスナノチャンネル分子の合成ルート構築を行った。まず、膜貫通部位であるビスペンタフルオロフェニルエチニルテトラフルオロベンゼンを菌頭カップリングにより合成した。次に、親水部位であるオリゴエチレングリコール鎖をウィリアムソンエーテル合成法によって導入することで、複数回膜貫通型交互両親媒性フルオラスナノチャンネル分子の繰り返し単位である交互両親媒性フルオラス分子 **AmF** の合成に成功した (図 1a)。得られた分子は、核磁気共鳴スペクトル、質量分析および元素分析によって構造の同定と純度の確認を行った。そこで、この分子をリン脂質から成るリポソーム分散液と混合することで、脂質二重層への導入を試みた。脂質二重層への導入は紫外可視吸光度測定、発光スペクトル測定および顕微鏡観察によって確認した。すると興味深いことに、**AmF** はフッ素原子を含まない同様の両親媒性分子 **AmH** と比較して、脂質二重層への導入効率が 40 倍以上も向上していることが明らかとなった (図 1b)。これは膜貫通部位へのフッ素の導入により、フッ素原子の  $2s$  ないし  $2p$  軌道と芳香族炭素上の軌道との重なりによって C-F 結合が非分極性となったことで脂質に対する親和性が向上したためと考えられる。これは今後の複数回膜貫通型交互両親媒性フルオラスナノチャンネル分子の機能開拓において極めて重要な性質であり、今後の研究展開に大いに期待が持てる結果を得ることができた。

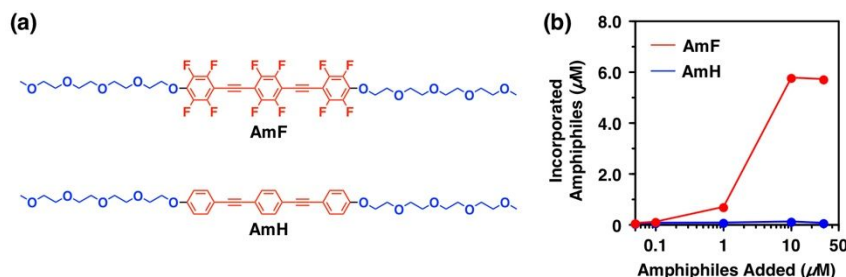


図 1. (a) 交互両親媒性フルオラス分子 **AmF** およびフッ素原子を含まない交互両親媒性分子 **AmH** の構造. (b) **AmF** および **AmH** の脂質二重層への導入効率.

#### (2) 複数回膜貫通型交互両親媒性フルオラスナノチャンネル分子の膜間イオン透過能と複数外部刺激応答性

フッ素原子の特徴として、全元素の中で最大の電気陰性度を有している点が挙げられる。そこで、双極子モーメントに由来する特異な外部刺激応答性を期待して、疎水部位にフッ素原子を非対称に導入した複数回膜貫通型交互両親媒性フルオラスナノチャンネル分子 **V<sub>F</sub>** を新たに設計した (図 2a)。 **V<sub>F</sub>** の合成完了後、リン脂質から成るリポソーム分散液と混合し、発光スペクトル測

定および蛍光顕微鏡観察によって脂質二重層内部への局在化を確認した。この際、 $V_F$  が脂質二重層に対して異方的に配向することがゼータ電位測定により明らかとなった。次に、pH 応答性蛍光色素である HPTS を内包した脂質リポソームを用いて、 $V_F$  の膜間イオン透過能を評価したところ、この分子は脂質二重層内部において三量体構造の超分子イオンチャンネルを形成していることが示唆された。そこで、 $V_F$  を導入した脂質二重膜に対して電圧を印可し、その際に観測される電流値を分析することで、超分子イオンチャンネルのイオン透過能をより詳細に検討した。驚くべきことに、今回得られた超分子イオンチャンネルは印加電圧の向きと大きさに対して鋭敏に反応し、イオン透過能を変化させることが明らかとなった（図 2b）。これは期待通り、フッ素原子の導入により膜貫通部位に双極子が発生したことが理由であると考えられる。加えて、ナトリウムイオンチャンネル遮断薬として知られる(R)-プロプラノロールとそのホスト分子である  $\beta$ -シクロデキストリンを交互に添加することで、イオン透過能を異方的かつ可逆的に変化させることにも成功した（図 3）。本研究で開発した超分子イオンチャンネルのように、複数の刺激に対して異方的かつ可逆的に反応する人工イオンチャンネルは前例が無く、当初想定していた以上の研究成果を得ることに成功した。

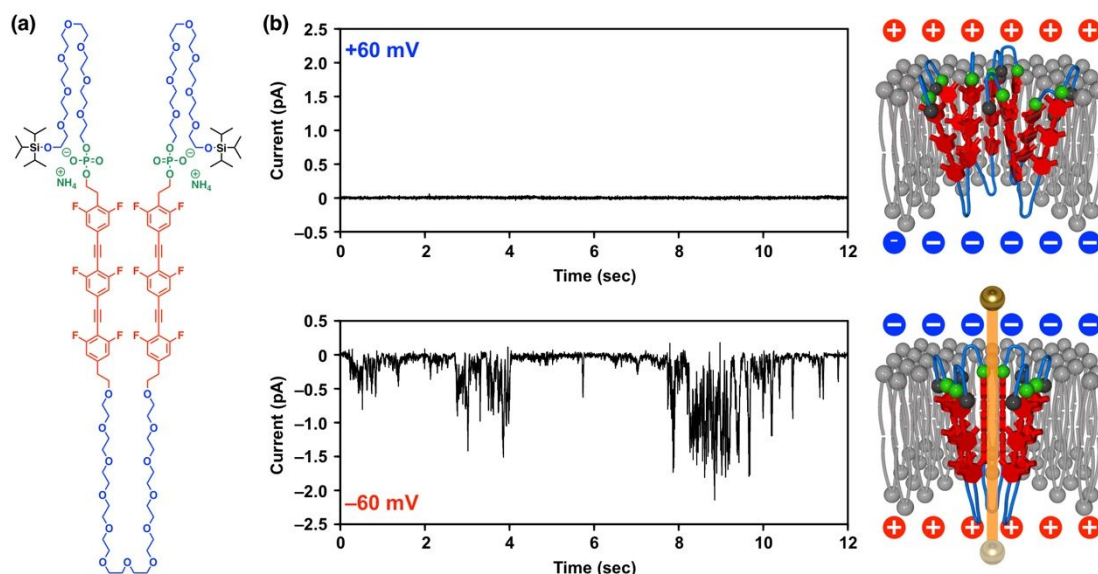


図 2 .(a) 複数回膜貫通型交互両親媒性フルオラスナノチャンネル分子  $V_F$  の構造. (b) 膜電位の向きとそれに応じたイオン輸送能の変化. ピークが現れている時間においてイオンが輸送されていることを示している.

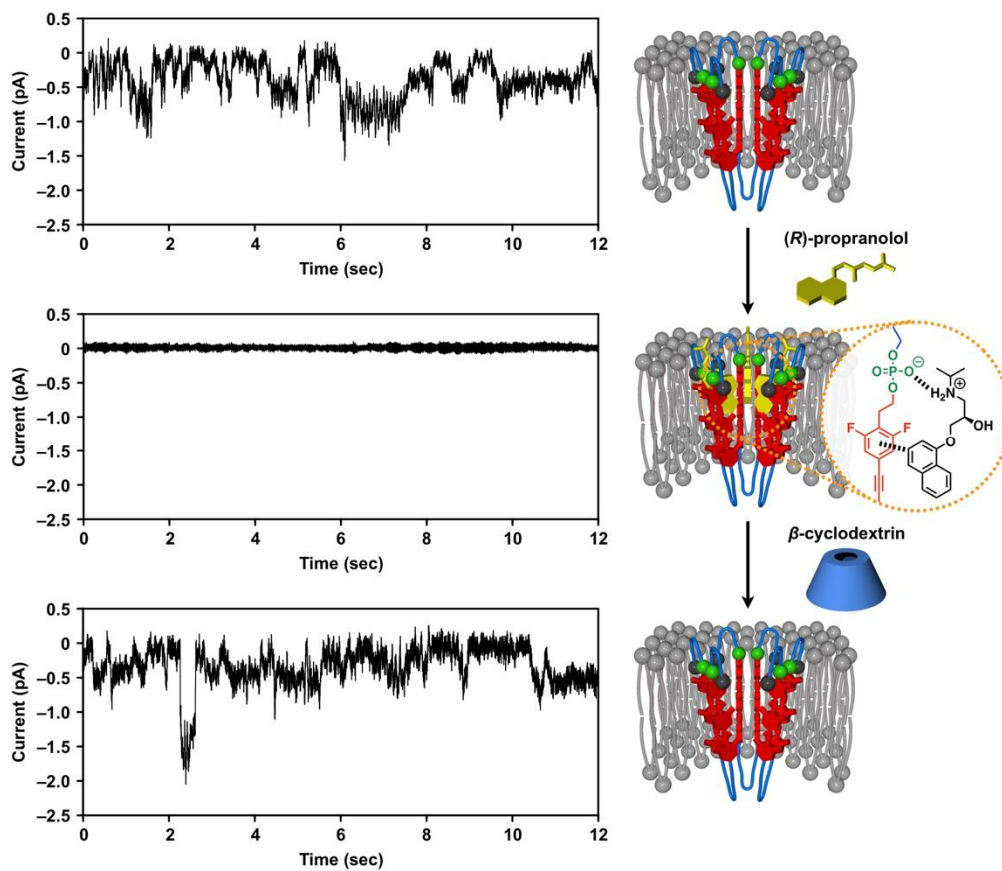


図 3 . (R)-プロプラノロールと  $\beta$ -シクロデキストリンの添加に応じたイオン輸送能の変化.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sasaki Ryo, Sato Kohei, Kinbara Kazushi	4. 巻 9
2. 論文標題 Aromatic Fluorination of Multiblock Amphiphile Enhances Its Incorporation into Lipid Bilayer Membranes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ChemistryOpen	6. 最初と最後の頁 301 ~ 303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/open.201900374	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Mori Miki, Sato Kohei, Ekimoto Toru, Okumura Shinichi, Ikeguchi Mitsunori, Tabata Kazuhito V., Noji Hiroyuki, Kinbara Kazushi	4. 巻 16
2. 論文標題 Imidazolium based Multiblock Amphiphile as Transmembrane Anion Transporter	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry An Asian Journal	6. 最初と最後の頁 147 ~ 157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/asia.202001106	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sasaki Ryo, Sato Kohei, Tabata Kazuhito V., Noji Hiroyuki, Kinbara Kazushi	4. 巻 143
2. 論文標題 Synthetic Ion Channel Formed by Multiblock Amphiphile with Anisotropic Dual-Stimuli-Responsiveness	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 1348 ~ 1355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.0c09470	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimizu Yusuke, Sato Kohei, Kinbara Kazushi	4. 巻 57
2. 論文標題 Calcium-induced reversible assembly of phosphorylated amphiphile within lipid bilayer membranes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 4106 ~ 4109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1CC01111A	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計12件(うち招待講演 0件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Kohei Sato, Kota Nabeya, Takahiro Muraoka, Norihisa Hoshino, Tomoyuki Akutagawa, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Transmembrane Ion Transport by Multiblock Arene-Perfluoroarene Macrocyclic
3. 学会等名 第68回高分子討論会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Ryo Sasaki, Kohei Sato, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Asymmetric Multiblock Amphiphiles for Transmembrane Ion Transport
3. 学会等名 第68回高分子討論会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Ryo Sasaki, Kohei Sato, Kazuhito Tabata, Hiroyuki Noji, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Rectified Ion Transport by Asymmetric Multiblock Amphiphiles
3. 学会等名 CEMSupra 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Kohei Sato, Kota Nabeya, Takahiro Muraoka, Norihisa Hoshino, Tomoyuki Akutagawa, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Fluorinated multiblock amphiphiles that transport ions across lipid bilayers
3. 学会等名 ACS Spring 2020 National Meeting & Expo (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Ryo Sasaki, Kohei Sato, Kazuhito Tabata, Hiroyuki Noji, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Transmembrane ion transport by asymmetric multiblock amphiphiles
3. 学会等名 ACS Spring 2020 National Meeting & Expo (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Sanghun Han, Yusuke Aoki, Kohei Sato, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Development of amphiphilic linker for protein labeling and polymerization
3. 学会等名 The 100th CSJ Annual Meeting
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 林 虹太, 佐藤 浩平, 金原 数
2. 発表標題 両親媒性ポリサルコシンの合成と物性
3. 学会等名 第30回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 佐藤 浩平, 佐々木 峻, 田端 和仁, 野地 博行, 金原 数
2. 発表標題 交互両親媒性分子のフッ素化と機能開拓
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム2020
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 清水 友輔, 佐藤 浩平, 金原 数
2. 発表標題 リン酸基を有する新規両親媒性分子の開発
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム2020
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 足立 惇弥, 佐藤 浩平, 金原 数
2. 発表標題 発光性マルチブロック両親媒性分子の合成と環境応答特性
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Miki Mori, Kohei Sato, Toru Ekimoto, Shinichi Okumura, Mitsunori Ikeguchi, Kazuhito Tabata, Hiroyuki Noji, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Transmembrane Anion Transport by Imidazolium-based Multiblock Amphiphile
3. 学会等名 The 101st CSJ Annual Meeting
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Ryo Sasaki, Kohei Sato, Kazuhito Tabata, Hiroyuki Noji, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Synthetic Ion Channel with Dual Stimuli-responsiveness
3. 学会等名 The 101st CSJ Annual Meeting
4. 発表年 2020年～2021年



〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------