

機関番号：37401

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2008～2010

課題番号：20245036

研究課題名（和文） 超階層性天然高分子—分子認識・超構造・機能発現

研究課題名（英文） suprahierarchical natural saccharides
-molecular recognition, superstructure, function-

研究代表者

新海 征治 (SHINKAI SEIJI)

崇城大学・工学部・教授

研究者番号：20038045

研究成果の概要（和文）：螺旋性の多糖 β -1,3-グルカン類が核酸と共螺旋形成により複合化することを見出した。 β -1,3-グルカンの螺旋の内部に、カーボンナノチューブ、ポリチオフェンなどの機能性高分子、金微粒子、蛍光色素などの能性分子を一次元的に取る込むことに成功した。包摂された分子は、ホストの一次元的螺旋構造の特性に反映して、光学活性特性を発現出来る事を明らかにした。修飾多糖を活用して、分子の規則的配列や、微小物質運搬系構築などに成功した。

研究成果の概要（英文）：The findings for this project are summarized as following; (1) β -1,3-glucans can form heterogeneous helical complex with nucleic acids, (2) β -1,3-glucans act as one-dimensional host toward carbon nanotube, polythiophene, gold nanoparticle, dyes, etc., (3) the guest molecules entrapped in the helix of β -1,3-glucan show chiral properties owing to the helical structure of host, (4) modified β -1,3-glucan allows to align the functional molecules, construct micro-size transportation system.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|------------|------------|------------|
| 2008年度 | 24,800,000 | 7,440,000 | 32,240,000 |
| 2009年度 | 7,000,000 | 2,100,000 | 9,100,000 |
| 2010年度 | 7,000,000 | 2,100,000 | 9,100,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 38,800,000 | 11,640,000 | 50,440,000 |

研究分野：理工学系研究

科研費の分科・細目：ナノサイエンス

キーワード：多糖・分子認識・超構造・ナノ材料・高分子

1. 研究開始当初の背景

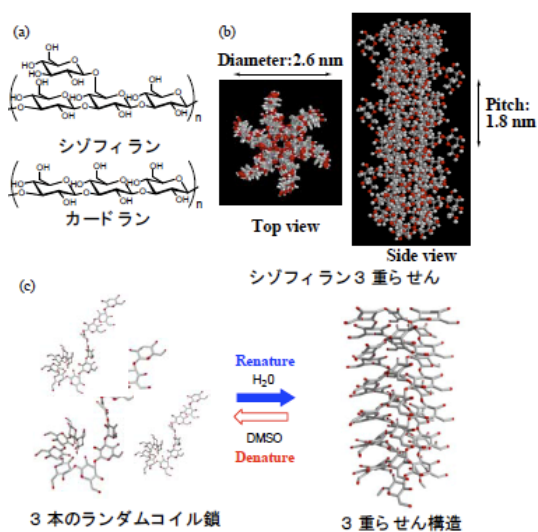
生体高分子は厳密な分子認識による自己組織化により、精緻に構造制御された巨大超分子を与える。例えば、核酸のシーケンスを適切に設計することにより、複雑な一次元・二次元・三次元のナノ構造を得る研究が Seeman らにより報告され、様々な分子の配列やナノ材料アプリケーションの基体としても用いられている。生体システムの維持に必要な精密な分子認識過程とその結果得ら

れる超構造のスケールが、近未来の人工材料開発と融合することにより新たな機能を持つナノマテリアル群を創出することが期待されている。

天然高分子である β -1,3-グルカン類はグルコースが β 1 \rightarrow 3 結合で連結したユニークな主鎖構造を持ち、明瞭な構造を持った多糖類である。これら β 1,3-グルカンは主鎖骨格に由来する強いらせん形性能を持ち、核酸と同等のピッチや直径などの構造パラメータ

を有し、均整のとれた右巻き3重らせん構造として存在する。 β -1,3-グルカン類であるシゾフィラン (SPG) やカードラン (CUR) の溶液特性はさらに興味深い。天然3重らせん構造は DMSO などの極性有機溶媒中では解離 (Denature) し3本のランダムコイル鎖となるが、溶媒を水に置換すると再び元の3重らせん構造を自己組織的に再構築 (Renature) する。

水中における3重らせんの最安定化構造ではらせん内部に疎水的な1次元ドメインが存在することが示唆されている。このような疎水性1次元ドメインが親水性表面で覆われた両親媒構造はシクロデキストリンのカラム状集積体として捉えることができ、疎水性分子がその内部に取り込まれると期待される。



シクロデキストリンは C_{60} などフラーレン類の優れたホストとして機能することが知られている。これまでに、カーボンナノチューブ、ポリアリニン、ポリチオフェン、フェニレンエチニレン、ポリシラン、アゾベンゼン、金ナノ粒子、カルボランをはじめとするさまざまな物質を効率的に包接することを報告している。

2. 研究の目的

SPG や CUR が 3 重らせん性とその内部空孔が有する豊かな分子認識能を利用し、 β -1,3-グルカン複合体を単位ユニットとした高次集積化と機能性材料の創製を目的とする。

(1) β -1,3-グルカンのラッピング特性を利用した超分子ブロックコポリマーとミセル構造の創製

両親媒性ブロックコポリマーは水中で巨大なミセルやベシクルなどの超構造体を形成する。天然多糖である SPG は疎水性ポリマーをラッピングすることにより水溶性コンポジットを与える。もし、このラッピング過程で疎水性ポリマーに巻き付く SPG

の領域を制御することができれば、ラッピング過程を利用した両親媒性ポリマーの創製が可能になるはずである。このような、自己組織的なラッピングを利用したブロックポリマーの創製は高分子合成の視点からみても興味深い。このミセル表面は SPG で被覆されているため、水溶性と高い生体適合性を兼ね備えている。さらに、SPG や同様の性質を有する CUR の官能基修飾やミセル内部への疎水性分子内包を利用して、多糖を基体とした機能性ナノ材料としてだけではなく、DDS における薬物キャリアーとして用いる応用研究を進める。

(2) β -1,3-グルカンのラッピング特性を利用したキラル光学材料の創製

β -1,3-グルカンの最大の特徴は、右巻きらせん構造を有し、内部空孔に包接した高分子はキラル環境に置かれることである。本テーマでは、電子的・光学的に活性な共役高分子をゲストとして用い、電子・光とキラル環境の相互作用を利用する新規材料 (円偏光二色性発行材料など) の開発を目指す (図 1)。SPG 自身が液晶性を有することを利用し、複合体の薄膜化・液晶化を鍵として種々の発光デバイスや、センサー、液晶ディスプレイ用バックライト、有機偏光板、多元メモリーデバイスへの応用展開へ供する。円偏光発光高分子のほとんどは主鎖のねじれに由来するものであり、均一な薄膜を与えることは困難であった。 β -1,3-グルカンを用いることでこれらの問題が一掃される可能性がある。

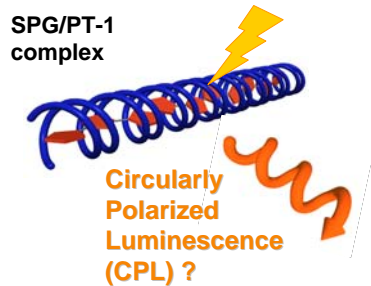


図 1 β -1,3-グルカンの不斉環境を利用したゲスト分子からの CPL 発光の模式図

(3) β -1,3-グルカンの簡便修飾とホストゲスト複合体の配列制御

これまでに、SPG 側鎖の過ヨウ素酸化や、CUR6 位水酸基のアジド化を鍵とした簡便な化学修飾法を確立した。本研究では複合体表面の電荷を制御することにより、複合体の配列が制御されたヘテロ集合体の構築を目指す。ゲスト分子間の電子やエネルギーの授受を利用した光エネルギー捕集系や光電変換

材料の創成を目指す (図2)。

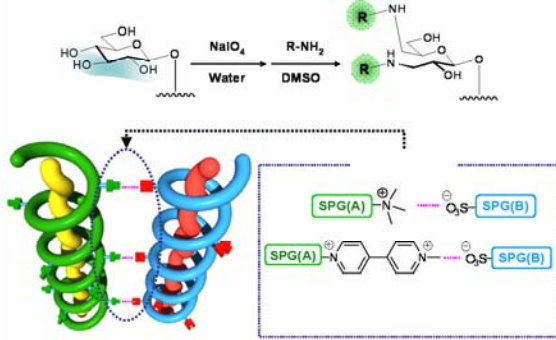


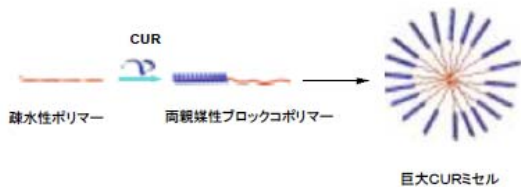
図2 β -1,3-グルカンの修飾とヘテロ集合体の単位ユニット

3. 研究の方法

申請者のこれまでの研究により、SPG との相互作用が確認されたものは核酸、SWNT、導電性高分子、重合性モノマー、金属コロイド及び色素分子と非常に幅広く、SPG が優れた1次元ホストであることが示された。これまでの研究はSPGの1次元ホスト性を利用したゲスト分子の包接であり、ナノ材料創製を目指した複合体のさらなる機能化には、高次元組織化と階層化のプロセスが必要である。そこで申請者は次なる試みとして、これら1次元性SPG複合体を高次元階層構造へと発展させ、階層制御の限界への挑戦と高機能材料創出の両面から本研究に取り組んだ。具体的には、それぞれ異なる階層性・次元性に注目した3つの研究を柱とする。

- (1)0次元： 1次元超分子ブロックコポリマーを用いたミセル構造の創製
- (2)2次元： ホスト-ゲスト複合体のヘテロ配列制御
- (3)3次元： 液晶化・薄膜化によるキラル光学材料の創製

- (1)0次元： 1次元超分子ブロックコポリマーを用いたミセル構造の創製



SPGと同様なラッピング特性を有するカードラン (CUR) に着目した。カードランは、6位選択的に様々な官能基を定量的に導入する手法が開発されており、クリックケミストリーを利用して目的に応じた機能付与が可能である。この6位水酸基はらせんの外側を向いていることから、上述の方法により、カードランらせん外部への様々な機能付与が可能である。従って、機能性部位を有する半

人工カードランのラッピング特性を用いて疎水性ポリマーの部分的な包接を行うことで、親水性部位に様々な機能を有するブロックコポリマーの創製が可能となると期待される。

研究初年度は、上述のコンセプトが可能であるかを検証する。ゲストとしては、最も一般的な疎水ポリマーの一つであるポリスチレン (PS) を用いる。PSはSPGやCURに包接することが明らかになっている。十分に大きな重合度を揺するPSを用いることで、コンセプトに示したセミラッピングによる両親媒性ブロックコポリマーが生成すると考えられる。両親媒性ブロックコポリマー及びミセル生成は各種データにより総合的に評価する。CURによるPSの包接挙動は、CURのらせん性に由来するPSの円二色性により評価する。透過性・走査型電子顕微鏡を用いた直接観察により、集合体の形状を評価する。また、蛍光プローブであるFITCによりラベリ化した水溶性CURを用い、共焦点レーザー顕微鏡による3次元解析も行う。これらは全て現有設備にて可能である。ミセルの大きさを定量的に解析するため、DLSによる評価を行う。

次年度以降は、CURを用いたミセル生成の一般性を確立するため、①CURの修飾官能基②CURの重合度③ゲストとなる疎水ポリマーの種類・重合度を変数として、ミセル構造の生成・形状を評価する。得られる集合体は生体適合性を有することが期待されることから、内部空間を利用した薬物キャリアーとしてDDSへの応用も検討する。金コロイドをCUR内もしくは内水相に導入し、表面プラズモンを利用したセンシングシステムも開拓する。ポルフィリンを内部に取り込み、フォトダイナミックセラピーへの応用も検討する。

- (2)2次元： ホスト-ゲスト複合体のヘテロ配列制御

申請者は、過ヨウ素酸酸化法によりSPG側鎖に相補的な相互作用部位を導入した側鎖修飾SPGを合成する。本合成法はSPGのらせん形成に必要な β -1,3-グルカンの主鎖骨格には影響を与えないため、様々な置換基を導入した後も安定に種々のゲストと複合化することが確かめられている。

初年度はヘテロ配列制御のためのホストの開発に注力する。導入する相互作用部位には水溶液中において利用可能な静電相互作用を用いる。相補的な相互作用部位を有したSPG(A)とSPG(B)を過ヨウ素酸酸化法によって合成し、それぞれ異なるゲスト分子を包接させることによって複合体AとBを調製する。得られた複合体を溶液中で混合し、複合

体 A と B が交互に会合した組織体の形成を行う。複合体間の相互作用は濃度、pH 及び塩強度によって調節可能である。相互作用を調製することで、非特異的な会合を制御したより精密な交互組織化が可能になると予想される。組織化の評価は AFM、TEM、及び DLS また相互作用の確認をゼータ電位、IR、NMR にて行う。得られた結果から相互作用部位の種類や導入率を検討し、組織体形成時の濃度、pH 及び塩強度の最適化を行う。

本組織化法は SPG と複合体を形成するものならば、どのような化合物であっても適用することが可能である。また組織化されたゲストは SPG によってそれぞれインシュレートされている。そのため会合体を形成して、お互いに消光してしまうような蛍光性色素などであっても、本手法では容易にそれぞれを孤立した状態にて組織化することが可能である。

本系において SPG はあたかも生態系における“タンパク質マトリックス”のように高効率な光エネルギー変換をサポートする。つまり、SPG は色素(光捕集部位)と導電性高分子(光電変換部位)をそれぞれインシュレートすることで会合によるエネルギー損失を防ぐ。更に、側鎖の相互作用部位によって高次に組織化する媒体となることで、効率的なエネルギー移動をサポートする。また SPG のインシュレート効果によりゲスト化合物の運動が抑制されるため電荷分離の長寿命化も期待される。このような SPG の“糖マトリックス”としての働きにより、本系は全く新しい高効率光エネルギー変換システムの構築を可能にすると期待される。

次年度以降は本手法の特徴を利用して生態系を模倣した人工光エネルギー変換システムとしての応用を行う。ゲスト分子には高い量子収率を持つ色素と、そこから得られたエネルギーを電荷分離状態へと誘起する導電性高分子を用いる。両社ともすでに SPG と複合化することが示されている。ドナー性とアクセプター性の化合物を共有結合にて結合した化合物ならば、より容易に電荷分離状態へと導くことが可能になると予想される。また、SPG に修飾した相互作用部位にアクセプター性のビオロゲンなどを用いることでも効率的な電荷分離を誘起できると考えられる。

本系において SPG はあたかも生態系における“タンパク質マトリックス”のように高効率な光エネルギー変換をサポートする。つまり、SPG は色素(光捕集部位)と導電性高分子(光電変換部位)をそれぞれインシュレートすることで会合によるエネルギー損失を防ぐ。更に、側鎖の相互作用部位によって高次に組織化する媒体となることで、効率的なエネルギー移動をサポートする。また SPG の

インシュレート効果によりゲスト化合物の運動が抑制されるため電荷分離の長寿命化も期待される。このような SPG の“糖マトリックス”としての働きにより、本系は全く新しい高効率光エネルギー変換システムの構築を可能にすると期待される。

(3) 3次元：液晶化・薄膜化によるキラル光学材料の創製

ポリチオフェンに代表される共役高分子はその興味深い機能特性によって EL 素子や電界効果トランジスタ、センサーや太陽電池など様々なデバイスに応用される機能性材料である。しかしながらデバイスへの応用を考え共役高分子溶液から薄膜の調製を行おうとした場合、得られてくる構造体は溶媒乾燥過程における濃度変化に伴ったコンフォメーションや鎖間相互作用の変化によってその物性が劇的に変動することが知られている。初年度は、非常に安定な SPG/ポリチオフェン複合体を用いることで、共役高分子のコンフォメーションを希薄溶液から薄膜まで一貫して保持することのできる、新たな手法の確立を目指す。また同時にその新たな手法を用いることで従来法では決して達成することのできない高効率な円偏光発光の発現を目指す。また、複合体の薄膜作成を行い、固体状態での発光特性を精査する。とくに、色素が SPG によって孤立分散化されたことの効果を評価したい。次年度以降は、薄膜特性や光学特性に加え、SPG が液晶性を示すことに着目し、複合体の液晶性、複合体液晶の偏光発光特性を分析する。

4. 研究成果

(1) 多糖 β -1, 3-グルカンの複合化能の発見

核酸やペプチドなどの生体高分子はバイオテクノロジーのみでならず、超分子化学を駆使するナノテクノロジーにも応用できる機能性材料として期待されている。しかしながら、第三の生体高分子である多糖は“材料”という観点から見ると“バルク材料”と見なされることが多く、その“機能性”に関する研究は未開拓であった。そのような中、 β -1, 3-グルカン構造を持つ多糖の一種であるシゾフィラン (SPG) やカードラン (CUR) とある種の核酸との間に特異な複合体が形成されるという発見が、2005 年に成された (図 1)^[1]。これは、「ポリオール (多糖) は、核酸と多点相互作用により結合する」という直感的な作業仮説を裏付ける結果となった。しかし、水中でヘリックス構造を持つこれらの多糖は、①らせん構造のピッチが核酸のそれとほぼ同じであること、②極めて好都合な水素結合性水酸基を持っていること

など、核酸と類似した挙動を示す「必然性」を有していることが、研究が進むに連れて明らかとなった。天然に存在しかつ安全な材料で核酸と相互作用する材料が発見されたことの意義は大きく、遺伝子キャリアーなどのバイオマテリアルへの幅広い応用がその後展開されることになった。

(2) β -1,3-グルカンのバイオテクノロジーからナノテクノロジーへの展開

次なる展開として、 β -1,3-グルカンが同様の手法で核酸のみでならず、様々なナノマテリアルと複合体を形成することを期待する研究を開始した。その研究の端緒となったのがナノテクノロジーの中核を担う機能性材料として注目されている単層カーボンナノチューブ (SWNT) との複合化である^[2]。この発見以来多種多様な機能性分子が β -1,3-グルカンと複合体を形成することが明らかとなり、多糖をベースとしたナノテクノロジーへの応用を目指した研究へと発展した (図 2)。中でも比較的剛直な構造を有する共役系高分子は早くから研究がなされ、 β -1,3-グルカンに被覆される共役高分子はポリアニリンやポリフェニレンエチン、ポリチオフェンそしてポリシランなど多岐に渡ることが明らかとなった^[2-7]。このとき β -1,3-グルカンはゲストである共役高分子を周囲から遮蔽する”被覆剤”としてのみでならず、共役高分子の高次コンフォメーションを固定化する作用を示すことが明らかとなった。さらに、 β -1,3-グルカン固有のキラリティの影響で共役高分子にもねじれが誘起され、ゲストであるポリチオフェンが優れた円偏光発光特性を示すことや^[3]、酸化に対する安定性が大きく向上することを明らかにした^[4]。ゾルゲル反応による β -1,3-グルカン/共役高分子複合体の固定化や^[5]、静電気相互作用による量子ドットとの複合化^[6] などにも成功している。

β -1,3-グルカンに内包される機能性分子は高分子化合物に留まらず、アゾ色素、シアニン色素、ポルフィリンなどの双極子の大きい色素分子なども内包し、その会合状態や機能を制御することにも成功した^[7]。またジアセチレンやアルコキシシランといったモノマーを内包させることで、 β -1,3-グルカンの疎水空間を一次元反応場とした鑄型重合も可能になっている^[8]。また、カルボランや金ナノ粒子など、様々なサイズあるいは性質を有するナノ粒子と複合体を形成し、ナノ粒子を一次元状に配列させることができる^[9]。ゲストのサイズや形状、性質に応じてその構造を変えながらゲスト分子を取り込み、複合体を形成することができる。この包接現象の柔軟性、多様性こそが多糖を用いた超分子化学の特徴である。得られた一次元状ナノ複合

体は光電変換素子や分子配線さらにはドラッグデリバリーなど、様々な分野への応用が検討されており、ナノテクノロジーの実用化に向けた研究の一端を担うことが期待される。

(3) β -1,3-グルカン複合体の階層構造制御

次に注目したのが β -1,3-グルカンの”側鎖”である。SPG は β -1 \rightarrow 3 結合で連結した主鎖の 3 つに 1 つの間隔でグルコース側鎖を有しているため、この側鎖を過ヨウ素酸酸化することで生成するアルデヒド基を利用して官能基を導入することができる。一方、CUR の 6 位水酸基には臭素化、アジド化を経ることで、クリックケミストリーにより化学修飾を施すことができる^[10]。これらの官能基は複合体外部表面に規則的に位置することから、複合体外部に位置特異的に相互作用部位を導入できると考えた。その結果、得られる複合体間あるいは複合体と機能性ナノマテリアル間の相互作用により、複合体の階層構造と機能が制御された高機能ナノマテリアルの創製が可能になると予測した。

SPG ではジオールとボロン酸の結合形成反応を応用することが可能である。多官能性ボロン酸誘導体を SPG/SWNT 複合体水溶液に添加すると、複合体表面のグルコース側鎖とボロン酸が共有結合を形成し、ゲストである SWNT が規則的に配向した二次元シート構造体が構築された^[11]。ポルフィリンにボロン酸を導入した分子を用いることで SPG/SWNT 複合体間をポルフィリンが架橋したシート状構造体も得られており、この複合体は光電変換素子などへの応用が期待される。

6 位修飾 CUR の例としてカチオン性の CUR-N⁺ とアニオン性の CUR-SO₃⁻ を合成し、静電相互作用を利用したゲストの組織化に挑戦した (図 3A)^[12]。即ち、CUR-N⁺ の SWNT を、CUR-SO₃⁻ に二層カーボンナノチューブ (DWNT) を複合化させ、表面の静電相互作用を利用して、シリカナノ粒子をテンプレートとする”Layer-by-Layer 法”を用いることで、SWNT と DWNT が交互に組織化したカプセル構造体を得ることに成功した。^[13]。ゲストを β -1,3-グルカンで覆っているため、ゲスト同士の直接的な会合を抑制した状態で複数種のゲストを規則的に組織化することが可能となる。

また最近では、側鎖の一部に配位子を導入した SPG に、配位結合により分子運動性を付与する”足”となるミオシンを導入することに成功した^[14]。このミオシン修飾 SPG はゲストを取り込んだ状態で”レール”となるアクチンフィラメント上を動く”コンテナ輸送体”として働くことが明らかとなった (図 3B)。本システムは細胞内の長距離コンテナ輸送システムを人工的に再構築した世界

で初めての例であり、遺伝子治療はもちろんのこと新たなマイクロデバイスへの応用も期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 18 件)

- ① Youichi TSUCHIYA, Tomotaka KOMORI, Minako HIRANO, Tomohiro SHIRAKI, Akira KAKUGO, Toru IDE, Jian-Ping GONG, Sunao YAMADA, Toshio YANAGIDA and Seiji SHINKAI, A Polysaccharide-Based Container Transportation System Powered by Molecular Motors, *Angewandte Chemie International Edition*, 査読有、Vol. 49, No. 4, 2010, pp. 724-727
- ② Tomohiro SHIRAKI, Arnab DAWN, Youichi TSUCHIYA and Seiji SHINKAI, Thermo- and Solvent-Responsive Polymer Complex Created from Supramolecular Complexation between a Helix-Forming Polysaccharide and a Cationic Polythiophene, *Journal of the American Chemical Society*, 査読有、Vol. 132, No. 39, 2010, pp. 13928-13935
- ③ Shingo TAMESUE, Yoshinori TAKASHIMA, Hiroyasu YAMAGUCHI, Seiji SHINKAI and Akira HARADA, Photoswitchable Supramolecular Hydrogels Formed by Cyclodextrins and Azobenzene Polymers, *Angewandte Chemie International Edition*, 査読有、Vol. 49, No. 41, 2010, pp. 7461-7464
- ④ Munenori NUMATA, Kenji KANEKO, Hitoshi TAMIYAKI and Seiji SHINKAI, “Supramolecular” Amphiphilites Created by Wrapping Poly(styrene) with the Helix-Forming β -1,3-Glucan Polysaccharide, *Chemistry-A European Journal*, 査読有、Vol. 15, No. 45, 2009, pp. 12338-12345
- ⑤ Shingo TAMESUE, Munenori NUMATA, Kenji KANEKO, Tony D. JAMES and Seiji SHINKAI, Hierarchical Carbon Nanotube Assemblies Created by Sugar-Boric or Boronic Acid Interactions, *Chemical Communications*, 査読有、No. 37, 2008, pp. 4478-4480

[学会発表] (計 24 件)

- ① Seiji SHINKAI, Molecular design of

dynamic polymer-polymer recognition systems inspired by novel helix-forming polysaccharides, PACIFICHEM2010, 2010.12.17, Honolulu

- ② Seiji SHINKAI, Dynamic Polymer-Polymer Recognition Systems Inspired by Novel Helix-Forming Polysaccharides, International Symposium on Advances of Supramolecular and NanoBio Chemistry, 2010.5.27-28, Gyeongsang National University, Jinju, Korea
- ③ 新海 征治、多点認識から構築される分子システム群、分子情報生命科学シンポジウム、2009年12月21日、理化学研究所
- ④ Seiji SHINKAI, Shuichi HARAGUCHI, Yoichi TSUCHIYA and Tomohiro SHIRAKI, New Functional Polymer Composites Created from Helix-Forming Polysaccharides, The 4th Joint International Symposium on Macrocyclic & Supramolecular Chemistry, June, Maastricht, 2009, 2009年6月21-25日、オランダ・マーストリヒト
- ⑤ 新海 征治、分子配列が生み出す“形”と“機能”について、茅コンファレンス「21世紀物性科学の展望」、2008年5月、東京

[その他]

ホームページ等

<http://www.nano.sojou-u.ac.jp/laboratory/newlab/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新海 征治 (SHINKAI SEIJI)

崇城大学・工学部・教授

研究者番号：20038045

(2) 研究分担者

田丸 俊一 (TAMARU SHUNICHI)

崇城大学・工学部・准教授

研究者番号：10454951

白木 智丈 (SHIRAKI TOMOHIRO)

九州先端科学技術研究所・ナノテック

研究室・研究員

研究者番号：10508089

沼田 宗典 (NUMATA MUNENORI) (H20 度)

京都府大院・生命環境科学研究所・

准教授

研究者番号：70423564