様式C－19

# 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成２４年　４月　１日現在

機関番号：14401
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2010～2011
課題番号：22655034
研究課題名（和文）単一分子実時間計測による超分子モーターの運動機構解析

研究課題名（英文）　Observations and Analysis of Rotary Movement of a Supramolecular Motor by Single-Molecular Imaging through Actual Time.

研究代表者
高島　義徳（TAKASHIMA Yoshinori）
大阪大学・理学研究科・助教
研究者番号：40379277

研究成果の概要（和文）：究極のナノマシンを構成する要素として、分子サイズの駆動素子“分子モーター” が提案されている。人為的に合成される人工分子モーターとして種々の分子が提案され、合成が行われてきたが、その運動機構の解析、まして駆動素子としての応用についてはほとんど研究が進んでいない。本研究は合成モーター分子一個一個を直接観察する新しい計測法を提案し、これまで不可能であったリアルタイムでの分子モーターの詳細な運動解析を行い、高度な機能を有する人工分子モーター開発の基礎的な指針を得ることを目指している。

研究成果の概要（英文）：Biological molecular motors such as muscle fibers, flagella and cilia are precisely designed in nature, and are reminiscent of microscale electronic and mechanical devices. Inspired by direct observations of rotary molecular motor systems, some researchers have tried to directly observe artificial molecular motors.　On the contrary, even smaller artificial molecular motors are extremely difficult to see, and thus, additional visualization techniques are necessary to observe rotational behavior.　Rotaxane has a suitable structure to construct molecular motors.　Herein we observe a single rotaxane molecule based on α-cyclodextrin (α-CD) attached to a fluorescence probe on glass substrates and estimate the rotary movement of α-CD as a rotor, which was measured by total internal reflection fluorescence microscopy (TIRFM).　Herein, we observe the rotary movement of α-CD on rotaxane by measuring the emission dipole orientation of the chromophores.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合　計 |
|---|---|---|---|
| 2010年度 | 2,000,000 | 0 | 2,000,000 |
| 2011年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総　計 | 3,100,000 | 330,000 | 3,430,000 |

研究分野：　超分子科学
科研費の分科・細目：複合化学・高分子化学
キーワード：　超分子化学、分子モーター、単一分子計測、回転運動観察、回転制御

１．研究開始当初の背景

生体中には ATP 合成酵素に代表される生体分子モーターが多く存在する。近年、これらの生体分子モーターを直接観察した研究が報告され（H. Noji, R. Yasuda, M. Yoshida, K. Kinoshita., *Nature*, (1997)）、非常に多くの科学

者を魅了した。超分子科学において、ロタキサンは輪分子と軸分子からなり、最も人工分子モーター近い構造と考えられてきた。人工分子の回転運動の観察に関する研究は B. L. Feringa らの研究に代表されるように芳香族化合物の回転運動をスペクトル観察が主流であった(*Nature*, (2005))。当初、我々は基板上に[2]ロタキサン分子を固定化させ、原子間力顕微鏡や走査トンネル顕微鏡を用いて観測を行っても、分解能が低く、実時間での計測が不可能であろうと考えていた。我々は輪分子としてシクロデキストリン(CD)を用い、[2]ロタキサンの回転運動を核磁気共鳴スペクトルによって観察を行った（図１； *J. Org. Chem.*, (2008))。

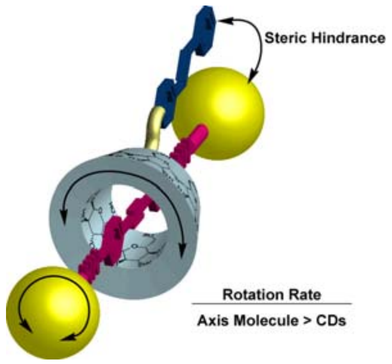



図 1．ロタキサンにおけるＣＤ誘導体の回転運動

一方で、 [2]ロタキサン分子を基板上に固定化させて観察を行うには、蛍光顕微鏡による観察が有効かもしれないと考えた。

２．研究の目的

本研究では、蛍光顕微鏡による回転運動の観察を試み、通常の蛍光顕微鏡による観察よりもさらに時間分解能を一桁上げる試みを行った。さらも回転運動モードが規定された（例えば面内回転しかしない）分子設計で、まったく見えなかった僅か数 nm の分子運動の可視化に挑戦し、リアルタイムでの解析が可能な人工分子モーターの構築、新しい単一分子計測･評価システムを構築を計画した(図3)

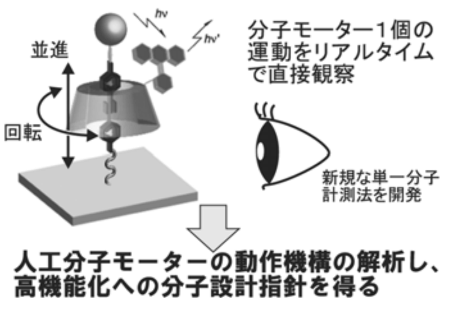



図 3．本研究課題の研究概要図

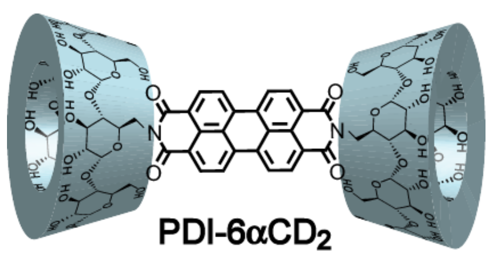
３．研究の方法

本研究は分子一個の運動をダイレクトに観測可能なシステムの構築とともに、精密に設計された人工分子モーターの合成を行うことで、人工分子モーター系の基礎的知見を得ることを目指した。研究の遂行にあたっては、代表者である高島（阪大）が分子モーターの分子設計・合成を担当し、分担者である青木（京大）が顕微鏡システムの開発を担当した。研究初期段階においては、新規 CD-分子モーターの合成を先行して行った。複数種の分子モーターの合成を行った後、回転分子としての妥当性を顕微鏡にて評価した。その後、それぞれのグループにて高島グループは分子設計の改良、青木グループにて第一世代顕微鏡システムの構築・計測システム・分子設計双方の特長・弱点の洗い出しを行い、その後の顕微鏡システムの改良を行った。平成 23 年度からは高精度で単一分子計測を行う分子設計として、ローターとなる CD には発光強度の強い発光性を示すペリレンジイミド(PDI)を色素分子とした[2]ロタキサンの合成を行った。

４．研究成果

<u>（１）新規**CD-**分子モーターの合成</u>

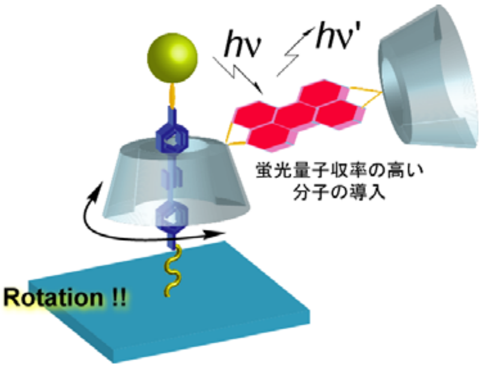
ガラス基板上でのシクロデキストリン（CD）-分子モーターの構築に当たって、高精度で単一分子計測を妨害しない分子設計を行う事が何より重要である。そのため、ローターとなるCDには発光強度の強い蛍光色素を結合し、その発光を通して精度の高い観測を行う。また色素分子がCDの運動を直接反映するために、CD–色素間がリジッドに結合されていることが重要である。上記のような基本的な重要ポイントを押さえ、ペリレンジイミド(PDI)を色素分子とした[2]ロタキサンの合成を行った。PDIは水に対する溶解性が低いため、PDIの両端にCDを修飾したPDI-$CD_2$を合成した。PDI-$CD_2$は逆相クロマトグラフィーにより精製を行った。




<u>（２）**PDI-$CD_2$**を用いたロタキサンの合成と発光挙動</u>

ガラス基板上でのシクロデキストリン（CD）からなる分子モーターの構築した。高精度で単一分子計測を行う分子設計として、ローターとなるCDには発光強度の強い発光性を示すペリレンジイミド(PDI)を色素分子

とした[2]ロタキサンの合成を行った。PDIは水に対する溶解性が低いため、PDIの両端にCDを修飾した$PDI-CD_2$を合成した。結果、水溶液中においても非常に高い発光強度を示し、単一分子計測にも適していた。特にこれまでのRhodamin Bを使用していた時よりも長時間観測することが可能となった。




（３）$PDI-CD_2$を用いた蛍光顕微鏡観察

$PDI-CD_2$ を回転分子として、ガラス基板上にロタキサンを作成した。作成したガラス基板を蛍光顕微鏡により確認したところ、明確な単一分子による蛍光発光を確認した。またデフォーカス測定も成功し、回転分子の分子配向を決定することができた。現在、滴下溶液を水から粘度の高い高分子溶液に変更し、さらにこの高分子には$PDI-CD_2$を分子認識による相互作用のあるゲスト分子を修飾し、回転運動をリアルタイムにて計測できる試みを行っている。特にこのゲスト分子は刺激応答性を有しており、回転運動の ON/OFF 制御が可能ではないかと考えている。

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 6 件）

① Emission Properties of Cyclodextrin Dimers Linked with Perylenediimide - Effect of Cyclodextrin Tumbling （査読有）
Takashima, Y.; Fukui, Y.; Otsubo, M.; Hamada, N.; Yamaguchi, H.; Yamamoto, H.; Harada, A.
*Polymer Journal* **2012**, *44*, 278-285.

② Redox-responsive self-healing materials formed from host－guest polymers （査読有）
Nakahata, M.; Takashima, Y.; Yamaguchi H.;Harada, A.
*Nature Communications* **2011**, *2*, 511.

③ Artificial Molecular Clamp: A Novel Device for Synthetic Polymerases （査読有）
Takashima, Y.; Osaki, M.; Ishimaru, Y.; Yamaguchi, H.; Harada, A.
*Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *33*, 7524-7528.

④ Selective Photoinduced Energy Transfer from a Thiophene Rotaxane to Acceptor （査読有）
Sakamoto, K.; Takashima, Y.; Hamada, N.; Ichida, H.; Yamaguchi, H.; Yamamoto, H.; Harada, A.
*Org. Lett.* **2011**, *13*, 672-675.

⑤ Supramolecular Spherical β-$Cyclodextrin_{32}$-Dendrimer: Inclusion Property and Supramolecular Structure （査読有）
Takashima, Y.; Oka, T.; Yoshida, S.; Yamaguchi, H.; Harada, A.
*Chem. Lett.* **2011**, *40*, 742-743.

⑥ Photoswitchable Supramolecular Hydrogels Formed by Cyclodextrin and Azobenzene Polymers （査読有）
Tamesue, S.; Takashima, Y.; Yamaguchi, H.; Shinkai, S.; Harada, A.
*Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 7461-7464.

〔学会発表〕（計 13 件）

① 第 60 回高分子討論会
［2011 年 9 月 28 日（水）-30 日（金） 岡山大学津島キャンパス，岡山県岡山市］
1ESA09
Yoshinori Takashima・ Motofumi Osaki・Hiroyasu Yamaguchi・Akira Harada
"Artificial Molecular Clamp: A Novel Device for Synthetic Polymerases"

② 第 5 回バイオ関連化学シンポジウム
［2011 年 9 月 12 日（月）-14 日（水） つくば国際会議場, 茨城県つくば市］
1B-03
高島義徳・大崎基史・石丸雄大・山口浩靖・原田 明
"人工分子クランプを導入した超分子重合触媒の重合挙動"

③ 第 28 回シクロデキストリンシンポジウム
［2011 年 9 月 8 日（木）-9 日（金） 秋田ビューホテル, 秋田県秋田市］
奨励賞受賞講演
高島義徳
"修飾シクロデキストリンを用いた超分子錯体の構造制御と機能創製"

④ **ISMSC|2011**
［July 3rd-7th, 2011, University of Sussex, Brighton, UK］
P219
Yoshinori Takashima, Tatsuhiko Oka, Syogo Yoshida, Hiroyasu Yamaguchi, Akira Harada
"Supramolecular Spherical

β-Cyclodextrin32-Dendrimer: Inclusion Property and Supramolecular Structure.”

⑤ 国際研究集会第 7 回「化学的にプログラムされた合成色素類の超分子ナノ科学」
［2011 年 6 月 11 日（土） 立命館大学琵琶湖草津キャンパス，滋賀県草津市］
招待講演
高島義徳
"Molecular Hula-Hoop: Observations of Rotary Movement of Rotor"

⑥ **PACIFICHEM 2010**
［Dec. 15th -20th, 2010, Hawaii Convention Center; etc., Hawaii, USA］
1316
Yoshinori Takashima, Naoki Tomimasu, Hiroyasu Yamaguchi, Akira Harada
“Social self-sorting: Alternating supramolecular oligomer consisting of isomers.”

⑦第 4 回バイオ関連化学シンポジウム
［2010 年 9 月 24 日（金）-26 日（日） 大阪大学豊中キャンパス， 大阪府豊中市］
1C-01
高島義徳・青木裕之・西村 大・山口浩靖・伊藤紳三郎・原田 明
“Molecular Hula-Hoop-蛍光顕微鏡によるロタキサンの単一分子回転運動観察”

⑧第 59 回高分子討論会
［2010 年 9 月 15 日（水）-17 日（金） 北海道大学高等教育機能開発総合センター，北海道札幌市］
3F02
高島義徳・金谷 晃・山口浩靖・原田 明
“修飾シクロデキストリンが形成する超分子錯体の光制御”

⑨ 第 27 回シクロデキストリンシンポジウム
［2010 年 9 月 6 日(月)-7 日(火) 金沢市文化ホール， 石川県金沢市］
2P-34
高島義徳・金谷 晃・山口浩靖・原田 明
“修飾シクロデキストリンが形成する超分子錯体の光制御”

⑩ 第 27 回シクロデキストリンシンポジウム
［2010 年 9 月 6 日(月)-7 日(火) 金沢市文化ホール， 石川県金沢市］
1P-28
高島義徳・青木裕之・西村 大・山口浩靖・伊藤紳三郎・原田 明
“蛍光顕微鏡によるロタキサンの単一分子回転運動観察”

⑪ **ISMSC|2010**
［June 6th-10th, 2010, Nara Prefectural New Public Hall, Nara, Japan］
P059
Yoshinori Takashima
“Controlled Switching between Double Threaded Dimer and Supramolecular Oligomer by Acyl Migration and Photo-External Stimuli”

⑫ **ISMSC|2010**
［June 6th-10th, 2010, Nara Prefectural New Public Hall, Nara, Japan］
P058
Yoshinori Takashima
“A Molecular Reel: Shuttling of a Rotor by Tumbling of a Cyclodextrin.”

⑬第 60 回高分子学会年次大会
［2010 年 5 月 26 日（水）-28 日（金） 大阪国際会議場， 大阪府大阪市］
1L08
Yoshinori Takashima, Kazuya Sakamoto, Norio Hamada, Hideki Ichida, Hiroyasu Yamaguchi, Hitoshi Yamamoto, Akira Harada
"Molecular Power Point: Selective Photoinduced Energy Transfer from a Thiophene Rotaxane to Acceptor."

〔図書〕（計 1 件）
① 刺激応答性超分子マテリアルの構築とその性質
高島義徳・原田明
化学工業 2011, 62(12), 903-909.

〔その他〕
ホームページ等
http://www.chem.sci.osaka-u.ac.jp/lab/harada/index.html

６．研究組織
(1)研究代表者
髙島 義徳（TAKASHIMA Yoshinori）
大阪大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号：40379277

(2)研究分担者
青木 裕之（AOKI Hiroyuki）
京都大学・先端医工学研究ユニット・准教授
研究者番号：90343235

(3)連携研究者
なし