

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19350065

研究課題名（和文）超分子機械の創製と機能化

研究課題名（英文） Fabrication and Functionalization of Supramolecular Machines

研究代表者

金原 数 (KINBARA KAZUSHI)

東北大学多元物質科学研究所・教授

研究者番号：30282578

研究成果の概要：

分子間相互作用により分子の機械的な動きを伝達する「超分子機械」の創製を試みた。その結果、3分子が直線的に連結し、末端の光駆動分子の動きが反対側の末端に位置するプローブ分子へと伝達される、3分子系の「分子の遠隔操作システム」の構築に成功した。また、生体分子機械として知られているシャペロニンを超分子化学的に連結することにより、ゲストを内包できるナノチューブの構築に成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,800,000	2,340,000	10,140,000
2008年度	6,100,000	1,830,000	7,930,000
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：超分子化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：超分子化学・分子機械・配位結合・フォトクロミック分子・遠隔操作・シャペロニン・ナノチューブ・分子糊

## 1. 研究開始当初の背景

1959年に R. P. Feynman は分子を使った機械・デバイスの可能性について言及した。しかしながら、実際にそのような概念を実現する分子が合成されたのは、それから 20 年ほど後のことになる。1979 年に合成分子機械の最初の例とされるアゾベンゼンとクラウンエーテルを組み合わせた光駆動分子機械が新海らによって報告されて以来、機械的な動きを起こす「分子機械」が多方面から注目を集めてきた。それ以降、分子の構造変化を制限するような分子設計により、様々な動きを起こす分子機械が提案されてきた。さて、このように発展してきた分子機械であるが、その動きに着目すると、主として回転運動か

スライド運動を起こすものなど、我々の身の回りにある機械と比べると比較的単純な動きをするものがほとんどである。一方、実在する機械を見てみると、様々な部品を組み合わせ、それぞれの動きが連動するように精密に設計されている。まず、エネルギーを得て動きを生み出す動力部があり、その動きを別な動きに変換する部品、されに動きを別の場所へと伝達する部品などが組み込まれており、全体としてそれぞれの部品の機械的な動きが協調して特定の機能を発揮するように設計されている。例えば、機械の代表例として車を例に見てみると、動力部としては、ガソリンの燃焼によりピストン運動を生み出すエンジンがあり、そこで生み出される運動が

クランクシャフトへと伝わって回転運動に変換され、さらに回転数を調節するトランスミッションへと伝わり、最終的にタイヤの回転を起こすようになっている。それぞれの部品は独自の機械的な動作を行うよう設計されており、それらを組み合わせることで、「車」という一つの機械ができあがっている。これに対し、これまでの分子機械の開発においては、如何にして一分子の動きを精密にコントロールするか、ということに焦点が当てられてきた。本研究課題では、これとは全く別の視点で、超分子化学的手法により複数の部品を組み合わせることにより、分子の動きの伝達・変換という機構を組み込んだ分子機械の開発を目的に検討を行った。

## 2. 研究の目的

本研究では複数の分子が分子間相互作用により集積化し、お互いの動きが連動する、「超分子機械」の構築を目的としている。生体分子機械の多くは、サブユニットの集合体であり、それぞれのサブユニットの動きが連動することにより、極めて複雑な動きを引き起こしている。一方、既存の合成分子機械においては、複数のコンポーネントを連動させるという着想は皆無である。数多くの分子を連動して動かすことにより、生体分子機械に匹敵する高機能を有する分子機械の創製が可能となるのではないかと考えた。

本研究課題では、合成化学的に分子機械を構築するボトムアップ的アプローチ、生体分子機械の化学修飾を利用したアプローチの2つのアプローチにより、分子間相互作用を介して分子から分子へと動きを伝えることのできる超分子機械の構築を目指した。後者のアプローチについては、生体分子機械として知られているタンパク質シャペロニンを用い、超分子分子機械の革新的応用を目指して検討を行った。

## 3. 研究の方法

本研究課題では、(1) 3分子複合体による分子の遠隔操作の実現、(2) 生体分子機械「シャペロニン」を利用した、超分子機械の構築と機能開拓、の2点を中心に超分子機械の創製とその機能化に挑戦した。さらに、生体分子を修飾するツールとして、生体分子に超分子化学的に作用する「分子糊」の開拓を目指した。

## 4. 研究成果

### (1) 3分子系超分子機械の構築

図1に示す3分子系分子機械は、末端プローブ分子(1)、光駆動分子(3)、これらを仲介するブリッジ分子(2)から成っている。光

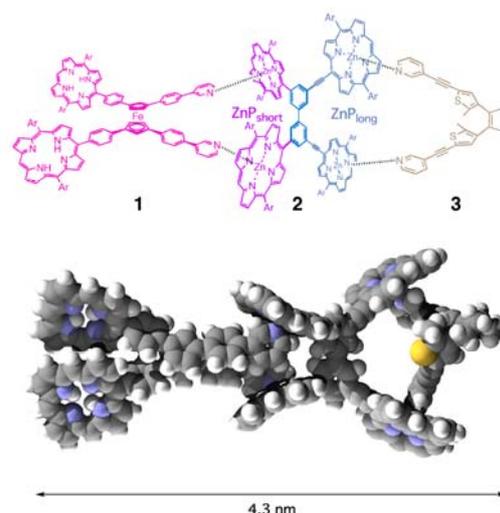


図1 プローブ分子1、ブリッジ分子2、光駆動分子3からなる3分子系超分子機械

駆動分子としては、高効率で光異性化反応を起こすフォトクロミック分子として知られているジチエニルエテン誘導体を採用した。光駆動分子3とプローブ分子1はそれぞれ2つのピリジン環を持っているが、お互いの間に強い分子間相互作用は働かない。2つのピリジン環を持っているが、お互いの間に強い分子間相互作用は働かない。一方、ブリッジ分子2はビフェニル骨格上に合計4つの亜鉛ポルフィリン部位を有しており、1あるいは3と配位結合を形成する。ここで、2の4つの亜鉛ポルフィリンには、ビフェニル骨格に直接結合している2つと(ZnP<sub>short</sub>)、エチニル基を介して結合している2つ(ZnP<sub>long</sub>)の2種類がある。非常に興味深いことに、紫外可視吸収スペクトルを用いた滴定実験の結果、1、2、3を混合した場合には、光駆動分子3は2つのZnP<sub>long</sub>に、プローブ分子1は2つのZnP<sub>short</sub>に選択的に配位して、直線状に連なった3分子ヘテロ会合体を形成することが分かった(図1)

### (2) 3分子系超分子機械の光応答性

プローブ分子1には4置換フェロセンに由来するキラリティーがあるため、1はCD活性である。その他の2および3はアキラルであるため、単独ではCD不活性であるが、1と会合体を形成させたところ、2の亜鉛ポルフィリンの吸収帯に対応する領域に誘起CDシグナルを与えるようになった。ここで、1のフリーベースポルフィリンは亜鉛ポルフィリンと異なった領域に特徴的な吸収帯を持つため、その領域でCDシグナルを追跡することで、1のコンホメーション変化を追跡できる。

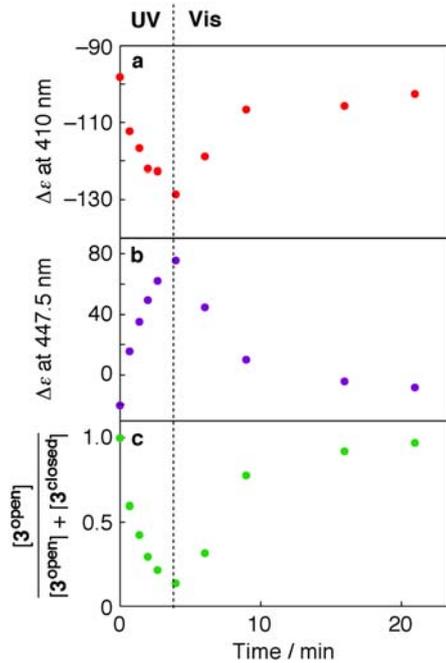


図2 プロブ分子1、ブリッジ分子2、光駆動分子3由来のシグナル変化

まず、ブリッジ分子2の存在しない状態で、1と3の混合物に光を照射し、3を異性化したところ、紫外光可視光いずれの照射によっても、1に由来するCDシグナルは変化しなかった。これは、1と3との間の相互作用がほとんどないため、物理的なコミュニケーションが無いことを意味する。次に、1、2、3の混合物に光照射を行い3を異性化したところ、3と相互作用している2に由来するCDシグナルに加え、3とは直接相互作用しない1に由来するCDシグナルも変化した(図2)。これは、3の構造変化がブリッジ分子2を介して1に伝わり、そのコンホメーション変化を誘起したことを意味する。このように、本系は直接相互作用していない分子間で物理的なコミュニケーションが可能であることを明らかにした。

### (3) シャペロニンナノチューブの開発

シャペロニン GroEL は7個のサブユニットにより形成されたリング状集積体が2つスタックすることにより14個のサブユニットから構成される筒状構造を成している(図3)。GroELの分子量は約80万に達する。天然型シャペロニン GroELの各サブユニットのシステインをアラニンに置換し、更に311番目のリジンと314番目のロイシンをシステインに置換して変異体 GroEL を作製した(図4)。この変異体では、修飾可能なシステインが計28個両端の空孔の所に存在することになる。このシャペロニン GroEL 変異体に対し、マレイミド部位を有するスピロピラン誘

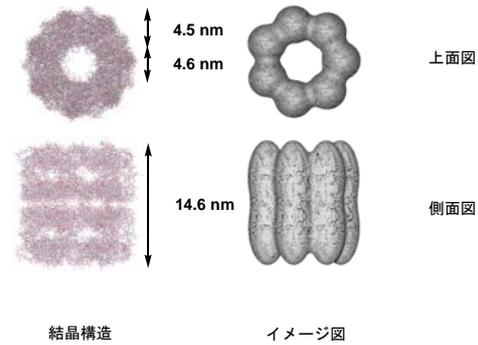


図3 シャペロニン GroEL の構造

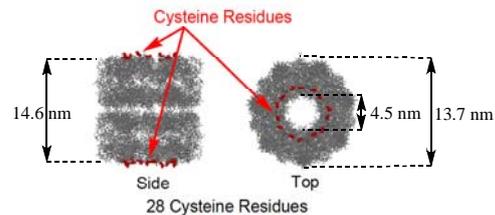


図4 シャペロニン GroEL 変異体の構造

導体を添加することで、システイン残基にスピロピランを導入した。このスピロピランは紫外光を照射することによって光異性化を起し、メロシアニン型になる。また、メロシアニン型分子に可視光を照射することでスピロピラン型に戻すことも可能である(図5)。

修飾反応の確認はサイズ排除型超高压高速液体クロマトグラフィー(GPC)により行った。ここでタンパク質の吸収波長である280 nm、およびスピロピラン型分子の吸収波長である350 nm、更に、メロシアニン型分子の発光波長である654 nm(励起光381 nm)でそれぞれクロマトグラムを測定し、修飾反応が十分に進行していることを確認した。さらに、修飾後の吸光度から、システインの98%以上が修飾されていることが分かった。

修飾後のこの変異体 GroEL に塩化マグネシウムを添加したところ、GPC クロマトグラム上で高分子量成分の割合が著しく増加した。さらに透過型電子顕微鏡により、修飾 GroEL が自己集積し、長いチューブ状の会合体が形成していることを見出した(図6)。さらに興味深いことに、ゲストとして変性タンパク

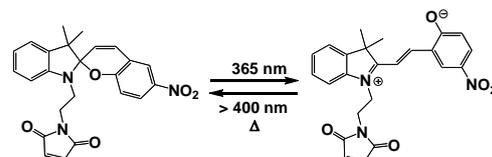


図5 スピロピランの光反応挙動

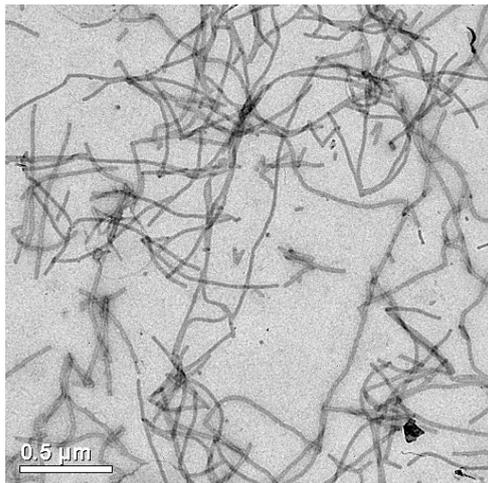


図6 シャペロニナノチューブのTEM像

質を取り込ませた後に塩化マグネシウムを添加すると、ナノチューブ内にゲストを内包させることができることを見いだした。このようなゲスト内包ナノチューブは、ナノチューブの高いアスペクト比により高い細胞膜透過性が期待できるため、薬剤等のデリバリーシステムのカリヤに適していると考えられる。

#### (4) 生体分子の会合を制御する「分子糊」の創製

生体分子は生理条件下という穏やかな環境で多彩な機能を発揮している。近年、このような生体分子に対し、化学的に修飾を施すことで全く新しい機能性複合体を創製する試みが広く行われるようになった。このような背景から、医療やバイオテクノロジーをはじめとする諸分野で生体分子と様々な物質とを結びつけるバイオインターフェイスに注目が集まっている。このような背景のもと、多数の機能団と生体分子を自在に糊付けできる“モレキュラーグルー（分子糊）”の開発を試みた。モレキュラーグルーの最初の例として以下に示すポリグアニジニウム型 dendrimer を設計し（図7）、その合成に成功した。

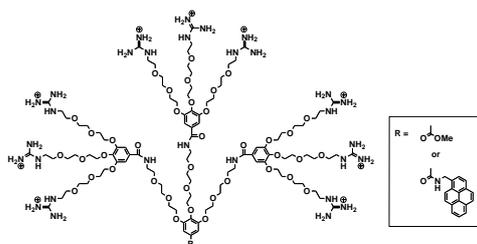


図7 「分子糊」(G1) の分子構造

モレキュラーグルーの分子設計においては、ほとんどの生体分子中に存在しているオキシアニオン性官能基に着目し、このような部位と超分子的に相互作用するグアニジニウムイオンをインターフェイスとした。水中での強固な接着を実現するため、多価相互作用が可能な dendrimer 構造を採用した。この dendrimer のフォーカルポイントにはカルボキシル基を利用して多様な機能団を導入できる。

実際の生体分子との相互作用を調べるため、典型的なタンパク質であるウシ血清アルブミン (BSA) に対して ITC 分析を行い、G1 (R = COOMe) が BSA と高い効率で相互作用できることを明らかにした。さらに、フォーカルポイントにピレンを導入した G1 (G1-Py) を BSA に添加し、BSA の蛍光スペクトル ( $\lambda_{ex}$ : 277 nm) の変化を調べた。その結果、G1-Py の添加量の増大に伴い、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) が観測され、dendrimer の BSA に対する超分子化学的な修飾が成功したことが強く示唆された。この実験条件下では、タンパク質の2次構造を反映する200-250 nm 領域の CD スペクトルがほとんど変化せず、G1 による修飾が立体構造を乱さないことが明らかとなった。さらに、モレキュラーグルーが微小管のような、タンパク質の集合体を安定化することを見いだした。

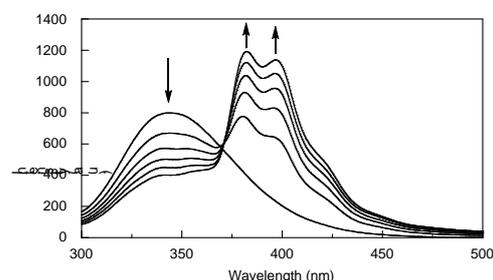


図8 BSA に G1-Py を滴下した場合の蛍光スペクトル変化の様子

#### 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7件)

- ① Biswas S, Kinbara K, Oya N, Ishii N, Taguchi H, Aida T, A Tubular Biocontainer: Metal Ion-Induced 1D Assembly of a Molecularly Engineered Chaperonin, J. Am. Chem. Soc., 2009, in press. (査読有)
- ② Okuro K, Kinbara K, Tsumoto, Ishii N, Aida T, Molecular Glues Carrying Multiple Guanidinium Ion Pendants via an Oligoether

Spacer: Stabilization of Microtubules against Depolymerization. *J. Am. Chem. Soc.* 131: 1626-1627, 2009. (査読有)

③ 金原 数「分子を使って機械を作る 分子ハサミ、分子ペンチへの挑戦」、*未来材料*, 8, 62-64, 2008. (査読無)

④ 金原 数「光で分子を動かす光駆動分子ペンチ」、*光アライアンス*, 18, 9-13, 2008. (査読無)

⑤ Kai H, Nara S, Kinbara K, Aida T, Toward Long-Distance Mechanical Communication: Studies on a Ternary Complex Interconnected by a Bridging Rotary Module. *J. Am. Chem. Soc.*, 130: 6725-6727, 2008. (査読有)

⑥ Tanaka K, Kinbara K, Toward Autonomously Operating Molecular Machines Driven by Transition-Metal Catalyst. *Mol. BioSyst.*, 4: 512-514, 2008. (査読有)

⑦ Kinbara K, Muraoka T, Aida T, Chiral Ferrocenes as Novel Rotary Modules for Molecular Machines. *Org. Biomol. Chem.*, 1871-1876, 2008. (査読無)

[学会発表] (計 3 1 件)

1. 田中 雅洋、趙 焱一、金原 数、相田 卓三「キラルなアミノ酸、4-アミノピペリジン-4-カルボン酸、からなる新規なオリゴペプチドの分子設計と性質」、日本化学会第89春季年会、2009年3月29日、日本大学理工学部船橋キャンパス
2. 大黒 耕、金原 数、津本 浩平、石井 則行、相田 卓三「モレキュラーグルー(分子糊)を用いたタンパク質の超分子的修飾」、日本化学会第89春季年会、2009年3月29日、日本大学理工学部船橋キャンパス
3. Kinbara K, “Development of Bioinspired Molecular Machines”, 2009 Multifunctional Nanoscale Materials for the 21st Century, 2009/3/7, Argonne National Laboratory, Argonne, USA (invited)
4. Kinbara K, “Development of Supramolecular Machines: Transformation of Mechanical Motions between Molecules”, 2009 WPI-AIMR Annual Workshop, 2009/3/6, Mitagi-Zao Royal Hotel, Zao, JAPAN (invited)
5. 金原 数「分子による分子の操作: 超分子機械の設計とその動き」、情報科学用有機材料第142委員会 合同研究会、2008年10月31日、東京理科大学(招待講演).
6. 大黒 耕、金原 数、津本 浩平、相田 卓三「タンパク質の超分子的な修飾を可

能にするモレキュラーグルーの開拓と性質」、第57回高分子討論会、2008年9月25日、大阪市立大学

7. 趙 焱一、金原 数、相田 卓三「アキラルなアミノ酸「4-アミノピペリジン-4-カルボン酸」からなる新規なオリゴペプチドの設計」、第57回高分子討論会、2008年9月25日、大阪市立大学
8. ビスワス シュヴェンドウ、金原 数、石井 則行、田口 英樹、相田 卓三「シャペロニンナノチューブの構築と拡張」、第57回高分子討論会、2008年9月25日、大阪市立大学
9. 宮村 泰直、金原 数、相田 卓三「フォトクロミック配位子を有する遷移金属錯体触媒の設計と重合反応の可変立体制御」、第57回高分子討論会、2008年9月25日、大阪市立大学
10. Lintang H O, Kinbara K, Tanaka K, Aida T, “Phosphorescent Mesostuctured Silica Templated by an Amphiphilic Columnar Assembly of Trinuclear Au(I) Pyrazolate Complex”, 6th International Mesostuctured Materials Symposium, 2008/9/9, University of Namur, Namur, Belgium
11. 金原 数「次世代分子機械への挑戦: 分子と分子の機械的コミュニケーション」、学振 151 委員会 ナノバイオフィュージョン分科会研究会、2008年7月25日、早稲田大学(招待講演)
12. 金原 数「分子で機械を作る: 有機合成化学とタンパク質工学からのアプローチ」、早稲田大学講演会、2008年7月11日、早稲田大学
13. 金原 数「生体高分子の超分子化学を利用した機能性物質の開拓、多元研講演会「生命科学と化学の接点-分子レベルで見る細胞の世界-」、2008年5月31日、東北大学(招待講演)
14. BISWAS SHUVENDU、大矢 延弘、金原 数、石井 則行、田口 英樹、相田 卓三「シャペロニンをユニットとした刺激応答性超分子構造体の構築」、第57回高分子学会年次大会、2008年5月29日、パシフィコ横浜
15. Lintang H O, Kinbara K, Tanaka K, Aida T 「Phosphorescent Mesostuctured Silica Templated by a Columnar Assembly of Trinuclear Au(I) Pyrazolate Complex Formed via a Metallophilic Interaction」、第57回高分子学会年次大会、2008年5月28日、パシフィコ横浜
16. 大黒 耕、金原 数、津本 浩平、相田 卓三「モレキュラーグルー(分子糊)を用いたタンパク質修飾」、第57回高分

- 子学会年次大会、2008年5月28日、パシフィコ横浜
17. 大黒 耕、金原 数、津本 浩平、相田卓三「生体分子のユニバーサルな修飾を可能にするモレキュラーグルー（分子糊）の創製と性質」、日本化学会第88春季年会、2008年3月29日、立教大学
  18. 金原 数「精密分子機械の合成と機能」、日本化学会第88春季年会 第2次先端ウォッチング 「精密巨大分子の化学」、2008年3月28日、立教大学（招待講演）
  19. BISWAS SHUVENDU、大矢 延弘、金原 数、田口 英樹、石井 則行、相田 卓三「分子シャペロンからなるチューブ状集合体の形成とその性質」、日本化学会第88春季年会、2008年3月27日、立教大学
  20. 甲斐 洋行、金原 数、相田 卓三「超分子機械の設計：動力の遠距離伝達への挑戦」、日本化学会第88春季年会、2008年3月26日、立教大学
  21. 金原 数「光駆動分子マシンについて」、レーザー駆動電子顕微鏡研究会、2008年3月7日、東京大学大学院工学系研究科原子力専攻会議室
  22. 金原 数「生体高分子の超分子化学と機能開拓」、第5回ライフサイエンスシンポジウム、2008年1月31日、名古屋
  23. Kinbara K, “Development of Light-driven Molecular Machines Composed of Tetrasubstituted Ferrocenes as Rotary Modules”, International Symposium on Catalysis and Fine Chemicals 2007, 2007/12/25, Nanyang Technology University, Singapore, Singapore
  24. Kinbara K, “Development of Light-driven Molecular Machines Composed of Tetrasubstituted Ferrocenes”, The 4th Japanese-Sino Symposium on Organic Chemistry for Young Scientists, 2007/9/25, Hilton Narita, Chiba, Japan (invited)
  25. Kinbara K, Aida T, “Development of Bio-Inspired Molecular Machines”, ICBN2007, 2007/8/13, Biopolis, Singapore, Singapore (invited)
  26. Kinbara K, Aida T, “Development of Molecular Devices By Chemical Modification Of Chaperonins”, The 2nd International Congress on Nanotechnology and Nanomedicine, 2007/6/19, San Francisco Airport Crowne Plaza, San Francisco, USA (invited)
  27. Okuro K, Kinbara K, Aida T, “Novel Polyguanidine Dendrimers for Supramolecular Modification of Biomolecules”, The 2nd International Congress on Nanotechnology and Nanomedicine, 2007/6/19, San Francisco Airport Crowne Plaza, San Francisco, USA
  28. 金原 数「フェロセンを利用した次世代分子機械の設計」、分子研研究会「金属と分子集合」、2007年6月4日、分子研（招待講演）
  29. 金原 数「分子を用いた機械への挑戦」、触媒学会若手会フレッシュマンゼミナール、2007年6月2日、東京大学（招待講演）
  30. 大黒 耕、金原 数、田口 英樹、相田卓三「生体分子への化学的修飾を目的とするポリグアニジン dendrimer の創製」、第56回高分子学会年次大会、2007年5月30日、名古屋国際会議場
  31. Kinbara K, Aida T, “Mechanical manipulation of guest molecules by light-driven molecular machines”, International Conference on Molecular Machines and Sensors, 2007/5/8, East China University of Science, Shanghai, China (invited)
- 〔図書〕（計3件）
- ① 金原 数 (2009) 「分子はさみと分子ペンチ」、超分子サイエンス&テクノロジー (NTS)、pp. 578-584
  - ② 金原 数 (2008) 「分子レベルで動きを伝達、分子をねじる光駆動分子ペンチ」、最新分子マシン - ナノで動く “高度な機械” を目指して - (化学同人)、pp. 56-60
  - ③ 金原 数 (2007) 「半導体ナノ粒子複合体を用いる機能性材料の創製と応用」、量子ドットの生命科学領域への応用 (監修: 山本重夫; シーエムシー出版)、pp. 159-169
- 〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.tagen.tohoku.ac.jp/labo/kinbara/index-j.html>
- 新聞記事  
2009年2月6日掲載、日経産業新聞、「「分子のり」開発-タンパク質や核酸・糖を結合がん治療に応用へ
6. 研究組織  
(1) 研究代表者  
金原 数 (KINBARA KAZUSHI)  
東北大学・多元物質科学研究所・教授  
研究者番号: 30282578

様式 C-19 (記入例)

科学研究費補助金研究成果報告書