

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K14670

研究課題名（和文）生体膜内部をナノ反応場として活用する単層二次元高分子の精密合成

研究課題名（英文）Controlled synthesis of two-dimensional polymers within biological membranes

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） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、脂質二重層を足場とした生体高分子合成機構から着想を得て、脂質二重層の内部を合成反応場として活用する新たな物質合成の実現を目指した。そして、中心部に触媒部位を導入した新規両親媒性分子を合成した。この触媒分子の水における触媒活性を評価したところ、驚くべきことに同様の配位子構造を有する市販の水溶性触媒の活性を優位に上回ることが判明した。このメカニズムを検証した結果、本研究で合成した両親媒性触媒分子は水中において流動性を有する液滴状の集合体を形成し、その内部に基質分子を濃縮することで高いコンバージョンを実現してい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

現代までの有機・高分子合成化学の発展により、バラエティに富んだ構造の分子を合成できるようになった。これらの分野は主に新規反応の開発によって牽引されてきたが、化学合成の場に注目した研究も同様に、物質合成の可能性を広げる上で多大なる貢献を果たしてきた。一般的に合成反応は均一な溶液中で行われるが、気液・液液・固液界面を化学合成の場として利用することで、均一相では合成し得ない化学構造や、界面の形状を反映したユニークな集積構造を有する有機・高分子材料を創成できる。本研究は従来の化学合成に新たな場を提供し、従来は不可能であった物質合成の可能性を切り拓くものである。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this research was to establish a new synthesis method that utilizes the interior of lipid bilayers, as seen in the synthesis of biopolymers in nature. Here we have synthesized a novel amphiphilic molecule containing a catalytic moiety in its central part. We have evaluated its catalytic activity in water and found that its activity is superior to that of commercially available water-soluble catalysts with a similar ligand structure. The high catalytic activity of the amphiphilic catalyst is attributed to its propensity to form a liquid droplet, which can concentrate the substrate molecules inside the droplet.

研究分野：生体関連化学

キーワード：脂質二重層 両親媒性分子

## 1. 研究開始当初の背景

現代までの有機・高分子合成化学の発展により、バラエティに富んだ構造の分子を合成できるようになった。これらの分野は主に新規反応の開発によって牽引されてきたが、化学合成の『場』に着目した研究も同様に、物質合成の可能性を広げる上で多大なる貢献を果たしてきた。一般的に合成反応は均一な溶液中(均一相)で行われるが、気-液・液-液・固-液界面を化学合成の場として利用することで、均一相では合成し得ない化学構造や、界面の形状を反映したユニークな集積構造を有する有機・高分子材料を創成できる。このように、新たな化学合成の『場』を開拓することは、新たな物質合成の可能性を切り拓くことに他ならない。

## 2. 研究の目的

生物の細胞表面を覆う脂質二重層内部では、その『場』を活かした興味深い物質合成が行われている。脂質二重層は、両親媒性の脂質分子が水中で向かい合って集合することで形成された、厚さ数ナノメートルの流動的な二次元状の膜であり、その内部に疎水性分子を効率的に取り込む性質を有している。そして、リボソームにより脂質二重層内部で疎水性タンパク質が合成される際には、その合成反応場が二次元的に制限されることで、脂質二重層の構造を反映した緻密な高次構造が構築される(図1)。そこで本研究では、このような生体高分子合成機構から着想を得て、脂質二重層の内部を『ナノ反応場』として活用することで、従来は不可能であった物質合成を新たに実現することを目指した。

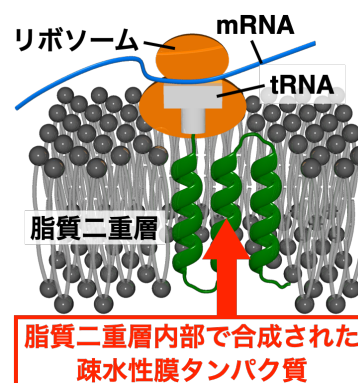


図1. 脂質二重層における膜タンパク質の合成。

## 3. 研究の方法

高分子とは、小さな分子ユニット(モノマー)が化学結合でつながってできた分子であり、我々の身の周りでは主にプラスチックの構成要素として利用されている。中でも近年、単層二次元高分子と呼ばれる、原子が二次元方向に結合した、原子1個分の厚みを有するシート状の高分子が特に注目を集めている。二次元高分子は破格の物理的強度、電気・熱伝導度を有しており、2010年ノーベル物理学賞が単層二次元高分子の代表例であるグラフェンの研究に授与されたことから明らかのように、次世代の機能性材料として大きな期待を寄せられている。しかし、従来の一般的な二次元高分子合成法では不規則な構造体が多く生成し、仮に単層二次元高分子が生成しても、合成に伴いシート同士が分子間相互作用により自発的に積層してしまう(図2)。そこで本研究の第一目標として、生体膜内部の二次元ナノ空間を二次元高分子合成の反応場として利用することを試みることにした。

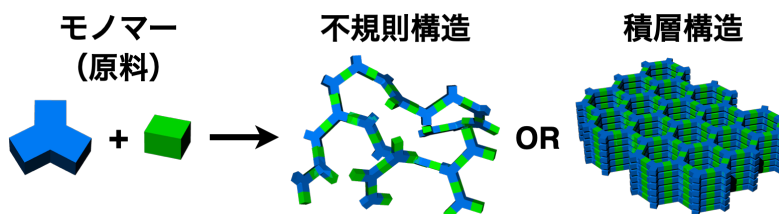


図2. 従来の二次元高分子合成法による不規則構造体や積層した構造体の生成。

## 4. 研究成果

生体膜内部の二次元ナノ空間を二次元高分子合成に利用するデモンストレーションとして、芳香族アミンと芳香族アルデヒドのイミン結合形成を試みた。はじめに、二次元高分子の原料となる芳香族アミンおよび芳香族アルデヒドの生体膜への導入を試みた(図3)。様々な条件検討の結果、リン脂質のクロロホルム溶液にこれらのモノマー分子を添加し、時間をかけて乾燥させ

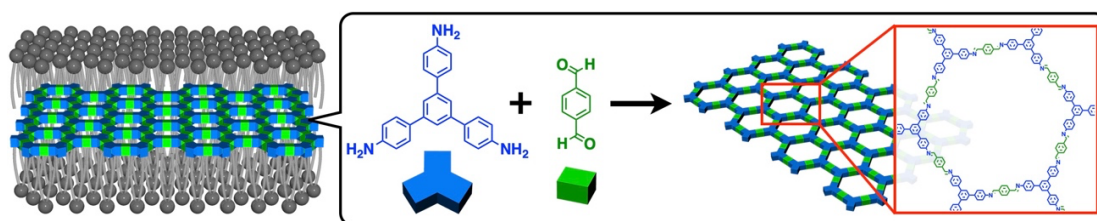


図3. イミン結合形成による二次元高分子の合成.

ることで薄膜を形成させたのち、HEPES バッファーを加えることで、リン脂質分子に対しておよそ 10 mol% の比率でモノマー分子を導入することに成功した。なお、モノマー分子の導入効率は紫外可視吸収スペクトル測定により評価している。次に、この分散液に対してルイス酸触媒を加え、生体膜内部でのイミン形成反応による二次元高分子の合成を試みた。しかし、触媒やリン脂質、モノマー分子の種類をはじめ、濃度・温度条件等の様々な反応条件を試したものの、二次元高分子に特徴的なスペクトルは観察されなかった。原因として、ルイス酸触媒が生体膜内部の疎水的な環境にアクセスすることができなかった点や、形成したイミン結合が生体膜を取り囲む水分子によって加水分解されてしまった可能性等が考えられる。

以上の問題点を徹底的に排除し、生体膜内部における高分子合成反応を実現するために、水分子の影響を受けない重合反応の選択および、触媒分子を生体膜内部に導入するための戦略を再考した。そして、重合反応としてオレフィンメタセシス反応 (図4) を選択するとともに、両親媒性構造を有するルテニウム触媒を新たに設計した。我々はこれまでに、疎水性のトラン骨格と親水性のオリゴエチレングリコール鎖からなる様々な両親媒性分子を開発しており、それらを生体膜の内部へと効率良く導入することに成功している (Mori, M. *et al.*, *Chem. Asian J.* **2021**, *16*, 147–157.;

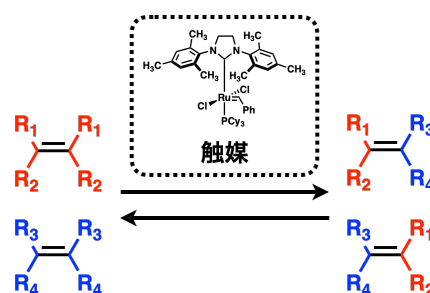


図4. オレフィンメタセシス.

Sasaki, R. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 1348–1355.; Sato, K. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 11802–11809. など)。そこで、本研究においてもこの基本分子設計戦略を採用することとした。具体的には、疎水性のオリゴフェニレンエチニレン骨格を菌頭カップリングにより合成し、これをウィリアムソンエーテル合成によって親水性オクタエチレングリコール鎖と連結させた。続いて、配位子交換反応によって分子中央部にルテニウム錯体を導入することで、目的の両親媒性触媒分子の合成を達成した。なお、合成した分子の帰属は核磁気共鳴スペクトル測定 ( $^1\text{H}$  および  $^{13}\text{C}$ ) と高分解能質量分析を用いて行った。続いて、この触媒分子の水中における触媒活性を評価するべく、オレフィンのモデル基質を添加して一定時間が経過した後に核磁気共鳴スペクトル測定を行うことでコンバージョンの算出を試みた。すると驚くべきことに、本研究で合成した触媒は同様の配位子構造を有する市販の水溶性触媒の活性を優位に上回ることが明らかとなった。このメカニズムを検証するべく、光学顕微鏡によるモルフォロジー観察を行ったところ、本研究で合成した両親媒性触媒分子は水中において流動性を有する液滴状の集合体を形成し、その内部に疎水性分子を濃縮できることが明らかとなった。同様の濃縮現象がオレフィン基質についても起こったために、水中における高いコンバージョンに繋がったものと考えられる。今後は、以上の研究成果を学術論文として発表するとともに、この特異な触媒能を生体膜の内部へと展開していくことで、本研究の当初の目的であった生体膜内部における高分子合成を実現していく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

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 有
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 Sato Kohei, Muraoka Takahiro, Kinbara Kazushi	4. 巻 54
2. 論文標題 Supramolecular Transmembrane Ion Channels Formed by Multiblock Amphiphiles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Accounts of Chemical Research	6. 最初と最後の頁 3700 ~ 3709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.accounts.1c00397	査読の有無 有
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 Dumele Oliver, Dordevic Luka, Sai Hiroaki, Cotey Thomas J., Sangji M. Hussain, Sato Kohei, Dannenhoffer Adam J., Stupp Samuel I.	4. 巻 144
2. 論文標題 Photocatalytic Aqueous CO <sub>2</sub> Reduction to CO and CH <sub>4</sub> Sensitized by Ullazine Supramolecular Polymers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 3127 ~ 3136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.1c12155	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Sato Kohei, Sasaki Ryo, Matsuda Ryoto, Nakagawa Mayuko, Ekimoto Toru, Yamane Tsutomu, Ikeguchi Mitsunori, Tabata Kazuhito V., Noji Hiroyuki, Kinbara Kazushi	4. 巻 144
2. 論文標題 Supramolecular Mechanosensitive Potassium Channel Formed by Fluorinated Amphiphilic Cyclophane	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 11802 ~ 11809
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.2c04118	査読の有無 有
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 Yospanya Wijak, Sato Kohei, Kinbara Kazushi	4. 巻 51
2. 論文標題 Multiblock Amphiphilic Triptycene toward Bioinspired Molecular Rotor in Membrane	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1026 ~ 1028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.220360	査読の有無 有
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 Adachi Junya, Oda Haruka, Fukushima Toshiaki, Lestari Beni, Kimura Hiroshi, Sugai Hiroka, Shiraki Kentaro, Hamaguchi Rei, Sato Kohei, Kinbara Kazushi	4. 巻 95
2. 論文標題 Dense and Acidic Organelle-Targeted Visualization in Living Cells: Application of Viscosity-Responsive Fluorescence Utilizing Restricted Access to Minimum Energy Conical Intersection	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 5196 ~ 5204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.2c04133	査読の有無 有
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 Kohei Sato, Charlotte E. Farquhar, Jacob Rodriguez, and Bradley L. Pentelute	4. 巻 -
2. 論文標題 Automated Fast-Flow Synthesis of Chromosome 9 Open Reading Frame 72 Dipeptide Repeat Proteins	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.3c02285	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計30件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 中川真由子、浴本亨、山根努、村岡貴博、佐藤浩平、金原数、池口満徳
2. 発表標題 An artificial ion channel studied by all-atom molecular dynamics simulations
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年 ~ 2022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発光特性
3. 学会等名 発動分子科学研究会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Thirasara Sammani、Wijak Yospanya、Adam M. Wawro、Kohei Sato、Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Development of cyclic oligo(ethylene glycol) for suppression of amyloid protein fibrillation
3. 学会等名 発動分子科学研究会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Kohei Sato、Ryo Sasaki、Ryoto Matsuda、Kazuhito V. Tabata、Hiroyuki Noji、Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Transmembrane Ion Transport by Fluorinated Amphiphilic Cyclophanes
3. 学会等名 発動分子科学研究会
4. 発表年 2021年～2022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 フッ素化交互両親媒性分子による超分子イオンチャネルの構築
3. 学会等名 第 31 回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2021年～2022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 膜タンパク質を模倣した交互両親媒性分子の階層的集合化と機能発現
3. 学会等名 第70回高分子討論会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Kohei Sato、Ryo Sasaki、Kazuhiro Tabata、Hiroyuki Noji、Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Fluorinated multiblock amphiphiles and their transmembrane ion transport properties
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Miki Mori、Kohei Sato、Toru Ekimoto、Shinichi Okumura、Mitsunori Ikeguchi、Kazuhiro Tabata、Hiroyuki Noji、Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Multiblock amphiphile bearing imidazolium as transmembrane anion transporter
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Junya Adachi、Kohei Sato、Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Synthesis of anthracene-based multiblock amphiphile and its stimuli-responsiveness within phospholipid membranes
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Ryoto Matsuda、Kohei Sato、Ryo Sasaki、Kazuhito Tabata、Hiroyuki Noji、Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Development of chiral multiblock amphiphiles and their functions within lipid bilayer membranes
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 佐藤 浩平
2. 発表標題 生体内のシグナル伝達を模倣した超分子システムの構築
3. 学会等名 分子サイバネティクス第11回領域セミナー
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Junya Adachi、Kohei Sato、Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Development of functional anthracene-based multiblock fluorophore for visualization of biological environment
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 中川 優芽、森 未妃、佐藤 浩平、金原 数
2. 発表標題 両親媒性分子の過渡的な生成に基づく化学反応サイクルの構築
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2021年～2022年



1. 発表者名 中村 彰吾、玉田 浩之、佐藤 浩平、金原 数
2. 発表標題 構造化大環状ポリアミドの自己集合
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 中村 彰吾、玉田 浩之、佐藤 浩平、金原 数
2. 発表標題 構造化大環状ポリアミドによる超分子構造体の構築
3. 学会等名 第71回高分子学会年次大会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 中川 優芽、森 未妃、佐藤 浩平、金原 数
2. 発表標題 水中における過渡的な両親媒性分子生成サイクルの構築
3. 学会等名 第71回高分子学会年次大会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 大熊 葵、佐藤 浩平、金原 数
2. 発表標題 非対称構造を有する膜貫通型両親媒性分子の開発
3. 学会等名 第71回高分子学会年次大会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 Yospanya Wijak, Kohei Sato, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Amphiphilic Oligo(ethylene glycol)s as Protein Stabilizers- Effect of Structure -
3. 学会等名 第32回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 佐藤 浩平
2. 発表標題 細胞膜上でのシグナル伝達を模倣した超分子システムの創成
3. 学会等名 関東高分子若手研究会サマーキャンプ2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 佐藤 浩平
2. 発表標題 膜間イオン輸送を実現する人工チャネルの開発
3. 学会等名 第34回生物無機化学夏期セミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 Mitsuhiro Matsumoto, Meguya Ryu, Kohei Sato, Anna Ishikawa, Takashi Kajitani, Yoshihisa Sei, Nobutaka Honma, Katsuhiko Nakajima, Junzo Ukai, Junko Morikawa, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Thermal diffusivity of structured poly(ethylene glycols)
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 Kohei Sato
2. 発表標題 Selective Transmembrane Material Transport by Fluorinated Channels
3. 学会等名 第71回高分子討論会 (招待講演)
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 Kohei Sato
2. 発表標題 Transmembrane material transport by fluorinated channels
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 Wijak Yospanya, Thirasara Sammani, Kohei Sato, Adam M. Wawro, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Amphiphilic oligo(ethylene glycol)s as protein stabilizers: effect of structure
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 Ryoto Matsuda, Kohei Sato, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Development of multiblock amphiphilic cyclophanes and their functions within lipid bilayer membranes
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 足立 惇弥, 福嶋 俊明, 小田 春佳, 菅井 祥加, 佐藤 浩平, 木村 宏, 金原 数
2. 発表標題 非TICT型粘度応答性蛍光プローブの開発と生細胞イメージングへの適用
3. 学会等名 2022年光化学討論会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 Thirasara Sammani, Wijak Yospanya, Adam M. Wawro, Kohei Sato, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Development of cyclic oligo(ethylene glycol) for suppression of amyloid protein fibrillation
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 佐藤 浩平
2. 発表標題 細胞膜で機能する超分子システムの開発
3. 学会等名 関西学院大学 (招待講演)
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 Kohei Sato, Kazushi Kinbara
2. 発表標題 Stimuli-responsive synthetic ion channels formed by fluorinated multiblock amphiphiles
3. 学会等名 PPC17 (国際学会)
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 足立 惇弥, 小田 春佳, 福嶋 俊明, 菅井 祥加, 佐藤 浩平, 木村 宏, 金原 数
2. 発表標題 水溶性蛍光プローブの生細胞内における粘度応答性とメラノソームの可視化
3. 学会等名 日本化学会第103春季年会
4. 発表年 2022年～2023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
---------	---------