

研究課題別評価

1 研究課題名: インテリジェント光駆動分子機械の構築

2 研究者氏名: 金原 数

研究員: 田中 健一 (研究期間 H.16.4~H.18.4)

研究員: 岩永 哲夫 (研究期間 H.18.4~H.19.3)

3 研究のねらい:

生体系では、実在する精密機械に匹敵する高度な動きを起こすことによって機能を発現する「分子機械」が続々と発見されている。これらは、有機分子のもつ究極の可能性を示す一つの指針となるものである。一方、これと並行して、これまでに合成分子を用いて機械的な動きを作り出す試みもなされてきた。これまでに、回転運動、並進運動など、比較的単純な動きを起こす分子が開発されてきたが、これらは機械と呼ぶよりどちらかといえば部品に近いものであり、動きの複雑さという点で、合成分子機械と生体分子機械との間には大きなギャップがあった。本研究の第一の目的は、生体分子機械の動作原理にヒントを得て、実在する機械と同様な複雑な動きを行なうことのできる合成分子機械を構築することにある。エネルギー源としては、最も制御が容易である光に着目し、「複数の可動部を連動させて動かす」という設計指針に基づき、可動部品の組み合わせにより新しい動きを表現する、光駆動分子機械を創製することを目標とした。また、生体分子機械は高度な機能性を有しているが、その多くはアデノシン三リン酸(ATP)等の化学物質をエネルギー源として駆動するため、機能性材料等への応用を考えた場合に大きな制約となる。そこで生体分子機械の動きを、光を動力源として制御することを第二の目標とし検討を行なった。最終的な目標として、人工分子機械と生体分子機械を融合したハイブリッド分子機械の創製を目指した。

4 研究成果:

(1) 光駆動合成分子機械の構築

フェロセンは、2価の鉄原子の上下を五角形のシクロペンタジエン(Cp)環で挟み込んだベアリング状の分子で、室温では鉄原子の上下で Cp 環がほぼ自由回転していることが知られている。これまでに、このような Cp 環の軸回転運動を光駆動部位の運動と連動させることにより、「はさみ」のような動きを行う「光駆動分子はさみ」の構築に成功している。本研究では、この光駆動分子はさみの分子構造をもとに、刃の先端に亜鉛ポルフィリンを導入した「光駆動分子ペンチ」

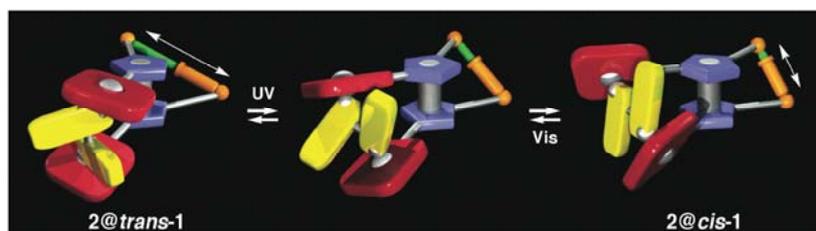
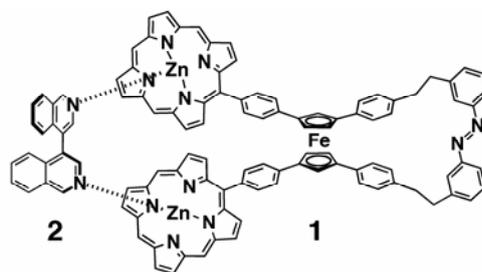


図1 光駆動分子ペンチ(1)とゲスト分子(2)との複合体(上)およびその動きの概念図(下)

(1)を設計した(図1)。この分子は、紫外光(350 nm)、可視光(> 420 nm)の照射によりアゾベンゼン部位が可逆的に異性化反応を起こし、それに伴い2枚の亜鉛ポルフィリン間の距離が変化する。亜鉛ポルフィリンは、中心に存在する亜鉛(II)原子により、塩基性窒素原子を有するゲスト分子と配位結合により強く相互作用することが知られているが、実際に、この「分子ペンチ」がビスキノリン(2)という軸状の分子と強く相互作用し錯体を形成することを見いだした。ここで円二色性(CD)スペクトルにおいて、2に起因すると考えられるシグナルが観測されたことから、2が錯体中でねじれたコンホメーションに固定されていることが示唆された。得られた錯体に光照射を行なったところ、「光駆動分子ペンチ」のアゾベンゼン部位の光異性化が可逆的に起こり、それに伴い2に起因するCDシグナルが可逆的に変化した。すなわち、ゲストとして結合したビスキノリンのコンホメーションが変化したことが分かった。これは分子機械により他分子を物理的に操作した最初の例であり、分子機械の設計戦略として分子間相互作用を利用した超分子化学的な手法が有効であることが明らかになった。実在する生体分子機械の多くも、複数のサブユニットが連動して動く機構を含んでおり、分子間での動きの伝達が可能になったという点で、生体分子機械の動作機構に大きく近づいたと言える。

一方、これとは別に、フェロセンの回転運動を可逆的に制御することができる「光駆動分子オートロックシステム」の合成に成功した。この系では、フェロセンの上下の Cp 環のそれぞれに、亜鉛ポルフィリン部位とアニリン部位を一つずつ導入したホスト分子(3)を設計した。溶液中では、上下の Cp 環上の亜鉛ポルフィリン部位とアニリン部位どうしが配位結合を形成し、コンホメーションが「ロック」した状態にある(図2)。ここに、ゲスト分子としてピリジン部位を2つ有する鍵分子(4)を加えると、アニリン部位よりもピリジン部位のほうが亜鉛ポルフィリン部位に対する配位力が強いので、ホスト分子(3)と鍵分子(4)が配位結合により錯形成する。この結果、ロックがはずれてアニリン部位が露出した状態になる。ここで、この錯体に光照射を行うと、鍵分子(4)が異性化反応を起こし、2つのピリジン部位が同時にホスト分子(3)に配位することが困難な構造に変化する。この結果、鍵分子(4)はホスト分子(3)からはずれ、これに伴い、ホスト分子内での亜鉛ポルフィリン部位とアニリン部位の配位結合が再形成される。すなわち、ホスト分子(3)は再びロックした状態になる。ここで、この状態にさらに紫外光を照射すると、鍵分子(4)が先ほどとは逆の異性化反応を起こし、再びホスト分子と錯形成し「ロック」を解除することができる。このような一連の変化は、鍵を差し込むと「ロック」が解除されるが、鍵を抜くと自動的にロックがかかる「オートロック」のようものである。鍵の出し入れを光照射によりコントロールしていることになる。このようなオートロック機構は、生体中での酵素活性の制御等に用いられている重要な活性制御機構であり、人工分子機械を利用して実現した初めての例になる。

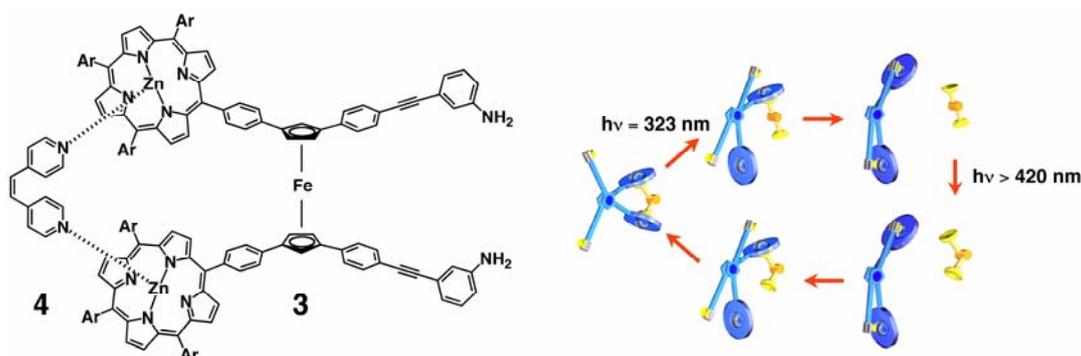


図2 光駆動分子オートロックシステムの分子構造(左:ロックがはずれた状態)と概念図(右)

(2) シャペロニン GroEL の光制御

大腸菌由来のシャペロニン GroEL は、サブユニットの14量体からなる直径 14.5 nm、高さ 14.5 nm ほどの大きさの円筒形のタンパク質であり、内部に直径 4.5 nm ほどの円筒状の空孔を有する。細胞内では、ATP をエネルギー源として、空孔内部に変性タンパク質を取り込み、そのリフォールディングを助けることが知られている。その機構は詳細に検討されており、GroEL に ATP を添加すると、その空孔上部が開くような形で形状が変化し、取り込んだ変性タンパク質を放出

することが分かっている。このような機械的な動きを起こす部位に、さらに光応答性の部位を導入することで、本来 ATP で駆動するシャペロニンの機能を光で制御できるのではないかと考えた。具体的には、空孔部にシステインを導入した変異体を調製し、このシステインをアゾベンゼン部位を有するマレイミド誘導体で修飾することにより、GroEL の空孔付近に光応答性のアゾベンゼン部位を導入することに成功した。上下の空孔入り口にはそれぞれ7つのシステインが導入してあるが、そのうちおよそ5つをアゾベンゼン部位により修飾することに成功した。得られた修飾 GroEL に対し、ゲストとして酸変性緑色蛍光タンパク質 (GFP) を加えたところ、非修飾の変異体と同様に、GroEL 内に取り込まれることが分かった。アゾベンゼン部位は、紫外光/可視光照射により可逆的に異性化するため、その照射波長、ATP の有無に応じて合計4つの状態を作り出すことができる(図3)。それぞれの状態での変性 GFP の放出挙動を検討したところ、ATP の存在下、紫外光照射によりアゾベンゼン部位をシス体にした場合にのみ、速やかに変性 GFP の放出が起こることが分かった。変性 GFP の放出を出力、ATP と紫外光を入力信号と考えると、ATP と紫外光に対するAND論理回路型の応答と見なすことができる。また、この際、放出速度は紫外光、可視光照射により可逆的にスイッチできることがわかった。

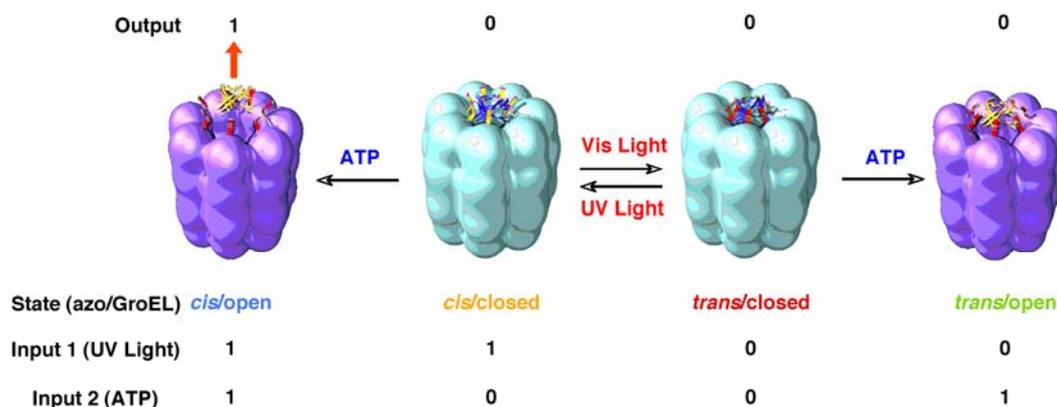


図3 アゾベンゼン修飾シャペロニンによる AND 論理回路的応答の模式図

5 自己評価:

当初の研究目標は、光駆動合成分子機械の新たな設計指針の確立、生体分子機械の光制御、両者を融合したハイブリッド分子機械の創製、という3段階であった。光駆動合成分子機械に関しては、「分子ペンチ」の開発により、これまで単独分子として機能してきた分子機械を、分子間相互作用を介した複合体へと展開できた点で、分子機械の設計指針に飛躍的な進歩をもたらしたと考えている。一方、生体分子機械の光制御に関しては、シャペロニンからのゲスト分子の放出を光により制御することに成功したが、この結果は、生体分子機械の機能を物理的なエネルギー源で制御したという点で、新規性の高い成果であると考えている。これらの2つの目標に関しては、「さきがけ」研究における当初目標はおおむね達成でき、これらの成果をもとに、新たな設計指針に基づく分子機械の構築が可能になったと考えている。ただ、心残りな点としては、人工分子機械においてはフェロセンとアゾベンゼンという枠組みを超えた全く新しい駆動原理の分子の開発には至っておらず、また生体分子機械においては、インパクトの大きな ATPase 活性そのものの制御については、成功には至らなかった。これらについて独自性の強い分子設計を目指していたが、途中で合成化学的な難しさに直面し、研究計画に未熟な点があったと反省している。

一方、第三の目標である人工分子機械と生体分子機械の融合については、タンパク質を化学修飾するための官能基がかさ高くなるにつれて、タンパク質の変性・凝集が起こってしまうという問題点が露呈し、根本的な問題解決には至らなかった。ただし、いくつか検討を行った結果、これを解決するためには、修飾分子にポリエチレングリコール鎖等の親水性置換基を導入する

ことが効果的であるという予備的な知見は得ることができ、問題解決の糸口をつかむことはできた。

最後に、公表できるレベルには達しなかったものの、将来展開に向けた萌芽的な研究成果も数多く得ることができた。また、研究全般にわたり、ポスドク研究員、学生諸氏には極めて主体的に研究に取り組んでいただき大きな成果を得ることができた。特に、有機分子、生体分子という全く性質の異なる物質を扱う2つのグループ間で、お互いにディスカッションを交え、刺激を与えながら研究を展開できたことが、目には見えないが大きな成果であると考えている。

6 研究総括の見解:

金原氏は、光駆動分子とそれに連動する分子を組み合わせて、光照射に伴って高度な動作を示す分子機械の構築を目指した。

フェロセンを回転軸とする光駆動分子のハサミの先端に金属ポルフィリンを導入した分子ペンチを作成した。更に、光駆動分子オートロックを実現した。アゾベンゼンで修飾したシャペロン GroELは、可視光・紫外光照射でシス・トランス間の変換が施され、更にATP添加でシス構造では取り込んだ変性タンパク質を放出することを見つけている。

分子の機械的動作を光で制御できることを発見したことは、大きな発見であるが、更にこの特性が応用できる分野が開拓されることを望みたい。

7 主な論文等:

発表論文

- 1) T. Muraoka, K. Kinbara, K., and T. Aida
A Self-locking Molecule Operative with a Photoresponsive Key
J. Am. Chem. Soc., **128**, 11600–11605 (2006).
- 2) T. Muraoka, K. Kinbara, and T. Aida
Mechanical Twisting of a Guest by a Photoresponsive Host
Nature, **440**, 512–515 (2006).
- 3) S. Muramatsu, K. Kinbara, H. Taguchi, N. Ishii, and T. Aida
Semibiological Molecular Machine with an Impremented "AND" Logic Gate for Regulation of Protein Folding
J. Am. Chem. Soc., **128**, 3764–3769 (2006).

他 *in press* 1件、投稿中 2件

特許

なし

総説

- 1) 金原 数
分子を「つまん」で「ねじる」光駆動分子ペンチ
バイオニクス, 7月号, 66 (2006).
- 2) K. Kinbara and T. Aida
Toward Intelligent Molecular Machines: Directed Motions of Biological and Artificial Molecules and Assemblies
Chem. Rev., **105**, 1377–1400 (2005).
- 3) 金原 数
シャペロニンを利用した動的機能材料
高分子, **54**, 82 (2005).

他4件

受賞

- 1) 2005年 American Chemical Society: Arthur K. Doolittle Award

招待講演

- 1) 金原 数

「次世代分子機械へのアプローチ」

第18回生体機能関連化学若手の会サマースクール (2006.8.24)

- 2) K. Kinbara and T. Aida

「Biological and bioinspired nanomachines with molecular chaperons」

EUROPOLYMER CONFERENCE (EUPOG2005) (2005.6.2)

- 3) 金原 数

「分子シャペロンを利用した材料化学」

第7回生命化学研究会シンポジウム (2005.1.21)

他6件

一般講演(招待講演以外)

国際会議9件、国内学会25件