研究課題別評価

1 研究課題名:

自己組織化ナノ有機分子による機能性集合体の構築

2 研究者氏名:

磯部 寛之

3 研究のねらい:

疎水性と親水性、この相反する性質を併せ持つことで、両親媒性分子は自己組織化能を獲得し、分子集合体を形成する。両親媒性分子の自己組織化は、ナノ物質のボトムアップ構築法として用いられ、生命科学や材料科学での機能性物質へと発展している。なかでも新しい構造をもつ両親媒性分子は、幅広い分野に波及効果をもつ魅力的な分子である。本研究では、フラーレンやカーボンナノチューブをはじめとする炭素クラスターの高い凝集力、疎水性、そして剛直な骨格という特異性に着目し、これを部分構造とした両親媒性分子を創りだすことで、自己組織化を鍵としたナノ物質の構築、さらにその物性研究を行った。

4 研究成果:

2-1. 両親媒性フラーレンの簡便かつ高効率な合成法の開発

炭素クラスターを両親媒性構造をもつ分子に変換するためには、水に溶けない炭素クラスターに、水に溶けやすい置換基を導入することが必須である。しかし、ことなる親媒性をもつ物質を結合することは困難であり、これまでに効率的に(望ましくは定量的に)両親媒性炭素クラスターを合成手法は非常に限られていた。さらに目的とする両親媒性分子は会合しやすく、短工程で合成を可能とする手法が必要となる。本研究では、4つの第2級アミンを単工程で高選択的にフラーレンに導入する手法を開発した。この手法によりさまざまな構造をもつアミノ化フラーレンの効率的な大量合成が可能となった。この研究では、極性溶媒を添加することで、フラーレンへの電子移動反応が促されることを見いだしたことが鍵であった。さらにこの極性溶媒の添加により親水性の高い構造を単段階で導入することが可能となった。これまでフラーレンの化学修飾法では、簡便な反応操作によるほぼ定量的なフラーレン誘導体合成を可能とするものはほとんどなかった。

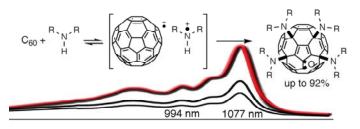
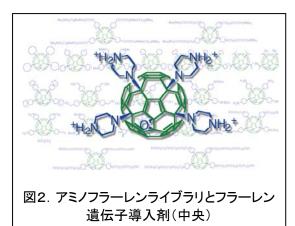


図1. フラーレン高効率・単工程アミノ化反応と電子移動錯体の存在を示す遠赤外吸収スペクトル. 簡便な実験操作で大量合成可能とする手法の開発と、反応進行の鍵となる物理化学的現象を明らかにした.

2-2. 両親媒性フラーレンのライブラリ構築 と遺伝子導入剤としての発展

本研究では、前項目に示したアミノ化フラーレンの合成法を利用し、さまざまな構造をもつ誘導体のライブラリの構築を行い、その遺伝子導入剤の開発を行った。20数種の誘導体のうち、10種が DNA に強く結合し、そのうち3種が遺伝子導入機能をもつことを見いだした。なかでもピペラジンをもつアミノ化フラーレンが



優れた遺伝子導入能を示し、既存の市販試薬に匹敵する導入効率を示した。また、構造・活性相関研究から細胞内でDNAを放出するための構造が必須であることが明らかになった。この遺伝子導入活性なアミノ化フラーレンは安価なフラーレンから2段階80%の収率で合成できることは特筆に値する。本研究では、高い遺伝子導入を実現するためには、分子構造のみならず、その集合体のもつフラクタル構造を制御することが必要であることを明らかにしている。さらに、フラーレンによる遺伝子導入は、既存の市販試薬に比べ遺伝子の保護能力が高く、安定性遺伝子発現に有効であることを見いだしている。「簡単につくれる遺伝子導入剤の開発」により、さまざまな応用技術への展開が可能となった。

2-3. 両親媒性カーボンナノチューブ会合体の合成とリスク評価

炭素クラスターをはじめとするナノ物質は、次世代材料として期待される一方、その環境や生体への影響が懸念されている。しかしこれまで、カーボンナノチューブの毒性については、培養した細胞に対し、非常に高い毒性をもつとする結果から、ほとんどないとする結果まであり、はっきりとした結論はでていなかった。この混乱の一因は、毒性評価に用いられるカーボンナノチューブが、炭素のほかに金属粒子を含んでいたり、サイズがさまざまだったりと、複雑な混合物であるためだった。水に溶けるカーボンナノチューブ会合体(アミノ化カーボンナノホーン)をつくり出し、金属を含まないカーボンナノチューブ会合体には強い細胞毒性はないことを明らかにし

tc.

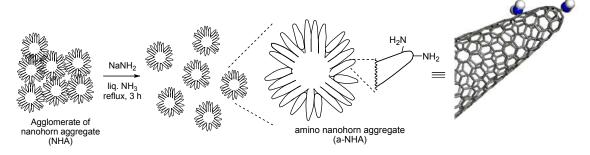


図3. カーボンナノホーンの高効率・単工程アミノ化反応. カーボンナノホーンの表面に水に溶けやすいアミノ基(NH2の部分)を導入すると、水に単粒子として溶けるアミノカーボンナノホーンに変換される.

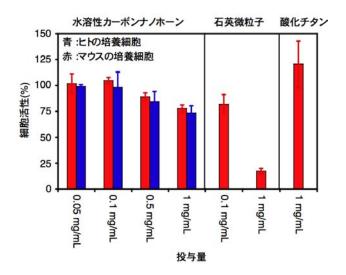


図4. 水溶性カーボンナノホーンの動物細胞への影響. 1ミリリットル中に 0.1 ミリグラムを投与しても細胞の活性には変化はない. 1ミリリットル中に1ミリグラム投与すると, わずかな毒性がみられる. 石英微粒子では10分の1量で同じ程度の毒性が見られている.

5 自己評価:

研究当初に予定していた目標は主に次の3点であった。(1)両親媒性フラーレンの精密合成による分子集合体の構築。(2)両親媒性フラーレン集合体による新現象探索。(3)両親媒性フラーレンの遺伝子導入機能。これらの研究項目のうち。(1)と(3)については、予定以上に順調に研究が進展し、両親媒性フラーレンの簡便・高効率な合成法の確立、さらに高効率安定性遺伝子発現の実現、第2世代遺伝子導入フラーレンの開発へと繋がった。遺伝子導入フラーレンは、東京大学附属病院の研究者が動物への適用を検討しており、また海外企業からの試料提

供依頼を受けるなど、内外でも注目されている。本研究では、機能性の開発のみならず、それらの機能に含まれる物理化学的・生物有機化学的現象の原理・機構にも踏み込む研究成果を得た。カーボンナノチューブを疎水基と見立てた研究の遂行により、予想外の展開が生まれた。本研究は、フラーレンに特化した研究立案であり、カーボンナノチューブを研究対象とし、その化学修飾法の開発さらには生体内での評価まで実現したことは予定外であった。しかし、化学者の力を必要とするナノカーボンの可溶化・同定を実現し、さらには毒性についての議論に、結論を導けたことは、研究目標の項目(2)を達成したものと考えている。

全般として、当初の研究目標は実現し、さらに今後の展開が可能な貴重な研究成果が得られたものと考えている。

6 研究総括の見解:

近年発展が著しいフラーレンおよびカーボンナノチューブと関連物質は高い凝集力、疎水性、 剛直な骨格という特徴を有する。これに親水性の置換基を導入することで両親媒性とし、また 機能性分子をつけることにより、生命科学で有用な機能性物質を実現する可能性がある。その 実現をめざして両親媒性物質の合成を試み、さらにこれを用いた遺伝子導入剤を作製するとと もにその毒性評価に着手した。

主たる成果として、次の3点を挙げることができる。1)両親媒性フラーレンの高効率合成(分子状酸素および有機過酸化物を利用したアミノ化フラーレンの合成);2)両親

媒性フラーレンを用いた遺伝子導入の試み(アミノフラーレンによる安定性遺伝子導入、市販試薬の20倍の効率達成);3)両親媒性カーボンナノチューブ会合体の合成と毒性評価(水溶性カーボンナノホーンの動物細胞への投与による影響の観察)。

本研究によって剛直な疎水基に両親媒性を付与することに成功し、機能性のある分子集合体を実現する新しい途を拓いた。生命科学へ適用の試みとして両親媒性カーボンナノチューブの毒性評価に着手し、有望な結果を得た。

研究成果は 17 篇の原著論文、7篇の解説論文、2 件の特許申請、学会招待講演 9 件にまとめられている。平成 16 年度日本化学会進歩賞および平成 17 年度フラーレンナノチューブ学会大澤賞を受賞している。全体として期待を上回る極めて優れた成果を挙げたと判断する。

7 主な論文等:

原著論文:17件

解説•著書:7件

特許申請:2件

受賞:2件

招待・依頼講演(学会):9件

招待・依頼講演(大学):5件

主要原著論文

- 1. Selective deposition of a gadolinium(III) cluster in a hole opening of single-wall carbon nanohorn, Hashimoto, A.; Yorimitsu, H.; Ajima, K.; Suenaga, K.; Isobe, H.; Miyawaki, J.; Yudasaka, M.; Ijjima, S.; Nakamura, E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101* (23), 8527–8530.
- 2. Regioselective oxygenative tetraamination of [60] fullerene. Fullerene-mediated reduction of molecular oxygen by amine via ground state single electron transfer in dimethyl sulfoxide, Isobe, H.; Tanaka, T.; Nakanishi, W.; Lemiègre, L.; Nakamura, E. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (12), 4826–4832.
- 3. Nonviral gene delivery by tetraamino fullerene, Isobe, H.; Nakanishi, W.; Tomita, N.; Jinno, S.; Okayama, H.; Nakamura, E. *Mol. Pharm.* **2006**, *3*(2), 124–134.
- 4. Gene delivery by aminofullerene: Structural requirements for efficient transfection, Isobe, H.; Nakanishi, W.; Tomita, N.; Jinno, S.; Okayama, H.; Nakamura, E. *Chem. Asian J.* **2006**, *1* (1), 167–175.
- 5. Cytotoxicity of water-soluble, transition-metal free carbon nanotube aggregates, Isobe, H.; Tanaka, T.; Maeda, R.; Noiri, E.; Solin, N.; Yudasaka, M.; Iijima, S.; Nakamura, E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45* (40), 6676-6680.

受賞

2004年 第53回 日本化学会進歩賞 2005年 第1回 フラーレン・ナノチューブ学会 大澤賞