

研究報告書

「有機ナノクリスタルの発光プロセス変換による新規バイオイメージングシステムの開発」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成22年10月～平成26年3月

研究者: 藤内 謙光

1. 研究のねらい

ゲノム解析が完了し、その後タンパク 3000 プロジェクトなどによって多くの蛋白質の構造が明らかとなりつつあり、現在は蛋白質のリン酸化や糖鎖による修飾などプロテオーム解析が強力に進められている。しかし、生体内の情報伝達では蛋白質だけではなく、プロスタグランジンやロイコトリエンなどの脂質メディエーターやステロイド系のホルモン物質など多くの生体有機低分子が関与している。これらの物質は直接遺伝情報で決まるものではないために、ポストゲノム時代の主要な標的分子と考えられ注目が集まっている。しかし、これまではこのような物質の合成酵素を GFP や免疫的手法によって間接的に可視化する手法が用いられており、生細胞内で直接イメージングする有効なシステムはなかった。もしそのような物質が「いつ」「どこで」「どれだけ」合成され、「どこ」に運ばれていくのかを明らかにすることができれば、様々な疾患の診断や治療、創薬に非常に期待が持てる。本研究ではそのような生体有機低分子をセンシング・イメージングすることができるシステムの構築を究極の狙いとする。

物質科学において、分子運動が極めて制限されている有機の固体・結晶では分子の集合を制御し、調整することによって物理物性が大きく変調することがよく知られている。機構の理解が比較的容易である電気物性については、分子集合は偶然性に頼るところは大きいですが、電荷移動錯体などこのような考えから分子構造の設計が行われてきた。最近、これまで一般に凝集状態では消光してしまうと考えられてきた光物性においてもこのような考えに基づいて研究が進められ、凝集状態に応じて様々な発光強度や発光色調を持つ有機結晶が報告されている。本研究では、ある有機分子群を選択的に取り込む発光性多孔性物質を開発し、取り込んだ物質特異的に凝集変換することによって、発光プロセスを変調させることを目的とする。最終的には脂質メディエーターやホルモン、情報伝達物質のような生体低分子群を取り込み、選択的かつ特異的に発光変調する物質を創成する。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究は化学刺激応答的に凝集変換し、発光色を変化させる物質をセンシング、イメージングに応用することを目的としている。この課題にしたがって、機能性多孔質結晶を設計し、評価を行った。以前より我々は、様々なスルホン酸とトリフェニルメチルアミン (TPMA) とを等量組み合わせることによって、溶液中および結晶中でそれぞれ4分子ずつが集合した大きな超分子クラスターが形成されることを報告していた。本研究課題では、この超分子クラスターを階層的に集積させることによって有機物質のみからなる多孔性結晶の系統的な構築手法を確立することができた。この多孔質構造を構成するスルホン酸の置換基に、大きな π 共役

を持つ多環式芳香族を用いることによって、光電特性を付与することができる。また、母骨格に対するスルホン酸基の導入数を変えることによって、安定性や刺激応答性を制御することができた。さらに母骨格の分子構造を、大きな立体障害が生じるように設計することで、径が2ナノメートルの巨大な空孔を有する有機多孔性物質を構築することができた。この多孔性物質は様々な有機物質を取り込み、取り込んだ物質に応じて青から赤まで大きく発光色を変化させた。さらに、この物質は特定のステロイドホルモンを選択的に取り込み、特異的に発光変調した。以上のことより、有機塩を用いた多孔性物質は新しい作用機序にもとづくバイオセンシング・イメージング材料へと展開させることが可能である。

(2) 詳細

研究課題 1「光電特性を有した多孔性物質構築の確立」

多環式芳香族モノスルホン酸とトリフェニルメチルアミン (TPMA) とを組み合わせ作成される有機塩を、種々の芳香族系炭化水素を鋳型としてエタノールから再結晶すると、スルホン酸分子および鋳型分子に応じて多種多様な多孔質構造が得られた。いずれの多孔質有機塩の構造においても、スルホン酸とアミンのキューブ状電荷補助型水素結合ネットワークを核とした四面体形状の超分子クラスターが、芳香族部位の π - π 相互作用によって連結されることでダイヤモンド状のネットワークを形成している(図 1 下)。このダイヤモンドネットワークがスルホン酸の置換基に応じて適度に相互貫入することで構造が安定化し、多孔質構造を階層的に形成している。構造内の空間はそれぞれナノサイズに近い細孔径を有しており、空間形状は鋳型分子に依存していた。この多孔質構造は外部からの物理刺激、化学刺激によって凝集構造を変換し、発光および内包物の脱離挙動を変調させる。スルホン酸トリフェニルメチルアミン塩からなる超分子クラスターを基本単位とした階層的な設計は普遍性が高く、目的の構造、機能を有した多孔質構造を系統的に設計、構築する手法として非常に有用であることを実証した。

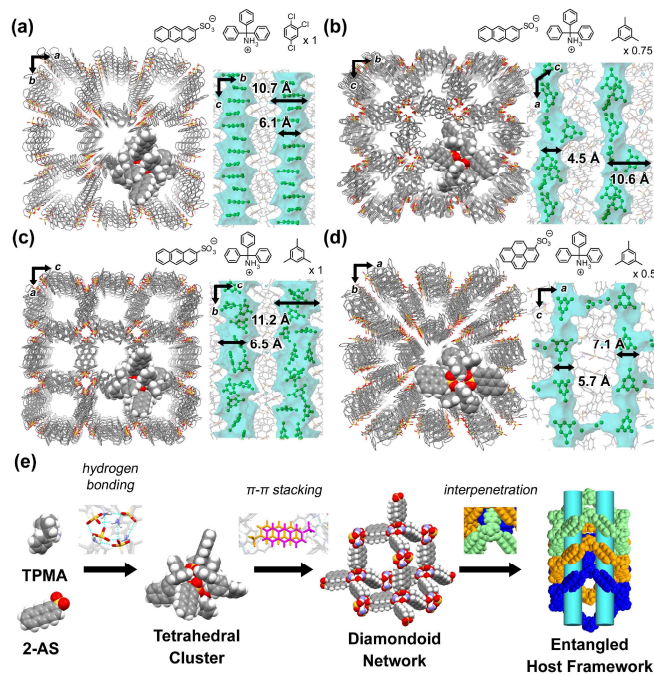


図 1 多孔性有機塩の階層的構築

研究課題 2「安定な多孔性物質の構築」

安定な細孔構造を有する多孔質構造は、構造の剛直性に起因して極めて可逆性の高い吸着挙動やサイズ・形状選択特性を示すことから、僅かな生体分子の違いを高精度に認識できる。機能性有機分子からなる剛直な多孔質構造は、この認識性に光電子特性などの機能を融合させることが可能であるため、本研究の目的であるセンシング・イメージング材料などさらに幅広い応用が期待できる。剛直な多孔質構造を構築するため、ジスルホン酸と TPMA を

組み合わせ設計を行った。モノスルホン酸と TPMA と同様に超分子クラスターを形成したが、ジスルホン酸を用いることで、分子骨格をリンカーとしたネットワーク形成が可能な超分子クラスターを形成することができ、剛直な多孔質構造を構築することができた。この多孔質構造は取り込んだ有機物の僅かな構造的違いを認識し、大きく発光色や発光強度を変化させることができた(図 2b)。また、剛直な構造により、二酸化炭素を高選択的に吸着させることができた(図 2a)。以上のように機能性

(a) ジスルホン酸と TPMA を用いて超分子クラスターを基本単位とした階層的な構造設計を行うことで、高い選択性と蛍光特性を兼ね備えた多機能性多孔質構造を設計通りに構築することができることを示した。

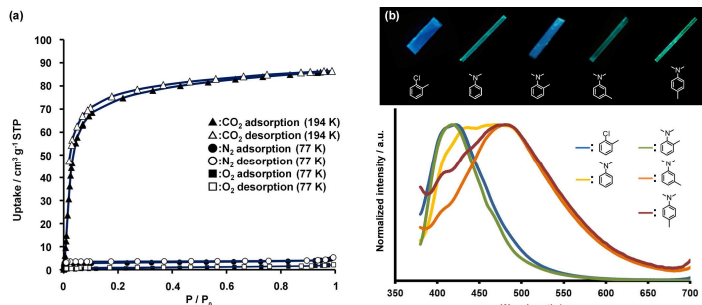


図2 ガス吸蔵挙動とゲスト依存的発光挙動

研究課題3「嵩高いびつな超分子クラスターによる高性能多孔質構造」

1, 8-アントラセンジスルホン酸(1,8-ADS)と TPMA から得られる有機塩においても電荷補助型の水素結合により超分子クラスターが形成される。しかし、1,8-ADS ではスルホン酸間の距離が短く、極めて歪な構造を与える。一般的なスルホン酸誘導体では対称性の高い立方体型の水素結合ネットワークを形成するのに対し、1,8-ADS では椅子型の水素結合ネットワークを形成する。この特殊な超分子クラスター同士がアントラセン間の π/π 相互作用により連結され、ビーズ状集合体を強固に構築した。さらに、ビーズ構造が束ねられることによって、極性部位と非極性部位の両性を有した多孔質空間が形成された。これにより極性分子から非極性分子まで多種多様な有機分子を取り込むことができた(図 3)。また取り込んだ分子に応じてアントラセン間の π/π 相互作用が変化し、青色から赤橙色まで幅広く発光色調を変化させた。「いびつ」な構造はそのパッキング性が悪く、必ず空隙を発生させる。これにより 1,8-ADS は非常に高い物質取り込み能を発現させることがわかった。

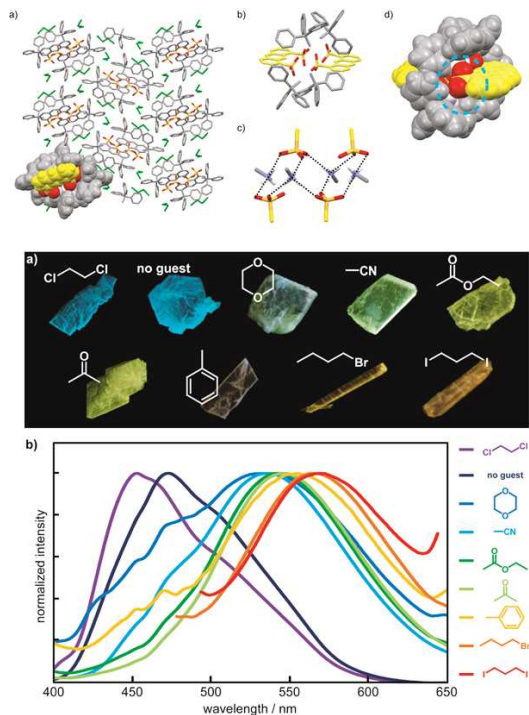


図3 1, 8-ADSとTPMAからなる階層的な多孔質構造の形成とその発光挙動

研究課題4「巨大多孔性構造の構築」

アントラセンジビニルスルホン酸(ADV5)と TPMA を混合すると、立方体型の超分子クラスターが形成され、それが連結、相互貫入することで巨大空孔をもつ発光性多孔質物質を構築することができた(図 4)。得られた多孔質物質の空隙率は37%、空孔の形状は一辺が約 20 Å の三

角形をしており、空孔を維持できる有機多孔性物質ではこれまでに例を見ない巨大なものである。これはジスルホン酸の母骨格に立体障害が大きくなる方向にアントラセンが導入されており、過度の相互貫入を阻害することによって巨大な空孔を形成したと考えられる。またその大きな空孔から枝分かれして、直径が約 7 Å のサブポケットも有している。この巨大な空孔には様々な化学物質を取り込むことができ、取り込んだものに応じて発光色を変化させる。取り込んだ化学物質はメインの空孔および枝分かれしたサブポケットに收容される。このサブポケットの壁は発光物質であるアントラセンで形成されており、どのような配向で物質が取り込まれるかによって、発光部位の立体配座および発光部位と化学物質の相互作用が変化する。その結果、化学物質の電子構造に加え、形や大きさ、置換位置を認識して青から赤まで発光挙動が劇的に変化した。このような認識機構は酵素の活性中心における基質認識を模倣しており、極めて鋭敏なものである。この手法を用いれば、わずかな違いしかない生体分子に対しても識別可能である。

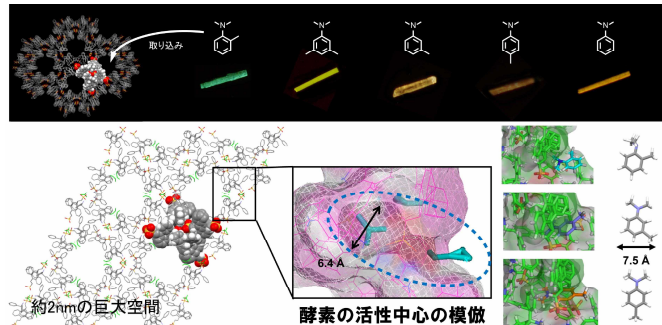


図4 ADVSによる巨大多孔質構造と分子認識空間

研究課題5「ステロイドホルモンの選択的吸着と特異的発光変換」

ADVS/TPMA で得られた巨大多孔性物質に生体分子であるアセチルコレステロールを取り込ませると、その発光挙動は青緑から青色に変化することがわかった(図 5)。しかし粉末X線回折よりアセチルコレステロールを取り込んでも、大きく多孔質構造は変化しておらず、色調変化はサブポケット内の相互作用変化によるものであると推察される。これはアントラセン部位とジビニル部位の二面角が大きくなり、有効 π 共役長が小さくなったためであると考えられる。さらに、この多孔性物質に様々なステロイドホルモン(性ホルモン、コルチコイド)を吸着させたところ、選択的に性ホルモンを取り込んだ。さらに、取り込んだ性ホルモンに応じて、その発光色を変化させた。すなわち、狙っていた「選択的に取り込み、特異的に機能する」をこの多孔質物質を用いることで達成することができた。以上のように今回開発された ADVS/TPMA 多孔性物質はコレステロール群をターゲットとしたセンシング・イメージング物質として極めて有望であると結論付けられる。

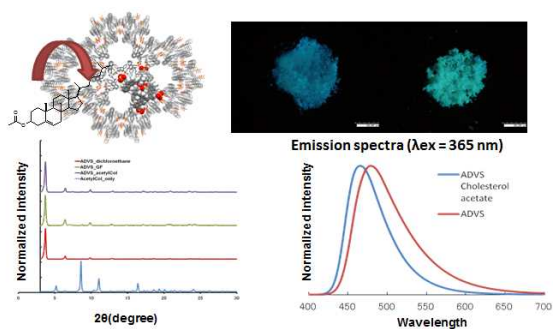


図5 ADVSによるステロイド物質取り込み挙動と発光変化

3. 今後の展開

多環式芳香族スルホン酸とトリフェニルメチルアミン(TPMA)を混合するだけで、様々な形状や大きさの空孔を持つ機能性多孔質材料を構築することができた。用いるスルホン酸の置換基にはほとんど制限がないことから、発光性や導電性、磁性など様々な機能性部位を導入することができる。また、スルホン酸の導入数を変えることで、柔軟性や構造の刺激応答性を制御することができた。多孔質構造が持つ分子認識能に、機能性と刺激応答性を加えることで、新しい作用機序によるセンシング・イメージング材料の開発が可能となる。今回、目的としていた「生体分子を選択的に取り込み、特異的に応答すること」を達成できたことで、バイオイメージングのみならず、センシングデバイスの応用にも期待ができる。さらに基礎的なバイオツールとしてだけでなく、診断や治療などの臨床利用にも可能性を広げることができる。

4. 評価

(1) 自己評価

本研究では、発光性多孔質有機結晶に化学物質を取り込ませることによって凝集変換を引き起こさせ、それに応じて発光プロセスを変換することによって取り込んだ化学物質を標識化し、センシング・イメージングにシステムへ展開することを狙いとした。これまで無機多孔質材料、有機・無機複合多孔性物質は数多く報告され応用展開されているが、有機多孔性物質を系統的かつ安定的に構築する指針はなく、本研究で確立した有機塩を用いた「多孔質有機塩」は画期的なアイデアであるといえる。この手法は簡便に空孔の大きさや形、構造の硬軟、光電特性などの機能を付与することができることから、センシング、イメージング、吸蔵、分子ふるいなど多様な応用に期待が持てる。さらに、本研究課題の究極の目的とした、生体関連有機物質の認識とセンシングに成功した。種々のステロイドホルモンの間のわずかな分子構造および電子構造を読み取り、ある一群のステロイドホルモンをのみを吸着し、それに応じた発光色を示した。すなわち、高効率かつ正確なセンシングのために設定した「選択的に取り込み、特異的に発光する」という目標を達成できた。今後は分子認識と発光変換の作用機序を詳細に明らかにし、様々な物質へのセンシング、イメージングへと展開したいと考えている。また、化学物質への高い吸蔵能力や選択性を示す系も見つかっていることから、有機物質であることを活かした、新しい貯蔵・分離・精製システムの構築を行っていきたい。

(2) 研究総括評価

脂質メディエーターやホルモン、情報伝達物質のような生体低分子群を取り込み、取り込んだ分子を凝集変換することによって、選択的かつ特異的に発光変調する物質を創成することをねらいとする。それによって生体有機低分子をセンシング・イメージングできるシステムの構築を目指している。

この課題にしたがって、様々な機能性多孔質結晶を巧みな合成技術を駆使して設計し、特性評価した。とりわけスルホン酸とトリフェニルメチルアミンを等量組み合わせることによって、一連の超分子クラスターを階層的に集積させ、有機物質のみからなる多孔性結晶の構築法を確立した。この多孔質構造の置換基を様々に変えることによって多彩な孔径や発光特性を有する有機多孔性物質群を構築した。これらの多孔性物質は様々な有機物質や特定のステロイドホルモンを選択的に取り込み、しかも特異的に発光変調した。これらの成果をふまえ、多

孔性結晶内凝集変換という新しい作用機序にもとづくバイオセンシング・イメージング材料へ展開する基礎的知見を蓄積した。

これまで無機の多孔質材料、有機-無機複合系の多孔性物質は数多く報告されているが、有機多孔性物質を本研究のように系統的かつ安定的に構築する例はなく、本研究で確立した有機塩を用いた「多孔質有機塩」は構造明確で合成や孔径制御が簡便であること、発光変調可能なことなど画期的な成果であるといえ、今後、センシング、イメージング、吸蔵、分子ふるいなど多様な機能物質としての応用に期待が持てる。研究者は、このほかにも、きわめて多様多彩な物質系について、合成的、構造的、解析的そして機能的な研究を系統的に展開しており、その成果そのものが見事な美しい構築形をなして、並々ならぬ“化学力”といった能力を発揮しており、研究者の今後の大きな飛躍が期待される。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

- | |
|--|
| 1. Yamamoto, A.; Hamada, T.; Hisaki, I.; Miyata, M.; Tohnai, N.*, Dynamically Deformable Cube-like Hydrogen-Bonding Networks in Water-Responsive Diamondoid Porous Organic Salts. <i>Angew. Chem., Int. Ed.</i> 2013 , <i>52</i> , 1709-1712. |
| 2. Yamamoto, A.; Uehara, S.; Hamada, T.; Miyata, M.; Hisaki, I.; Tohnai, N. *, Diamondoid Porous Organic Salts toward Applicable Strategy for Construction of Versatile Porous Structures. <i>Cryst. Growth Des.</i> 2012 , <i>12</i> , 4600-4606. |
| 3. Yamamoto, A.; Hirukawa, T.; Hisaki, I.; Miyata, M.; Tohnai, N. *, Multifunctionalized porosity in zeolitic diamondoid porous organic salt: selective adsorption and guest-responsive fluorescent properties. <i>Tetrahedron Lett.</i> 2013 , <i>54</i> , 1268-1273. |
| 4. Hinoue, T.; Miyata, M.; Hisaki, I.; Tohnai, N. *, Guest-responsive Fluorescence of Inclusion Crystals with π -Stacked Supramolecular Beads. <i>Angew. Chem., Int. Ed.</i> 2012 , <i>51</i> , 155-158. |
| 5. Hinoue, T.; Shigenoi, Y.; Sugino, M.; Mizobe, Y.; Hisaki, I.; Miyata, M.; Tohnai, N. *, Regulation of π -Stacked Anthracene Arrangement for Fluorescence Modulation of Organic Solid from Monomer to Excited Oligomer Emission. <i>Chem. Eur. J.</i> 2012 , <i>18</i> , 4634-4643. |

(2) 特許出願

なし

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. N. Tohnai, I. Hisaki, M. MIYATA, “Systematic Investigation of Luminescence Properties in Solid-State by using Organic Salts” 第 91 回日本化学会年会アジア国際シンポジウム (2011 年 3 月、神奈川) (招待講演)
2. N. Tohnai, “Fluorescence Tuning System by using Inclusion Crystals” 14th Asian Chemical Congress 2011, Sep. 2011, Bangkok Thailand (invited)
3. N. Tohnai, A. Yamamoto, I. Hisaki and M. Miyata, “Luminescence Modulations in Inclusion Crystals depending on Guest Molecules” Japan-Taiwan Bilateral Workshop on Nano-Science 2011, Nov. 2011, Tainan Taiwan (invited)

4. 藤内謙光「放射光 X 線回折を利用した発光性有機塩結晶の構造解析」 第 92 回日本化学会年会(2012 年 3 月、東京)(招待講演)
5. 藤内謙光「有機結晶のフォトルミネッセンスとその制御」第 93 回日本化学会年会(2013 年 3 月、滋賀)(招待講演)
6. 藤内謙光「有機塩を用いた超分子的アプローチによる結晶構造制御と機能化」第 17 回液晶化学シンポジウム (2013 年 6 月、筑波)(招待講演)