

社団法人 日本化学会
生体機能関連化学部会

NEWS LETTER

*Division of Biofunctional Chemistry
The Chemical Society of Japan*

Vol. 28, No.4 (2014. 4. 25)

目 次

◇ 巻 頭 言

医学部の中心で、化学を叫ぶ.....浦野 泰照 1

◇ 研 究 紹 介

マイクロ流体工学をベースとした

非平衡人工細胞の構築.....森田雅宗, 杉浦晴香, 瀧ノ上正浩 3

細胞電気活動の時空間計測に向けた蛋白質プローブ.....筒井 秀和 7

1本の連続的な流れの中で組み立てる超分子構造:

超分子プラントとしてのマイクロフロー空間の可能性

.....沼田 宗典 11

海洋光合成初期過程を担う高次カロテノイドのエネルギー

伝達機構解明に向けた有機合成からのアプローチ

.....勝村 成雄 15

◇ 部 会 行 事

◇ お 知 ら せ

医学部の中心で、化学を叫ぶ

東京大学大学院医学系研究科・薬学系研究科

浦野 泰照 (uranokun@m.u-tokyo.ac.jp)

私が卒業した薬学部という学部は、化学系、生物系、物理系の各研究室がそれぞれ1/3位存在する、ごった煮のような学部である。授業もさぞかし散逸的だと思われるだろうが、確かに内容的には、基礎的な化学、生物の授業だけでなく、より実際の医療に役立つ薬理学や薬剤学、薬物動態学、薬物開発事例などについても多くの時間を割いて学ぶ。しかし面白いことに、物理化学の先生でも、基礎生物学の先生でも、もちろん医療系領域の先生でも、どの先生の授業にも「人の健康に奉仕する」というフレーズが絶え間なく登場し、知らない間にこの精神が洗脳刷り込まれる。そして気がつくと、「いつかは人の健康に役に立つ研究をするんだ」という漠然とした目標を、常に心に持ちつつ研究生活を送るようになる。薬学教育恐るべし、である。

さて私の専門は化学であり、化学蛍光センサーの開発を中心に、顕微鏡下での生細胞観察を目的とする基礎生物学用のプローブ開発を、もうかれこれ10年ほど行ってきた。実用的なプローブが完成すると、第一線の生物系研究者と協同してイメージング実験を行うチャンスを得ることでき、顕微鏡下での細胞の応答に一喜一憂しながらモニターを見つめる幸運を得てきた。もちろんこれはこれで本当に楽しい瞬間なのだが、薬学教育で刷り込まれた「健康に奉仕する」を実感するにはまだ距離がある。細胞一つ一つではなく、生きている動物でのイメージングを実現して、より医療に近い研究は出来ないだろうか…？

こういった欲が出てきたとき、幸運にも NIH の小林久隆先生と知り合うことが出来、実験動物体内のがんを可視化検出するプローブの開発研究をスタートさせることとなった。小林先生はご自身でもプローブの化学開発をされている希少な研究者で、我々の化学を理解された上での適確なアドバイスを沢山いただいた。そのおかげで共同研究は非常にうまく進み、*in vivo* イメージング論文をいくつか出すことが出来た。成果が出ると、医学部の実臨床に携わる医師と話す機会が増え、現在の臨床技術の問題点を知ることが出来るようになった。そうすると、薬学教育の「健康に奉仕する」という文言が私の中でさらに強く主張をするようになってきた。もっと医療に直接的に貢献できる化学プローブを作り、臨床医の先生方と実践的な研究を進めることは出来ないだろうか…？

そのような中またまた幸運にも、医学部に化学系研究室を作り、主宰するチャンスを得た。化学研究を遂行するための機器類を備えた医学部は日本には皆無であり、東大医学部ももちろん例外ではなかったが、少なくとも化学者に一つ研究室を任せても良いという大胆な決定をしていただけたのは確かなので、よし思いっきり医学部の中で化学を叫んでやる！と覚悟を決めた。が、その叫びを伝えることはそんなに簡単なことではなかった。

ベンゼン環を亀の子と呼ぶ臨床医の方もまだ多いことは確かで、こういった医学部とい

う環境では、新しい医療を築く化学研究の重要性や面白さをわかってもらえなかったのでは？と思った方も多いと思うが、答えはそうではない。少なくとも東大医学部では、化学だからと言って興味の対象から外すようなことはなく、むしろ医局のカンファに呼ばれて講演する機会を沢山いただくことができた。では何が問題だったのかと言えば、私（=きっと多くの PhD）が考える「こういった医療が出来たらきっとすばらしいに違いない」ということは、実際の医療現場で実現するという観点からは非現実的であったことである。

もちろん、我々 PhD から見ても患者さんに使うにはどうかなあ、と感じるようなものではダメであるが、一見すると現実性があり、臨床的な意義が充分にある新医療技術であっても、臨床医が積極的に臨床研究を進めようとしなない場合がある。それは、臨床医はその新技術によって達成されるアウトカムばかりでなく、現時点で成立している医療行為に如何にフィットさせることが可能かどうかという視点で、冷静な判断をするからである。

例えば、全く新しい血液検査技術を開発し、その臨床的な意義が大きなものであったとしても、中央検査室で扱ってもらえるようになるとは限らない。それは、現有の検査室スタッフで対応可能なギリギリの数の検査項目を既に実施しており、その新規検査項目を追加することはできないためである。もしその項目を導入するならば、何かこれまで行ってきた項目を外す必要があり、その戦いに勝たなければならない。

また例えば、内視鏡下で消化管内の患部を描出するイメージング試薬を開発したが、可視化に 15 分が必要であるとすると、それを実臨床に上げるのは難しい。それは、多くの患者さんが内視鏡検査を苦痛無く堪えられるのは 10 分程度であり、その新医療技術の効果を検証する臨床試験のために、目の前の患者さんに +5 分の苦痛を与えることは出来ないと臨床医は判断するためである。我々 PhD の立場としては、「+5 分くらい」と考えがちであるが、この検査が成立することで百万人単位の患者さんが救われるとしても、検査の有効性を検証する目的で、目の前の患者さんに不利益が生じる試験を組むことは出来ないと臨床医や病院倫理委員会は考える。もちろん、病院によっては上記のような困難さがあっても、臨床研究を前に進める判断をするところはあると思う。それでも、臨床医と一緒に立場になって、目の前の患者さんに一切の不利益を与えずに、百万人オーダーの患者さんを新たに救うことが出来る新医療技術を世の中に出すべく、出来る化学的な努力を惜しんではならないことは確かである。

昨今、多くの医療治験の不祥事が報じられているが、それは本当に例外的な事件であり、多くの臨床医は寝る時間を惜しんで、目の前の患者さんを治すことに全力を注いでいる。このような臨床医の姿勢を目の当たりにすると、化学者のプライドにかけて、+5 分を無理強いするのではなく、10 分以内、できれば 5 分程度で検査が完了する新検査薬の開発を実現させ、真に実用的な医療技術を完成させてやろうという気持ちになる。洗脳された一薬学者として「人の健康に奉仕する」ために、これからも医学部の中心で、化学を叫んでいこうと思う。

マイクロ流体工学をベースとした非平衡人工細胞の構築

東京工業大学・院総理工¹，学振特別研究員(PD)²，JST さきがけ³

森田雅宗^{1,2}，杉浦晴香¹，瀧ノ上正浩^{1,3}

1. はじめに

生命システムの時空間的な自己組織化やダイナミクス設計原理を理解し、人工的に再現、設計、制御することは生命科学および次世代のBio-Inspiredテクノロジーにおける究極の目標の一つである。近年、人工細胞を物質から、一から再構成することによって生命の本質を理解しようとする試みが、物理・化学・生物の分野を問わず活発に行われている。生命の基本単位は細胞であり、細胞は細胞膜で覆われた超微小化学反応容器とみなす

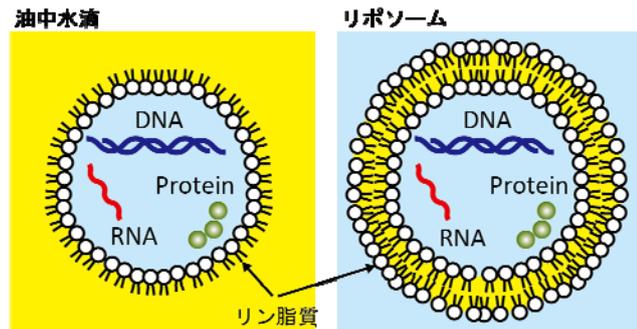


Fig. 1 人工細胞モデルとしての油中水滴とリボソーム

ことが出来る。人工細胞モデルとして、細胞膜と同様にリン脂質で構成された細胞サイズの油中水滴とリボソーム(Fig. 1)の二種類が利用されている[1]。実際に内部において、タンパク質合成[2]やPCR反応 [3]など様々な生化学反応が実現されており、人工細胞を構築する試みが進展している。我々は、物理科学的視点から生命の本質を理解することを目的としている。本稿では、マイクロ流体工学の技術をベースとした人工細胞構築に向けて、我々がこれまでに取り組んできた研究について紹介する。

2. マイクロ流体システムを用いた細胞サイズ小胞内での振動反応

細胞は細胞膜で囲まれた数 μm ～数百 μm のサイズの微小化学反応系であり、膜タンパク質による受動輸送・能動輸送や、膜のダイナミックな変形によるエンド/エキソサイトーシスなどにより、常に反応系への物質の流入と散逸が維持・制御されている。一般に、物質の流入・散逸が無い閉鎖的な反応系では、持続的な振動やパターン形成などの自己秩序化現象は発生しない。したがって、人工細胞の構築においても物質の流入・散逸がある非平衡開放系を実現する必要がある。ここでは、マイクロ流路を用いて細胞サイズの反応系を非平衡開放系にする技術と、その中で実現される持続的な振動反応を紹介する。

Fig. 2(a)に示したのは、マイクロ流路を利用した人工細胞への物質の流入出のメカニズムである[4]。この人工細胞は、リン脂質等の界面活性剤に囲まれた油中水滴エマルジョン（直径数十～数百 μm ）できており、流路の壁の窪み部分に固定されている。流路には人工細胞とは別の物質運搬用の油中水滴が次々と流れてきており、人工細胞と融合しその後分裂をする。運ばれてきた分子は融合時に運搬用水滴から人工細胞へ拡散によって一部流入する。それと同時に、人工細胞内の分子が運搬用水滴の方へも一部散逸する。この融合分裂プロセスが繰り返し起こることで、持続的な物質の流入・散逸がある非平衡開放系が実現される。融合分裂は電圧の ON/OFF で制御することができる。Fig. 2(b)は、融合分裂の様子の高速度写真である。

このシステムに、pH 振動反応系 (Fig.2 (c)) を導入する。反応に必要な基質を運搬用水滴に内包して人工細胞へ流入させる。pH 振動反応は、 H^+ イオンの自己触媒反応と消費反応を含むフィードバックにより自律的な振動が発生するが、非平衡開放系でのみ振動を発生できる。Fig. 2(d) は人工細胞内の pH

を蛍光分子を用いて計測したグラフである。水滴の融合分裂周期、すなわち、基質の流入速度が適切な場合にのみ振動が発生する。このように、自己秩序化現象である振動反応は、制御された非平衡性が必須であることが分かる[5]。

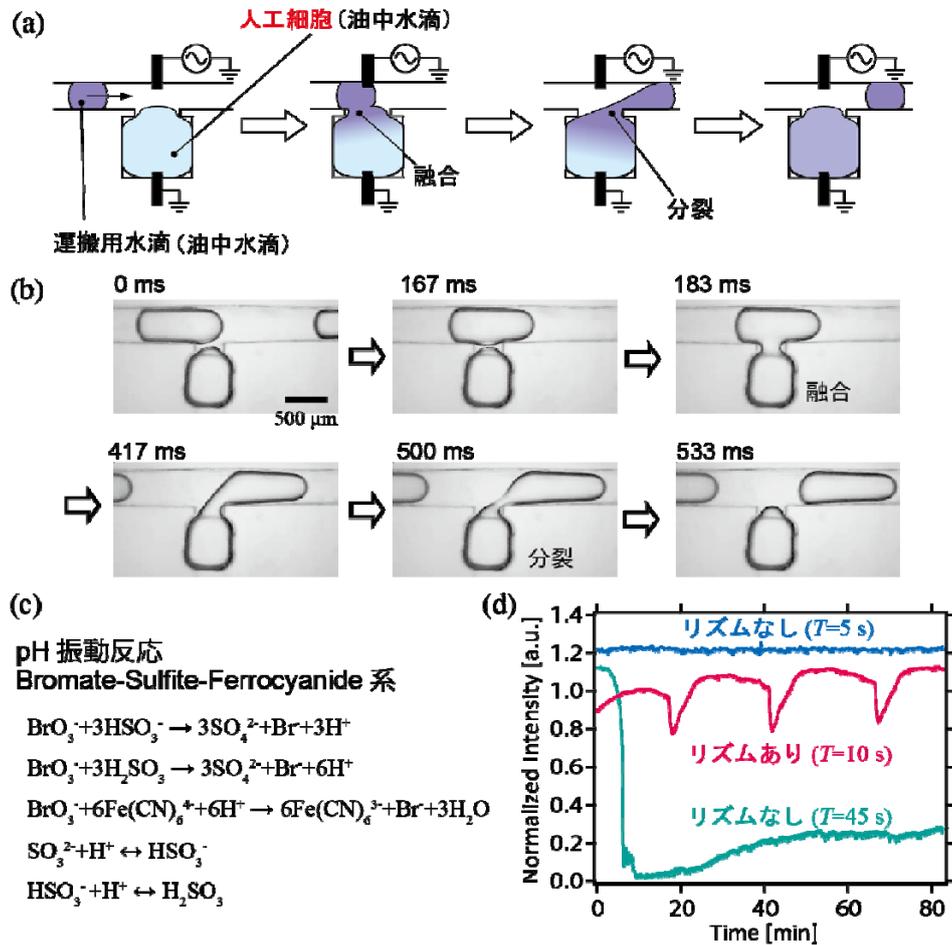


Fig. 2 (a) マイクロ流路による人工細胞への物質の流入出^[4]. (b) 水滴の融合分裂の連続写真. (c) Bromate-Sulfite-Ferrocyanide (BSF)系 pH 振動反応. (d) 融合分裂周期 (T) と振動の発生

3. 人工細胞構築に向けて遠心型マイクロ流体デバイスによる均一サイズ膜小胞の作製手法の開発

細胞サイズリポソームは、細胞膜と同様の構造を有し、細胞と同様の微小空間特性および界面特性を有することから、膜内および膜表面での化学・生化学反応系の研究に広く利用されている[6]。これら反応系の定量的な解析のためにも、一度に大量の均一サイズの細胞サイズリポソーム作製方法が求められている。

これまで、細胞サイズリポソーム作製法には、様々な手法が報告されている。代表的な手法に、ガラス基板に、脂質膜でできたフィルムを薄く張り、自発的あるいは交流電場などをかけながら、水和・膨潤させてリポソームを形成する水和法がある[7]。他に、前述の油中水滴をリン脂質が混在している油相と水相の界面を通過させることで、リポソームを形成する界面通過法がある[8]。近年では、微細加工技術の発達に伴い、数センチサイズの油中水滴を接触させ、接触界面に形成されるリン脂質二分子膜にジェット水流を吹きつけることで、細胞サイズのリポソームを作製している[9]。しかし、マイクロ流路などの作製には微細加工プロセスの技術が必要であり、その特殊性から汎用性は決して高くない。マイクロ加工技術を必要とせず、簡便に、細胞サイズリポソームを作製する方法が望まれている。

我々は、高重力下において液体が封入された微細ガラス管からの微小液滴生成に着目し、遠心型マイクロ流体デバイスを開発した(Fig. 3a)[10]。卓上遠心機と組み合わせ、簡便にマイクロサイズの構造体を作製する方法を用いて、細胞サイズの油中水滴およびリポソームの作製を行った(Fig. 3b) [11]。この手法により、我々は、わずか2 μL の試料(ガラス管封入量)から、直径10~15 μm のリポソームを数百~千個程度作製することに成功した(Fig. 3c)。また、ガラス管の先端径を変化させることで、液滴径のサイズ制御が可能となる。我々の作製法は、微細加工技術を必要とせず、さらには、実験サンプル量が極めて微量(数 μL)で行えるため、貴重な実験試料を無駄にすることなく使える高い汎用性が期待できる。

また、我々は得られたリポソーム膜の物性について解析した。膜貫通タンパク質の一つである α -ヘモリシンタンパク質をリポソーム膜に添加すると、 α -ヘモリシンタンパク質が形成するナノポアを介して膜内外の物質の流入出が観察された(Fig. 3d)。 α -ヘモリシンタンパク質は脂質二重膜にのみナノポアを形成することが確認されており、このことから、本手法によって得られるリポソームは脂質二重膜性を維持していることが明らかになった。

さらに、本手法によって得られたリポソームへ封入した試料が漏れ出ていることがないか確認するために、リポソーム内に無細胞翻訳系を封入し、緑色蛍光タンパク質(GFP)合成を試みた。DNAをテンプレートに転写・翻訳をリポソーム内で行い、時間経過とともに、リポソーム内でGFPの蛍光強度が増加することが観察された(Fig. 3e)。本手法を用いても、リポソーム内での生化学反応系の観察は可能である。本手法では、試料をリポソーム内に封入するまでに要する時間は数分程度であるという利点がある。今後は、この利点を活かして、あらゆる生化学反応実験に挑戦したいと考えている。

この他にも、細胞サイズリポソームを用いて行われている研究である、外部刺激に応答して観察される膜の変形ダイナミクス、様々な脂質を混合することで観察される膜表面上のドメイン構造形成(相分離現象)、脂質二重膜の外層と内層の非対称構造(生体膜と類似)の作製にも成功しており、より細胞らしい高次の機能を有した新たな人工細胞モデル系の構築を試みたいと考えている。

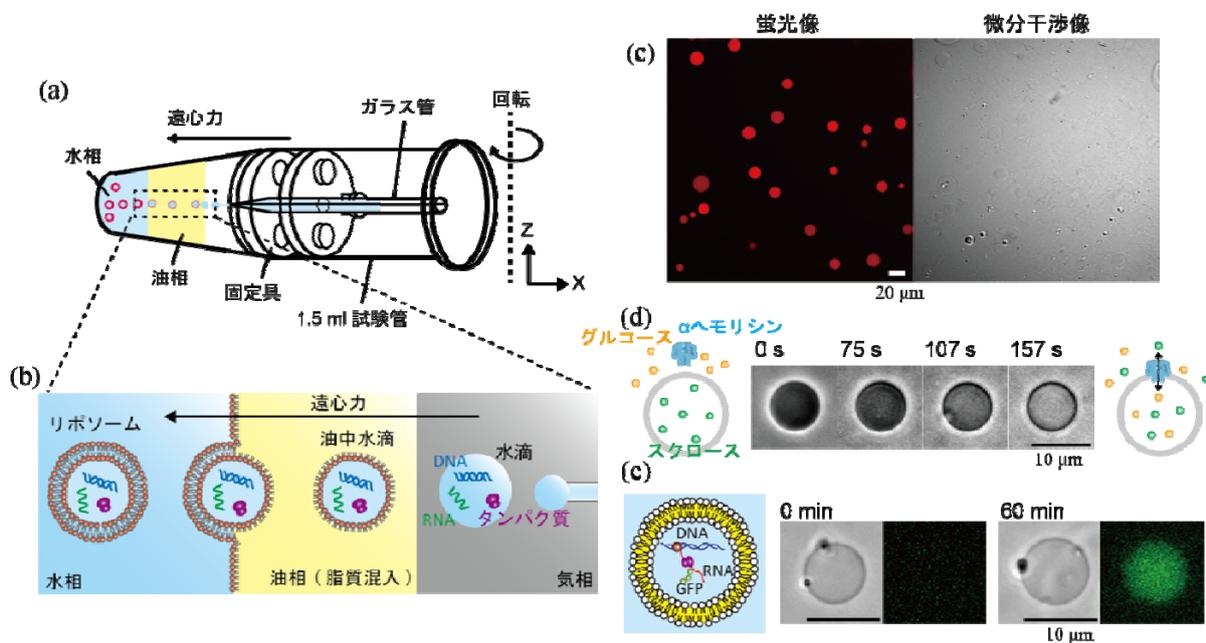


Fig. 3 (a) 遠心式マイクロ流体デバイスの模式図. (b) リポソーム作製プロセスの模式図. (c) 作製されたリポソームの蛍光画像と微分干渉像. (d) α ヘモリシンのナノポア形成過程のリアルタイム観察. (e) リポソーム内での GFP 発現

4. おわりに

本稿では、マイクロ流体工学をベースとした新たな細胞モデル系の構築に向けた基礎技術を紹介した。従来の人工細胞の構築では、膜小胞内部での生化学反応系の実験であり、生化学物質の改良・新規合成がメインであった。しかし、物質・エネルギーの流入出に基づくエネルギー代謝系（非平衡性）は、人工細胞の「反応場」の性質である。我々はこの性質に着目し、一般的な生化学の手法とは一線を画して、マイクロ流体工学で、外場として物質・エネルギーの流入出を与えて非平衡性を物理的に制御することを目指している。さらに、人工細胞への物質・エネルギーの流入出は、本稿でも紹介した様に、リポソームに直接ナノサイズの孔を開けることでも実現できる。今後は、これらの基礎技術を組み合わせることで、人工細胞内でのエネルギー代謝系（非平衡性）を物理的・工学的に制御することに挑戦したいと考えている。また、これらの技術を生体機能関連化学部会に所属している方々に利用していただき、研究の発展につながることを期待している。

謝辞

本研究は、マイクロ流路内での振動反応は、森義仁 教授(お茶ノ水女子大学)、北畑裕之 准教授(千葉大学)との共同研究、リポソーム作製法開発は、尾上弘晃 助教(東京大学)、柳澤実穂 助教(九州大学)、藤原慶 博士(東北大学)、齊藤博英 准教授(京都大学)との共同研究である。ここに感謝申し上げます。本研究の実施は、JST さきがけ「細胞機能の構成的な理解と制御」、新学術領域「分子ロボティクス」(No. 24104002)の支援のもとで行われました。

参考文献

- [1] Takinoue M, Takeuchi S (2011) *Anal. Bioanal. Chem.* **400**:1705.
- [2] Nomura SM, Tsumoto K, Hamada T, Akiyoshi K, Nakatani Y, Yoshikawa K (2003) *ChemBioChem* **4**:1172.
- [3] Oberholzer T, Albrizio M, Luisi P (1995) *Chem. Biol.* **2**:677.
- [4] Takinoue M, Onoe H, Takeuchi S (2010) *Small* **6**:2374.
- [5] Takinoue M, Sugiura H, Kitahata H, Mori Y (2014) in preparation.
- [6] Morita M, Hamada T, Vestergaard MC, Takagi M (2014) *Phys. Chem. Chem. Phys.* in press, DOI:10.1039/C4CP00434E
- [7] Tsumoto K, Matsuo H, Tomita M, Yoshimura T (2009) *Colloids Surf. B* **68**: 98.
- [8] Pautot S, Frisken BJ, Weitz DA (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**(19):10718.
- [9] Funakoshi K, Suzuki H, Takeuchi S (2007) *J. Am. Chem. Soc.* **129**:12608.
- [10] Maeda K, Onoe H, Takinoue M, Takeuchi S (2012) *Adv. Mater.* **24**:1340.
- [11] Morita M, Onoe H, Yanagisawa M, Fujiwara K, Saito H, Takinoue M (2014) in preparation.

細胞電気活動の時空間計測に向けた蛋白質プローブ

北陸先端技術大学院大学 マテリアルサイエンス研究科

JST さきけ 筒井秀和

1. 生体電気信号

およそ 100 年前、Fricke は赤血球のサスペンション溶液のインピーダンス特性を解析し、容量成分が厚さ 3.3 nm 程度の膜に由来するのではないかと、という見事な予想を立てた¹。生きた細胞の膜の厚さを正確に測ることは今でも難しいが、3~数 nm 程度と考えられている。活動電位の大きさは 0.1 V 程度であり、1.5 V の乾電池よりはだいぶ小さい。というものの、乾電池はセンチメートルスケールである。電場 [V/cm] に換算すれば、細胞膜には非常に強い電場がかかっている事がわかる。神経、筋、分泌、受精など、生体のさまざまな場面・場所でこの電場が情報伝達に使われている。あまたの重要な情報伝達分子が知られているがそれらは基本的に拡散に頼る。それに比べ電気信号の伝達は速い。小分子の拡散速度をはるかに超え、時速 250 km を記録することもある。

2. 細胞電気活動の時空間計測

一つ、あるいは少数の細胞であれば、ガラス管微小電極を用いた手法で美しい電気活動記録を得ることが出来る。しかし多くの細胞を同時に計測対象とすることは難しい。生き物の中では、生体電気信号は一体どのように扱われているのか、という根源的な問題に近づく事を目指して、細胞の電気活動の時空間動態を計測しようとする試みが約 60 年前に始まった。特に Cohen らのグループはイカの神経軸索をさまざまな色素で染色し、吸収や蛍光、複屈折、など様々な光学特性の電位依存性を調べる事に尽力し、電位感受性色素の分野を開拓した。といっても、電位感受性色素で組織を染色する場合、特定の細胞だけを染める事は通常難しい。見ている光学信号が、はたして複雑な神経回路を構成するどの種類の細胞に由来するのか、観測者にとっては大問題である。蛋白質で出来たプローブであれば、遺伝子として導入し、プローブそのものは細胞に作ってもらうことが出来る。Siegel らは Shaker (電位依存性カリウムチャンネルの一種) の電位依存的な構造変化を GFP の蛍光変化として検出する事を、卵母細胞の発現系を用いて初めて成功した²。残念ながら、哺乳類細胞ではプローブがうまく発現しない事が分かり、プローブの実用性が高いものとはならなかった。このような課題が認識された頃、Okamura らのグループにより VSP (voltage-sensing phosphatase) と呼ばれる蛋白質が発見された³。この蛋白質は、電位依存性チャンネル同様に、電位センサードメインという、膜電位変化により状態遷移を起こすドメインを持ち、C 末側の脱リン酸化酵素の活性を電位依存的に制御する。しかも単量体として機能する事も後に明らかにされた (一般的な電位依存性チャンネルは 4 量体として機能する)。この事は、VSP の電位センサードメインが単量体でも十分な機能性と安定性を保持していて、蛋白質性の膜電位プローブの材料として好都合である事を意味している。実際、Knopfel らはこの蛋白質を用いて哺乳類細胞にも安定的に発現するプローブが創れる事を初めて報告した⁴。

3. 電位センサードメインを利用した、細胞膜電位の FRET プロープ

図 1A は、VSP の電位センサードメインを利用した膜電位の FRET プロープの一つ、Mermaid⁵ の模式図を示す。電位センサードメインは細胞膜を 4 回貫通する形をしている。mUKG, mKOκ は、沖縄産の珊瑚から単離・改良した蛍光蛋白質で、FRET donor, acceptor として優れたスペクトル特性をもっている。膜電位変化がまず電位センサードメインの構造変化を引き起こし、mUKG、mKOκ の相対的位置関係が変化し、mUKG から mKOκ への共鳴エネルギー移動効率が変化する。このプロープを用いて、単一細胞の単一活動電位を時間平均加算することなく捉える事に初めて成功している。また、いわゆる比色測定であるため、原理的に動きや

収縮のある標本にも適用できる。これらの利点を活かして、拍動しているゼブラフィッシュ心臓の電気活動を非侵襲的に可視化する事なども出来る (図 1B)⁶。ゼブラフィッシュは光学的な透明性と、マイクロメートルに入る小ささを兼ね備えている。今後、創薬関連化合物や心機能関連遺伝子の効率的な探索を行うシステムが構築出来る可能性が期待される。

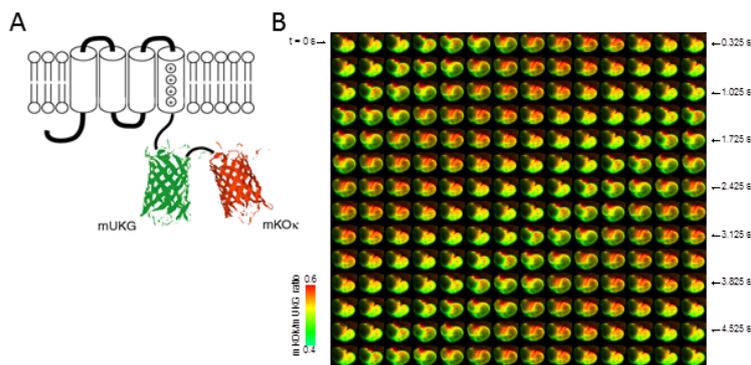


図 1 (A)Mermaid の模式構造 (B)擬似カラーで表示されたゼブラフィッシュ心筋の膜電位動態。赤は脱分極領域を示す。文献 5,6 より改変。

4. 電位センサードメインの N 末効果

電位センサードメインが状態遷移を起こすとその作用は特に C 末端側に伝播する、と一般的に考えられてきた。最も C 末側のセグメント (S4) には、塩基性のアミノ酸が規則的に配置されていて、膜電位検出の中心的な役割を担う事が明らかとなっているし、蛋白質の一次構造を見ても、イオンの通り道であるポア ドメインや VSP の酵素ドメインといったエフェクタードメインは S4 の C 末側に位置している。我々は、自然の蛋白質がいかにかに生体電気信号を解読しているのかという観点からも、電位センサードメインの状態遷移機構にも興味を持っている。最近、電位センサードメインがその C 末

だけでなく、N 末側にも無視できない構造変化を引き起こしている事を捕らえることに成功した⁷。図 2 はその実験の一つを示す。まず、タグ蛋白質である HaloTag に Tetramethyl rhodamine (TMR) を含むリガンドを共有結合させた。次に、S4 の電位依存的な動きを指標にして調べてみると、HaloTag-TMR は局所環境変化のレポーターとしても機能する事を見出した (図 2A,B)。そこでこの HaloTag-TMR を S1 の N 末側につなげ

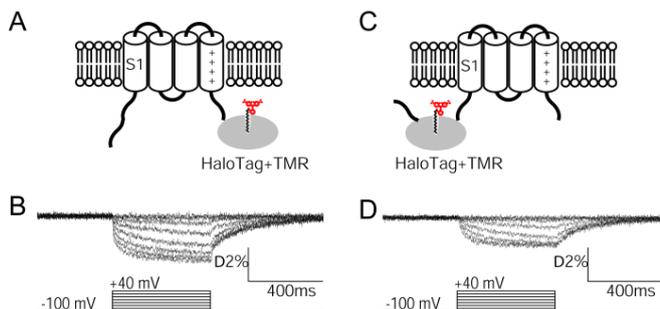


図 2 (A,B) HaloTag-TMR は電位センサードメイン C 末の動きを検出できる。(C,D) このシステムを用いると、N 末も構造変化を起こしている事が示唆された。文献 7 より改変。

てみると、やはり同様に電圧依存的な蛍光変化を示した (図 2C,D)。この事は C 末側だけでなく、N 末側も電圧依存的に動いている事を示している。電位センサードメインの状態遷移機構の研究は非常に長い歴史があるが、以上のような実験はやはり単量体での発現が難しいイオンチャネルを用いては難しい計測であると考えられる。

5. プロブの改良

状態遷移時における、N 末・C 末側への作用を同時につかうことで、感度や時間特性が改善される可能性があると考え、図 3A のように、N 末、C 末側に FRET ドナーとアクセプターをつけたものを作成した (Mermaid2)。詳しく解析してみると、Mermaid2 は、前述した Mermaid と比べて最大信号振幅で 1.8 倍、応答速度で 7.7 倍も優れたものであり、特に、 $V = +50 \text{ mV}$ での応答時定数 (τ_{ON}) は、サブミリ秒の領域にあった。海馬神経細胞に遺伝子導入し計測を行うと、時間平均加算することなく、活動電位のみならず、閾値下の膜電位応答も捉えられている事が分った (図 3B, C) ⁸。In vivo での神経活動を見る事も出来る。大脳皮質側頭部の聴覚関連領域に Mermaid2 遺伝子を導入した例を示す。この領域にはトノトピーと言う最適周波数マップがあり、それが単一試行の計測で可視化されている (図 3D-F)。ここでの計測は頭蓋骨を開ける事なく行っているため、非侵襲性が高く、また、同じ個体からの活動記録を継時的に行う事も原理的に可能であると考えられる。

6. プロブの高速評価

さらに優れたプロブを創出出来ると考えている。

前項で、N 末作用に基づく設計について述べたが、あくまでも全体的な Configuration についての示唆であり、精密な設計を細部まで行う事は現実的ではない。些細な変更が良くも悪くも予期せぬ効果を生む為、実際には沢山の候補プロブを作って解析する必要がある。(Mermaid2 もそのようにして幾つかの候補分子から得られた)。通常、解析はパッチクランプ法などの電気生理学計測と光計測を組み合わせで行う。精度の高い結果が得られるものの、作業効率は低い (この状況は、例えば蛍光蛋白質の試験管内進化実験では、大腸菌プレートに変異体を二次元展開して効率的に解析出来る事と対照的である)。最近、我々は、電場誘起膜電位に基づいて、パッチクランプ法によらずにプロブを高速に評価する手法を提案している ⁹。誘起膜電位とは、電場中に置かれた細胞に誘起される場所依存的な膜電位変化の事である。細胞の形態などにも複雑に依存するが、膜が球形で且つ絶縁性が十分

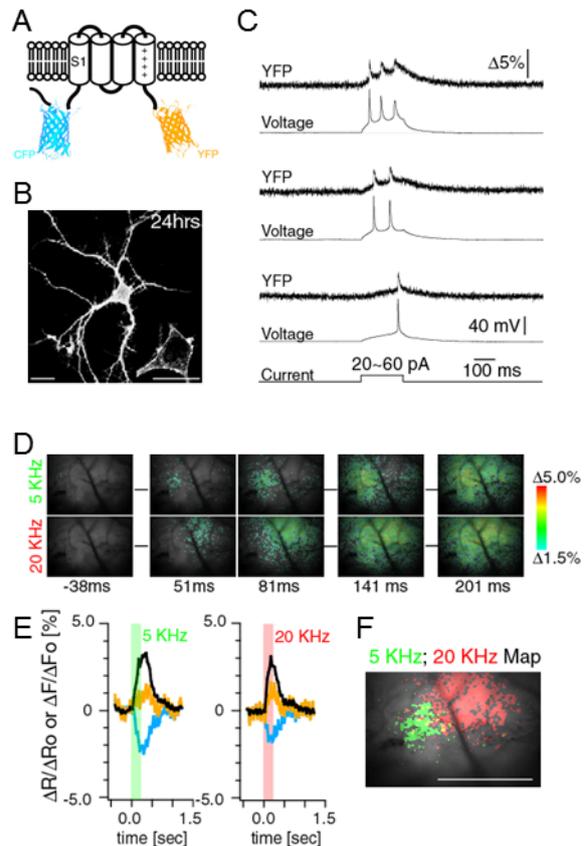


図 3 (A)Mermaid2 の模式図(B)海馬神経細胞に導入した様子 (C) 神経細胞におけるパッチクランプと Mermaid2 の同時計測 (D) 2 種類の聴覚刺激に対する光学信号 (E) 光学信号の継時変化 (F) 81ms 秒後の 5KHz と 20KHz の刺激に対する応答を重ねたもの。文献 8 より改変。

に高いという理想的な場合には Schwan の式とも呼ばれる解析解知られている ($V=1.5ER\cos\theta$; E: 電場強度; R: 細胞半径; θ 電場方向から見た膜の角度)。

A
ただし、電位センサーの状態遷移は絶対的な膜電位に基づくために、細胞ごとの静止膜電位のばらつきや値の不確実性が問題となる。内向整流性カリウムチャンネルを恒常的に発現させた細胞を用いると、静止膜電位をカリウム平衡電位近くに揃える事が出来る。ただし、電場誘起膜電位に関して、コンダクタンスの導入により Schwan の式は本質的に当てはまらなくなる (図 4A,B)。詳細は割愛するが、実験的に決定した新しい関係式と、電場の矩形波を細胞に与えた時の光学信号を解析することで、ある程度の定量性をもってプローブの特性を高速に評価する事が出来る。この手法は、原理的に、例えばマイクロ流路を流れる細胞などに対しても適用できるはずで、今後、プローブの開発効率を高められる事が期待できる。

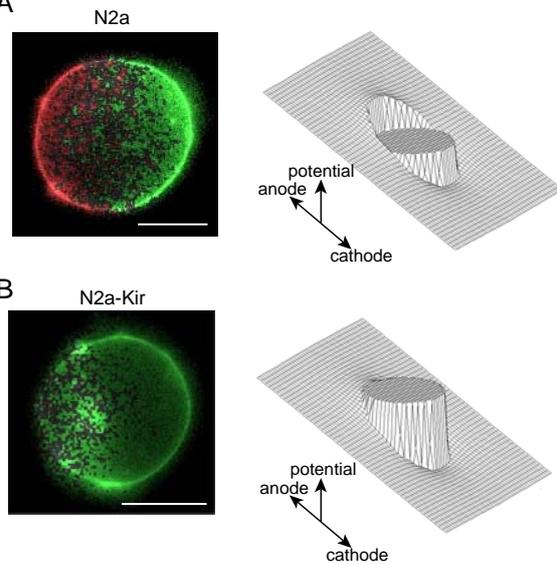


図 4(A)N2a 細胞における電場誘起膜電位のプロファイル。電位感受性色素 Di-4-ANEPPS で可視化した。(B)内向整流性カリウムチャンネル Kir2,1 を導入した N2a 細胞におけるプロファイル。赤は過分極変化、緑は脱分極変化を示す。それぞれ右はコンピュータグラフィックスによる概念図。文献 9 より改変。

6. おわりに

細胞電気活動は時間スケールの速い現象であり、「膜電位動態の可視化」を取り巻く厳しい物理的・化学的な制約は多い。しかしながら、プローブの高性能化や、高感度 cMOS カメラを始めとするハードウェア側の進歩もあって、可視化技術はますます身近なものになってきている。今回、電位センサードメインを利用した FRET プローブの開発と計測を中心に記したが、新しい計測原理の探求も常に行っている。生体電気信号に興味のある方、面白いアイデアを実現したい方、是非、一緒に探求しましょう！本研究に携わって頂いた共同研究者の方々、及び、本稿を執筆する機会を頂いた北陸先端大・高木昌宏先生に感謝致します。

(参考文献)

1. 'Membranes, ions, and impulses' by Cole, K.S. University of California Press, 1968
2. Siegel et al., Neuron 1997; 4: 735-741.
3. Murata et al. Nature 2005; 435:1239-1243.
4. Dimitrov et al. Plos One, 2007; 5: e440.
5. Tsutsui et al., Nat Methods 2008; 5:683-685.
6. Tsutsui et al., J. Physiol 2010, 588, 2017-2021.
7. Tsutsui et al., Biophys. J, 2013. 105:108-15
8. Tsutsui et al., J Physiol, 2013, 591, 4427-4437.
9. Tsutsui et al., BBA-Biomembrane, 2014, in press

1本の連続的な流れの中で組み立てる超分子構造： 超分子プラントとしてのマイクロフロー空間の可能性

京都府立大学大学院 生命環境科学研究科 沼田宗典

1. はじめに

今回、民秋先生、高木先生よりご指名いただき、ニュースレターを約10年ぶりに執筆させて頂く機会を得た。ちょうど現所属に移って研究を立ち上げてから6年、まだ研究成果と呼べるものではないが、自分なりに考えてきたことについて紹介させて頂き、色々ご意見を頂戴する機会にさせていただければ幸いである。両先生には執筆の機会を頂き、改めて感謝申し上げたい。私の研究は、扱う化合物や手段こそ色々変えてきたが、生体分子システムをお手本とした物質創製技術の開発が最終目標であることは変わらない。ここでは、マイクロフロー空間を生体類似の制御可能な分子組織環境と見なし、超分子形成に応用した結果について簡単に紹介したい(図1)。

生体内で形成される組織構造はナノメートルからマクロスケールまで明確な構造性を有し、これがナノ機能のマクロへの増幅を可能としている。また、生体内での物質創製は、明確な時間軸を持ち、必要な機能を必要な場所に、必要になったタイミングで創りだしているのが大きな特徴である。こうした階層性と自律性を合わせ持つ生命の分子システムに少しでも近づこうとする努力は、言うまでもなく化学の究極の目標であり、化学者の使命でもあろう。同時に、こうした生命システムを具現化する超分子システムの開発は、将来の物質機能の根幹を支配する基盤技術になるはずであるが、実際はアプローチの糸口すら見えていないのが現状である。それなりの労力を払えばある程度欲しい分子構造が合成できる合成技術とは対照的に、超分子技術は未だに経験と勘頼みであり、その意味でまだまだ未成熟と言わざるを得ない。生体分子システムをお手本に、簡便、確実かつ汎用性のある真に実践的なシステムとして構築されることが望まれる。

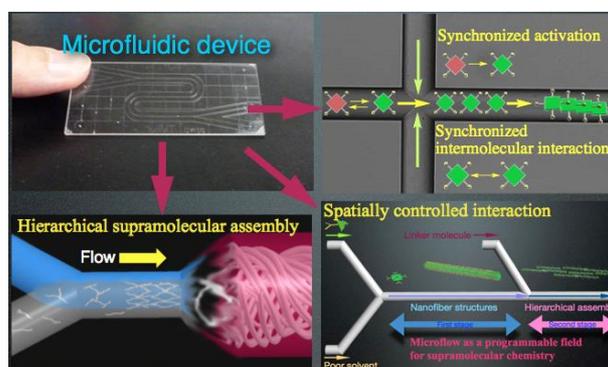


図1 分子間相互作用の精密制御システムとしてのマイクロチップ：溶液の分画化による逐次制御系が迅速かつ確実な超分子構造への変換を可能にするはずである。

2. 高分子間相互作用のスイッチングによる ナノ構造体の制御とその増幅^[1]

府立大に赴任して研究テーマを考えていた頃、学科内の他のグループと研究会を行った。そこで、ある学生がマイクロ流路を用いた蛍光センシングについて発表していた。この時に初めてマイクロ流路というものを知ったが、生体分子システムの特徴である、非平衡、マイクロ空間、迅速、動的構造、などが1本の線として繋がった気がして、直感的に超分子形成に使ったら面白いかも?と思った。まだ、有機合成が本格的には出来なかった時期でもあり、まずはちょうど手元にあった多糖鎖(β -1,3-グルカン)の組織化をマイクロ流路内でやってみることにした。単一の分子間の相互作用制御よりも、高分子鎖間の相互作用制御の方が容易であり、マイクロフロー内で起きる特殊な

現象を読み出すにははるかにハードルが低いであろうという読みもあった。

β -1,3-グルカン的一种である SPG は DMSO 溶液中で 1 重鎖構造であるが、水と接触すると疎水相互作用と水素結合を駆動力に 3 重鎖を形成することがよく知られている。^[2]この 3 重鎖構造はいわば閉じた (Convergent) 組織構造であり、それゆえさらなる階層性を発現することはない。

マイクロ流路内に導入された液体は、即座に混ざり合うことなく層流を形成する。たとえば水と DMSO などの相溶性の溶媒を“Y”字型マイクロ流路に導入すると、層流の形成に伴い一時的に界面が形成される。この界面は流れ続ける限り維持されるが、流れを止めると瞬時に消失することから、外部からの持続的なエネルギー供給によってのみ維持されるいわば非平衡開放系で形成される組織構造の一種であるとみることができる。

SPG の DMSO 溶液と蒸留水を“Y”字型マイクロ流路 (内径約 $100\ \mu\text{m}$) の 2 つの導入口からそれぞれ導入した。流出した溶液はキャピラリー (内径約 $300\ \mu\text{m}$) を通して最終的に蒸留水を入れたサンプル管中に流出させた。なお、マイクロ流路の下流域では DMSO/水の 1/1 (v/v) の混合溶液となっており、この溶媒組成中で SPG は 3 重鎖に巻き戻っていると考えられる。導入する SPG の濃度と 2 液の流速をそれぞれ変化させたところ、濃度が 10–20 mg/mL、流速が 10–50 $\mu\text{L}/\text{min}$ の範囲において、キャピラリーから直径約 $300\ \mu\text{m}$ のファイバーが流出することが明らかとなった。この多糖ファイバーの微細構造を走査型電子顕微鏡 (SEM) および原子間力顕微鏡 (AFM) を用いて観察を行ったところ、図 2 に示す通り、ナノからミリに至る明確な階層性を有していることが明らかとなっている。AFM による詳細な構造解析の結果、ナノスケールにおいて複数の SPG 鎖が“Head-to-Tail”型に自己組織化したネットワーク構造が構造の最小単位であることが明らかとなった。こうしたネットワーク構造の形成には、SPG 鎖を一方

方向に配向させ、かつスリップさせながら連続的に組織化させる必要がある。外部から物質 (SPG) やエネルギー (流れ) の供給が絶えず起きるマイクロフロー空間において、高分子間相互作用の“Convergent”から“Divergent”モードへの変換が連続的に繰り返されたことが分かる。SEM による観察の結果、ネットワーク構造はさらにマイクロファイバー、ミクロファイバーへと階層化していることが明らかとなっている。ここでは、流れる距離 (時間) が階層性に対応していると言える。以上の様に、高分子間相互作用の制御に基づくナノ構造の制御、およびその増幅がマイクロフロー空間では容易に起きることが示された。

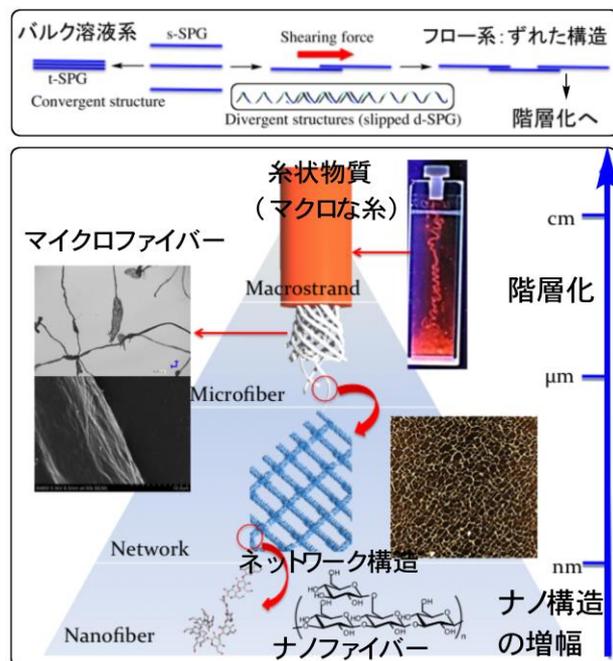


図 2 層流による高分子間相互作用の制御とナノ構造の増幅: ナノファイバーが創りだすナノメートルからマクロスケールに至る階層構造

3. 空間による分子間相互作用の制御^[3]

マイクロ流路の特徴の 1 つが、時間が空間

で制御できることである。^[4]フロー内部の連続的な溶液の流れは溶液内部で進行する化学的なイベントの時間展開として捉えることができる。バルク溶液中では分子間相互作用のタイミングはその強さによって規定されてしまうが、流れを利用すると原理的には異種分子間の相互作用のタイミン

グは空間（分子の導入位置）で制御できる。

次に、グアノシンモノリン酸(GMP)を最適なモデル系として選んだ。GMP は水素結合による4量体の形成と続くスタッキングによりナノファイバーを形成することがよく知られている。本系では、分子間相互作用の空間制御により、このアニオン性のナノファイバーをカチオン性のリンカー分子によってさらに階層化することを試みた。つまり、分子間相互作用として水素結合、 π スタッキング、および静電相互作用に着目し、これら強さの異なる複数の相互作用を逐次的に1つのフロー系で制御することを目的とした(図3)。リンカー分子として、アニオン性官能基との迅速な相互作用が期待できる amidinium 基に注目し、これらをポルフィリン分子に導入した Por-Ami₂を合成した。本研究では、“Y”字型マイクロ流路(内径約100 μ m)の流路の下流部にさらに“Y”字型の分岐を持つマイクロ流路を用いた。まず上流部の2つの導入口からGMPの水溶液とその組織化を促進するアセトニトリルをそれぞれ導入した。GMPの4量体形成はテンプレートイオンの存在下で促進されることがよく知られているが、本系においては、テンプレートイオンの非存在下でもGMPの効率的な組織化によるナノファイバーの形成が明らかとなっている。マイクロフロー内では水とアセトニトリルの混合が極めて迅速かつ均質に起きるため、会合可能なGMP分子の局所濃度が上昇する。これが、効率的な分子間相互作用を可能にしていると考えている。実際に、流速を変化させ溶液の混合状態を変化させると、GMPファイバーの長さも変化する。これらは、マイクロフロー空間内では分子レベルで均質な溶媒環境を創り出すことにより、分子間相互作用を促進できることを強く示唆している。これは、原理的にはあらゆる分子種に適応可能であると期待される。

DNAなどの高分子鎖がマイクロフロー内に形成された層流の影響を受けて一方向に配向することがよく知られている。^[5]次に、下流部の導入口からPor-Ami₂を導入し、上流部で形成された超分子ナノファイバーを配向させた状態で架橋化することを試みた。AFMおよびSEMによる観察の結果、期待した通り、GMPナノファイバーがバンドル化したと考えられるマイクロファイバーの形成が確認された。GMPナノファイバーとPor-Ami₂をバイアル中で混合してもマイクロファイバーの形成は全く認められなかったことから、マイクロ流路内でGMPナノファイバーが一方向に配向しながら効果的に架橋化されたことが強く示唆される。当然、GMPとPor-Ami₂をバイアル中で混合してもファイバー構造は全く形成しない。分子間相互作用のタイミングがフロー空間で逐次的に制御された結果、迅速かつ効率的な階層化が達成されたと言える。

4. 分子間相互作用の速度論的制御へ^[6]

マイクロフロー内では迅速な溶媒拡散が起こる。以上の研究から、溶媒の拡散による微視的な分子環境変化が分子会合のトリガーとなる場合は、迅速な溶媒拡散は分子間相互作用の効率化に直結することになる。“Y”字型流路

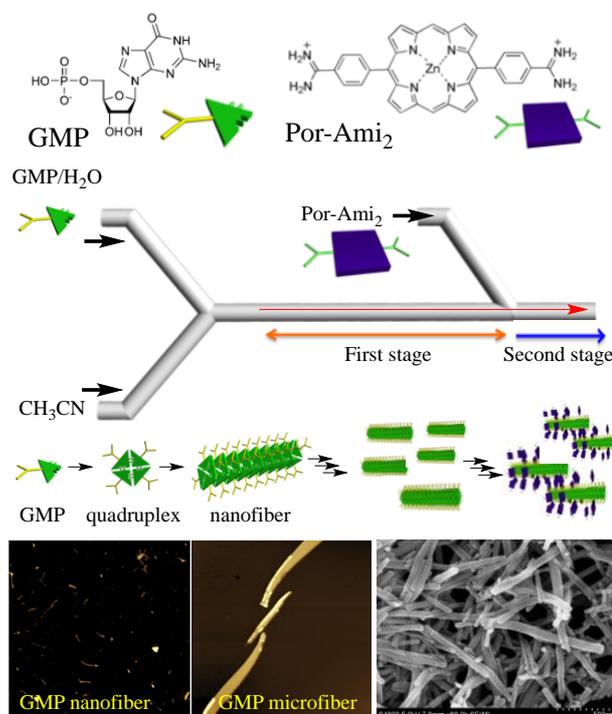


図3 マイクロ流路内での分子間相互作用の時空間制御：GMPマイクロファイバーの階層化

と異なり、十字型のマイクロ流路では、中央から導入した溶液の厚み（拡散距離）が側方からの溶液の流速により制御できる。また、中央溶液を絞り込むことにより、組織化する全ての分子が同じ微視的環境をほぼ同時に経験することになるため、より効率的な分子間相互作用も同時に期待できる。ここでは、2次元組織能を備えたポルフィリン誘導体の THF 溶液 (50 μM) を中央から、水と THF の混合溶媒を側方から導入した。側方から導入する溶媒の流速、および含まれる水の割合を適切に制御したところ、適切な溶媒組成および流速域において μm スケールの巨大なシート構造体が一気に創製できることが明らかとなった (図4)。サイズは数十 μm であるが、僅か数十 nm の均質な厚みを持つポルフィリンのシートであり、その光・電子機能にも興味を持たれる。このポルフィリンはバイアル中ではほとんど会合性を示さないことから、迅速な溶媒拡散により分子がほぼ同時に会合活性となることが分子間相互作用の増強効果と長距離秩序をもたらしていると言える。さらに、流速を変化させることにより、得られるシート構造のサイズと厚みも制御できるところが AFM, SEM による観察から明らかとなっている。またポルフィリン骨格周辺の置換基 (butyl 基) を phenyl 基に変化させることによって凝集速度を変化させた場合、同じフロー条件ではシート構造は得られない。これらの結果は分子の凝集速度とフロー方向への展開速度 (流速) が適切な範囲に設定されることが、シート構造の形成だけでなくサイズや厚みの制御に決定的に重要であることを強く示唆している。

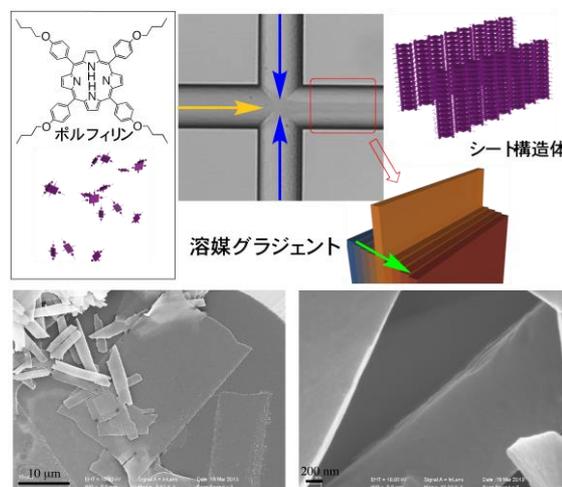


図4 溶媒極性と拡散距離の制御による分子会合速度の制御：巨大なポルフィリンシート構造体の創製

5. おわりに

超分子化学では、分子デザインによって組織構造を予測し、制御しようとしてきた。こうした従来の基軸の重要性を認めつつ、分子環境のデザインを通じた分子制御をもう一つの軸として、トップダウン的に組織構造を制御できる可能性を少しばかり提唱できたかと思っている。本系は、マイクロ流体を用いた速度論的経路選択システムであり、ダイナミクスを持つ生命分子システムへの挑戦であると考えている。そこでは、分子デザインはむしろシンプルに、組織化するプロセスに一工夫加えることで、必要な組織構造だけを迅速かつ高効率に創出できる可能性を秘めている。様々な機能性分子を組み合わせることで、分子組織構造の階層化と複雑化のプロセスを一つのフロー系で統一制御し、次世代の機能物質群を創出する全く新しい分子システムの構築を目指していきたい。

参考文献

1. M. Numata, Y. Takigami, M. Takayama, T. Kozawa, N. Hirose, *Chem. Eur. J.*, **2012**, *18*, 13008-13017.
2. K. Sakurai, K. Uezu, M. Numata, T. Hasegawa, C. Li, K. Kaneko, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **2005**, 4383-4398.
3. M. Numata, T. Kozawa, *Chem. Eur. J.*, **2013**, *19*, 12629-12634.
4. S. Suga, D. Yamada, J. Yoshida, *Chem. Lett.*, **2010**, *39*, 404-406.
5. K. Yamashita, Y. Yamaguchi, M. Miyazaki, H. Nakamura, H. Shimizu, H. Maeda, *Chem. Lett.*, **2004**, *33*, 628-629.
6. M. Numata, T. Kozawa, *Chem. Eur. J.*, in press (DOI: 10.1002/chem.201305006).

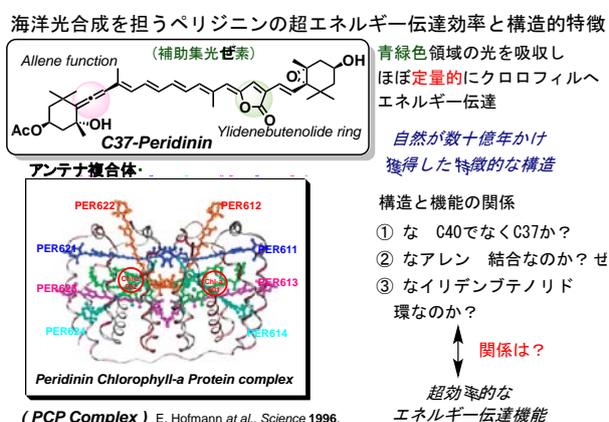
海洋光合成初期過程を担う高次カロテノイドのエネルギー伝達機構解明に向けた有機合成からのアプローチ

関西学院大学 理工学部 勝村 成雄

1. はじめに¹⁾

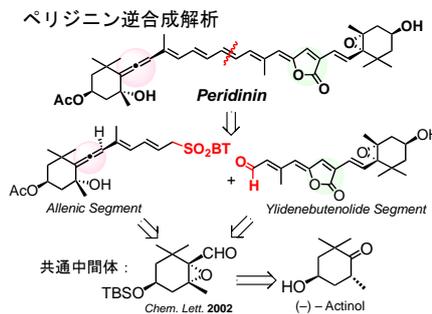
この40年のあいだ機能性天然物の合成研究に携わってきたが、最終的な目標は、有機合成を基盤として天然物の示す機能を分子の挙動として理解することにある。本稿では、海洋の光合成において補助集光色素として働く高次カロテノイドの機能解明に向けた最近の成果を紹介したい。

光合成反応は地球上の生命を支える自然界のエネルギー変換機能であり、海洋でのそれは地球上の半分以上を占めると言われる。海産の高次カロテノイドであるペリジニンやフコキサンチンは、海洋の光合成初期過程を担う補助集光色素として働き、吸収した光エネルギーをクロロフィルへ伝達する重要な役割を担う。特にペリジニンは、クロロフィル、タンパク質と共に超分子集光性複合体(PCP Complex)を形成し、その中で吸収した光エネルギーをほぼ定量的に伝達する。これは、自然が創出した最高の光エネルギー変換素子と見做せ、注目を集めてきた。ペリジニンは、①一般的なカロテノイドより炭素数が3少ないC37であり、②イリデンブテノリド環、③アレン結合から構成される。この様なユニークな構造は、光量が限られる海洋において、自然が数十億年かけ獲得したものであると言える。しかし、その構造と機能の相関については全く検討されておらず、エネルギー伝達機構についても進展が見られなかった。ここでは、天然物の機能の理解に対し、有機合成化学がいかに重要であることを示したい。



2. ペリジニンの効率よい合成法の確立と様々な類縁体の創製

ペリジニンは、赤潮の原因となる植物性プランクトンから単離され、構造決定、最初の合成までほぼ一世紀を要した歴史的な分子である。この分子の逆合成解析を図に示す。分子の中央で切断すると、アレンセグメントとイリデンブテノリドセグメントに分かれる。それぞれは、共通中間体であるエポキシアルデヒドから合成できると考え、このエポキシドを(-)-Actinol から合成することにした。検討の結果、極めて高い立体選択性で Sharpless 不斉エポキシ化を実現し、その供給法を確立した。長い歴史をもつカロテノイド合成における、初の6員環上の立体制御である。イリデンブテノリドセグメントの合成は、独自に開発した合成法から成り立っている。すなわち、新規なシリルフラン Wittig 試薬を先のエポキシアルデヒドと反応させ、続いて独自に開発したシリルフランの一重項酸素酸化により位置特異的に γ -ヒドロキシブテノリドとし、ブテノリド環をアリルエステルとして開環させ、生じたアルデヒドをアセチレンへ変換した。Pd 触媒による菌頭カップリング、イリデンブテノリド形成をワンポットで行い、その後酸化して目的とするブテノリドセグメントの立体化学を制御した効率よい合成を実現した。この様なワンポットブテノリド形成法は、一連の類縁体合成に大きく貢献した。一方、C17 アレンセグメントは、アレンカロテノイド合成



で一般的に用いられるエポキシアセチレン化合物の DIBAL による S_N2' 反応により合成した。両セグメントの結合には改良 Julia 反応を選択し、Z 体が主生成物のカップリング体を得、熱異性化させペリジニンの全合成を達成した。初の立体化学を制御した高次カロテノイド合成である²⁾。

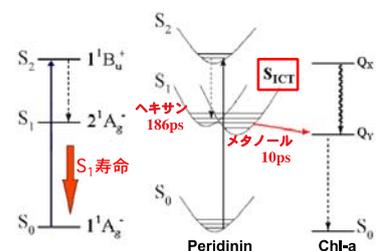
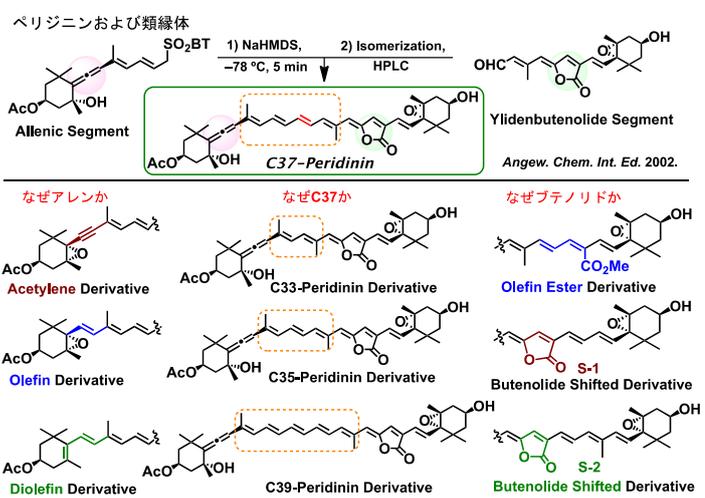
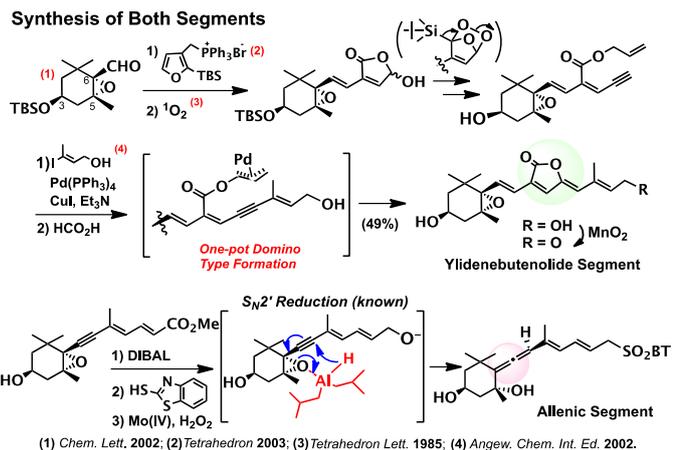
この合成法では、両セグメントをそれぞれ変形させると様々な類縁体の供給が可能となる。構造-機能相関を検討するため、①なぜ C37 なのか、②なぜイリデンブテノリドか、③なぜアレンか、という課題の解

明に着手した。まず、①炭素鎖長に関しては、共役鎖が 2 つ少ない C33、1 つ少ない C35、1 つ多い C39 ペリジニン類縁体をデザインし、先に開発したワンポット共役ブテノリド合成法を用いてこれらの合

成を実現した。特に C39 類縁体は安定性が懸念されたが、幸い取り扱い可能であった³⁾。次の②なぜイリデンブテノリドかの問題に対しては、ブテノリド環をオレフィンエステル等に開環した類縁体を合成し検討したが、明確な結果が得られなかった。そこで、ブテノリド環を中央方向へシフトさせた 2 種類の類縁体をデザインし、先のワンポット法を改良し合成した。さらに、③なぜアレンかの問題に対しては、アレンをエポキシオレフィン等に変換した化合物をデザインし、相当するアレン部位改変セグメントとブテノリドセグメントから合成した。

3. S_{ICT} エネルギー準位存在の実証とその性質の解明

さて、ペリジニンからクロロフィルへの超効率的なエネルギー伝達機構は、分子分光学分野において活発に検討されてきた。すなわち、カロテノイド等のポリエン系では、光による励起において、基底状態の S_0 から励起最低エネルギー準位である S_1 への遷移は禁制であり S_2 準位へ励起され、そこから S_1 準位へ緩和される。また、 S_1 から S_0 への緩和時間は S_1 寿命と呼ばれ、その値はエネルギー準位の相対的な安定性の度合いを示し、超高速時間分解吸収スペクトルで計測できる (図)。ところで、カロテノイドからクロロフィルへ効率よくエネルギー伝達するためには、相当する両エネルギー準位同士が近接していること、両者が強く相互作用することが必要となる。1999 年 H. A. Frank 教授らは、ペリジニンの超高速時間分解吸収スペクトルを測定し、極性溶媒であるメタノール中において、ヘキサン中で観測される S_1 に比べ、顕著に安定化されたエネルギー準位を観測し、これを新しいエネルギー準位として S_{ICT} (Intramolecular Charge Transfer) 準位と呼ぶことを提唱した⁴⁾。すなわち、ヘキサン中では S_1 準位の、メタノール中では S_{ICT} 準位の寿命が計測されることになる。そして、ペリジニンの S_{ICT} 準位からクロロフィルの Q_y 準位へエネルギー移動することを示唆した。しかし天然物しか入手できないため、ペリジニンの S_{ICT} 準位に関する研究はあまり進展が見られなかつ



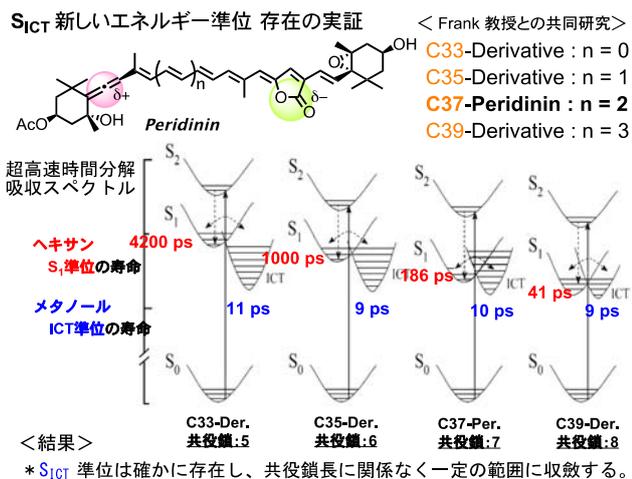
た。この様な状況の下に我々はこの分野の研究に参画し、共同研究を開始した。

先に述べた、ペリジニンの共役鎖長を変化させた3種の類縁体の超高速時間分解吸収スペクトルが測定された。天然物も含め、これらの結果をエネルギー準位の模式図として示す。S₁準位が観測されるヘキサソル中では、相対的なエネルギー準位の位置を示す寿命は共役鎖長が長くなるにつれ短くなっているのに対し、S_{ICT}準位の相対的な位置を示すメタノール中での寿命は、共役鎖長の長さによらず一定の範囲に収斂した⁵⁾。ヘキサソル中での測定結果は一般的によく理解できるのに対し、メタノール中での測定結果は極めて異常であり、これはS_{ICT}準位の特異的な性質と言える。このようにして、S_{ICT}準位の特異的な性質を明らかにし、その存在を実証した。

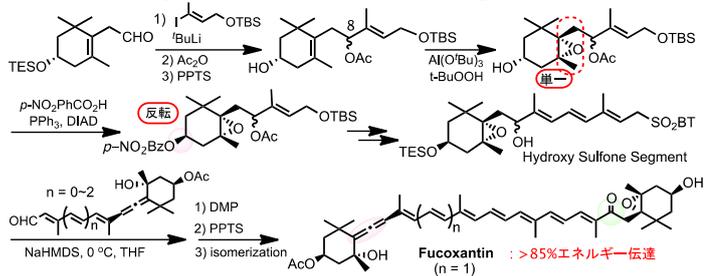
4. フコキサンチンおよびその類縁体合成とS_{ICT}エネルギー準位一般性の検証

S_{ICT}準位の特異的な性質の一般性を検証するため、85%以上のエネルギー伝達効率を誇るフコキサンチンに注目した。この高次カロテノイドは、ペリジニンと同様にアレン結合とそれに共役した7つのオレフィン、β-エポキシケトンから構成され、やはり超分子複合体(FCP Complex)を形成する。その類縁体を含む合成を図に示す。やはり分子の中央で切断しアレンセグメントとヒドロキシスルホンセグメントに分け、両者を結合させ続く異性化の計画を立てた。問題となるスルホンセグメントの合成は、β,γ-不飽和アルデヒドにビニルアニオンを反応させ炭素鎖を伸長した後、6員環上のホモアリル位の水酸基を利用した立体選択的エポキシ化、続く水酸基の立体反転、最後に共役鎖の伸長により実現した。そして、別途合成した3種のアレンセグメントと改良 Julia 反応によりカップリングさせ、天然物、共役鎖長の長いC42、短いC37類縁体の合成、および改良合成法によるC35、C32類縁体の合成に成功した^{6), 7)}。

合成した5種の化合物の超高速時間分解吸収スペクトルを測定した。その結果をペリジニンの結果と共に図に示す。アレンに共役したオレフィンの数(n)が5~8の場合(C35~C42)では、S₁準位の相対的な位置を示すS₁寿命はヘキサソル中で計測され、明らかに共役鎖長が長くなるに伴い安定化され短くなっている。これに対し、S_{ICT}寿命を示すメタノール中では共役鎖長に関係なく一定の範囲に存在している。これらの結果から、ペリジニンで得られた結果は一般性を示し、S_{ICT}準位は確かに存在し、それは共役鎖長によらず一定の範囲に収斂するとの結論を得た。一方、共役鎖長がより短いC32類縁体(n=4)の場合には、C35類縁体に比べ、ヘキサソル中でもより安定化された寿命が計測された。そこで、ペリジニンについてもn=4であるC29類縁体を合成し計測したところ、同様な結果が得られた。すなわち、これらの化合物ではヘキサソル中でもS_{ICT}準位が観測さ



Stereocontrolled Synthesis of Fucoxanthin and Its Analogues



S_{ICT}に関するペリジニンおよびフコキサンチンの結果

S ₁ /ICT 寿命 (単位: ps); 相対的最低エネルギーレベル	C29 C33 C35 C37 C39				
	天然物				
共役鎖数	4	5	6	7	8
ヘキサソル (S ₁):	2900	4200	1000	186	41
メタノール (S _{ICT}):	16	11	9	10	9

S ₁ /ICT 寿命 (単位: ps); 相対的最低エネルギーレベル	C32 C35 C37 C40 C42				
	共役鎖数	4	5	6	7
ヘキサソル (S ₁):	56	182	97	62	22
メタノール (S _{ICT}):	10	17	22	18	15

<結論> * S_{ICT} は確かに存在する。

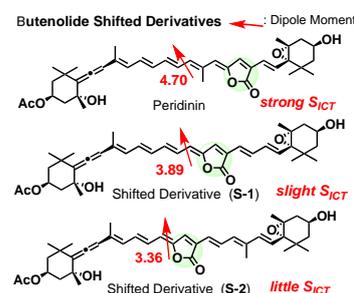
* 共役鎖長によらず一定の範囲に存在する。

<共同研究> H. A. Frank研究室 (Connecticut Univ.)
H. Hashimoto 研究室 (大阪市立大)

れ、これは S_1 準位より安定化されていることを意味する。このような例は初めてのものである⁸⁾。

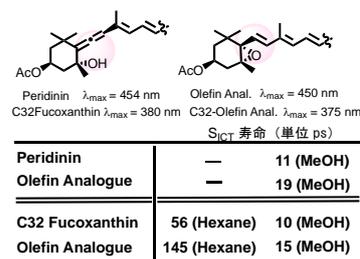
5. イリデンブテノリドの役割⁹⁾

イリデンブテノリドの役割を検証するため合成した開環誘導体は、超高速時間分解吸収スペクトルにおいて明確な結果を与えなかった。そこで、ブテノリド環を分子の中央へシフトさせた2種類の類縁体(S-1、S-2)をデザインし、これらを効率よく合成した。超高速時間分解吸収スペクトルの測定および分子軌道計算を用いて双極子モーメントを算出した結果、双極子モーメントはペリジニン分子で最も大きな値を示し、中央へシフトさせた類縁体 S-2 で最小になった。またそれに伴い、S-2 の S_{ICT} 準位は殆ど観測されなかった。これらの結果から、 S_{ICT} 準位の発現は、分子の分極に基づくことが明らかになった。



6. アレンの効果^{10), 11)}

アレン結合の効果を検討するため、ペリジニン及び C32 フコキサンチンのアレンをエポキシオレフィンへ変形させた類縁体をそれぞれ合成し、それらの S_{ICT} 寿命をペリジニン及び C32 フコキサンチンのそれらと比較した。その結果を表に示す。いずれの場合にも、アレン結合を有する化合物の方が小さな値となり、安定化されていることを示した。この様にアレン結合は分子の分極に貢献し、 S_{ICT} 準位の安定化に寄与することが明らかになった。



7. まとめ

得られた結果は次の様に纏められる。すなわち、**1.** S_{ICT} エネルギー準位の存在を実証、**2.** S_{ICT} エネルギー準位は共役鎖長の長さに関係なく一定の範囲に存在、**3.** S_{ICT} 準位は分子の分極により誘起、**4.** アレンは分子の分極に寄与し S_{ICT} 準位を安定化、である。以上の結果を超効率的エネルギー伝達機構に適用すれば、 S_{ICT} 準位はクロロフィルの Q_y 準位との静電的な強い相互作用により超効率的エネルギー移動を引き起こす、と推定される。しかし、カロテノイドからクロロフィルへのエネルギー伝達効率は PCP や FCP 等の超分子複合体中においてのみ計測可能であるため、エネルギー伝達機構解明にはこれらを自由自在に再構成できることが必要である。これは、今後の重要で本質的な課題と言える。

以上の様に、有機合成は有機分子の魅力な機能を理解するために、本質的に重要であることを幾分か示せたのではないかと考えている。

本研究は関西学院大学理工学部において行われたもので、共同研究者の皆さんに深く感謝します。また、分子分光学における共同研究者の皆様へ改めて感謝いたします。本研究の一部は科研費、私学助成高度化推進事業、学術振興会によるご援助によりました。謹んで感謝いたします。

参考文献

- 1) Kajikawa, T.; Furuichi, N.; Katsumura, S. *Yuki Gosei Kagaku Kyokaiishi*, **2010**, 68, 625; 梶川敬之、勝村成雄、*化学と生物* **2011**, 49, 281.
- 2) N. Furuichi, H. Hara, T. Osaki, H. Mori, S. Katsumura *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 1023.
- 3) Kajikawa, T.; Hasegawa, S.; Iwashita, T.; Katsumura, S. *et al. Org. Lett.*, **2009**, 11, 5006.
- 4) Bautista, J. A.; Frank, H. A. *et al. J. Phys. Chem. B* **1999**, 103, 8751.
- 5) Niedzwiedzki, D. M.; Kajikawa, T.; Katsumura, S.; Frank, H. A. *et al. J. Phys. Chem. B* **2009**, 113, 13604.
- 6) Kajikawa, T.; Okumura, S.; Iwashita, T.; Kosumi, D.; Hashimoto, H.; Katsumura, S. *Org. Lett.* **2012**, 14, 808-811.
- 7) Okumura, S.; Kajikawa, T.; Sakaguchi, K.; Katsumura, S. *et al. Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 407-410.
- 8) Kosumi, D.; Kajikawa, T.; Sakaguchi, K.; Katsumura, S.; Hashimoto, H. *et al. J. Phys. Chem. Lett.* in press, **2014**.
- 9) Enriquez, M.; Kajikawa, T.; Katsumura, S.; Birge, R.; Frank, H. A. *et al. J. Phys. Chem. B* **2012**, 116, 10748-10756.
- 10) Magdaong, N. M.; Kajikawa, T.; Katsumura, S.; Frank, H. A. *et al. Chem. Phys. Lett.* **2014**, 593, 132-139.
- 11) Kosumi, D.; Kajikawa, T.; Sakaguchi, K.; Katsumura, S.; Hashimoto, H. *et al. Chem. Phys. Lett.* **2014**, accepted.

ニュースレター Vol. 28, No. 4 2014年 4月 25日発行

事務局：101-8307 東京都千代田区神田駿河台1-5, 日本化学会生体機能関連化学部会

Office of the Secretary : The Chemical Society of Japan, 1-5 Kanda-Surugadai, Chiyodaku, Tokyo 101-8307, Japan

URL: <http://seitai.chemistry.or.jp/> mail to: seitai@chemistry.or.jp

編集委員：高木昌宏、民秋 均、大槻高史、島本啓子