

「分子複合系の構築と機能」
平成12年度採択研究代表者

清水 敏美

(独立行政法人 産業技術総合研究所
界面ナノアーキテクトニクス研究センター センター長)


「一次元孤立微小空間構造の組織化と機能発現」

1. 研究実施の概要

本研究では、ナノメートルサイズの内孔をもち、長い中空シリンダー状形態をもつ有機系一次元孤立微小空間構造（特に、脂質ナノチューブ類）を非共有結合的に構築し、そのファブリケーションとマニピュレーションに取り組んでいる。さらに、このチューブ構造内部に形成されるナノスケール微小空間をナノキャピラリーやナノ反応容器に見立て、DNAや有用たんぱく質、その他、ナノ微粒子などの極微小物質をゲストとする、従来全く研究例がない「メゾ系ホスト-ゲスト化学」および「液相ナノ空間科学」を取り扱い、基礎科学としての新たな領域を開拓することを目指している。

平成15年度は、脂質ナノチューブ製造のための糖脂質構造の最適化を行い、ナノチューブの効率的生産に最適の分子構造要件を明らかにした。さらに、昨年度より継続中である重合性官能基をもつ自己集合性分子を用いて三次元ナノチューブ状高分子を合成することを試みた。また、脂質ナノチューブ中空シリンダー中（内径50~100nm）への機能性物質導入として金ナノ微粒子（3~10nm）の充填に成功し、世界に先駆けて一次元有機/金属ナノハイブリッドの調製法を開拓した。脂質ナノチューブが提供するナノメートルサイズの中空シリンダー中に拘束された水の極性と微視的構造の解明に関しては、時間分解蛍光分光法やATR-IR法などを駆使して、さらに解析を進めた結果、通常バルク水とは異なる水の存在を確固たる証拠をもって明らかにできた。

2. 研究実施内容

サイズ均一性の高い脂質ナノチューブを大量に、かつ効率的（収率が約100%）に得るため、ナノチューブ構造に自己集合する合成糖脂質の構造最適化を検討した。昨年度は、糖脂質疎水部への不飽和結合の導入数を変化させた際のナノチューブ形成能を検討した。今年度は、糖脂質疎水部への*cis*型二重結合の導入位置を系統的に変化させるために、基本骨格構造として、新たに、二重結合を含むC18炭化水素鎖とD-グルコースとをアミド結合を介して連結させた糖脂質、*N*-(*m-cis*-octadecenoyl)- β -D-glucopyranosylamineを設計した（*m*は、二重結合導入位置）（ **図1**）。そして、*cis*型二重結合が長鎖アルキル鎖部分

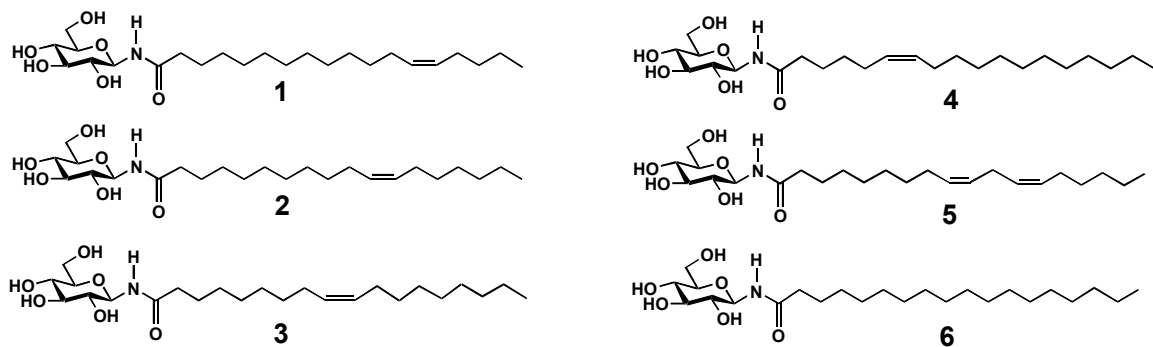
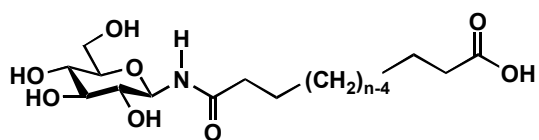


図1 ナノチューブ製造のために構造最適化を行った一連の合成糖脂質

のC13位（1）、C11位（2）、C9位（3）、C6位（4）、C9、C12位（5）に導入された糖脂質と飽和型糖脂質（6）の脂質ナノチューブ形成挙動を走査型（SEM）および透過型電子顕微鏡（TEM）を用いて比較検討した。さらに、二分子膜中でのキラルパッキングに関する情報を円偏光二色性スペクトル（CD）を用いて得た。その結果、C11位にcis型二重結合を1個有する糖脂質（2）が外径サイズ分布において最小の標準偏差をもつ均質なナノチューブをほぼ100%の収率で与えることを見いだした。また、235nmにおける負のコットン効果を与えたCD強度は3、1、2の順に増大し、外径の標準偏差から得られるサイズ均一性と良い相関関係があることがわかった。

次に、世界的にも未達成である脂質ナノチューブの内径を系統的に制御することを



7(n) (n = 12, 13, 14, 16, 18, and 20)

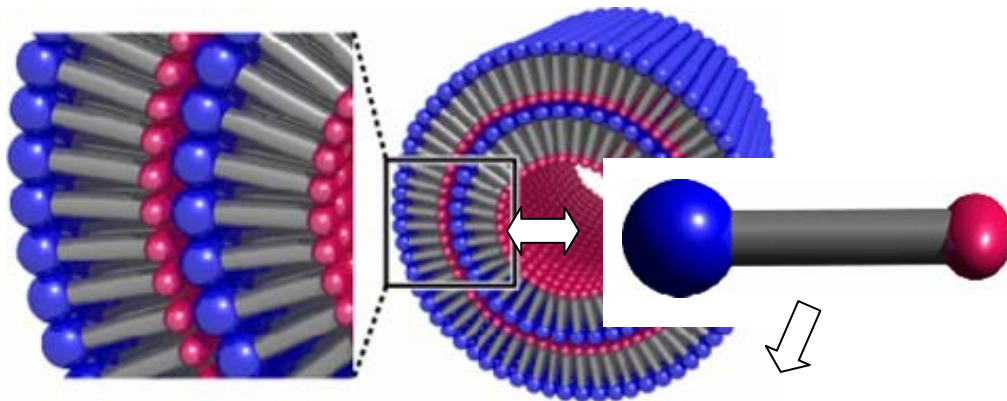


図2 “くさび形” 双頭型脂質 7(n) とそのナノチューブ構造への自己集合様式

目的として、異なる大きさの2つの親水部をもち、スペーサとしてオリゴメチレン鎖を導入した“くさび形”の双頭型脂質 **7 (n)** ($n = 12, 13, 14, 16, 18,$ and 20) を新たに設計し、合成した (図 2)。これらの脂質は水溶液中で自己集合し、内径が14~29nm、外径が30~43nmのナノチューブ構造を与えることを見いだした (図 3)。TEM 写真を用いて、各化合物から得られたナノチューブ像を約250本任意に選び出し、リンタングステン酸で内部が染色された内径サイズ分布を評価した。その結果、オリゴメチレン炭素数を2個増大させるごとに、内径を約1.5nmのステップで増大させて制御できることを世界に先駆けて見いだした。

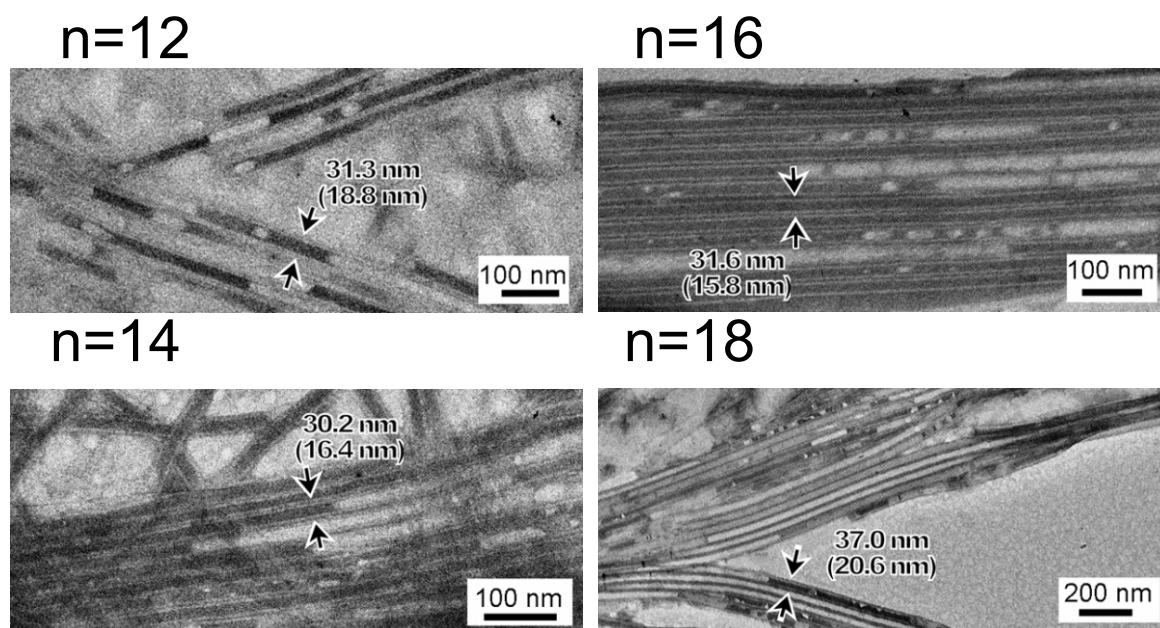


図 3 水中で、**7 (n)** が自己集合して形成したナノチューブの電子顕微鏡写真 (染色剤の浸透によりナノチューブ中空シリンダー部のサイズ評価が可能)

さらに、ナノチューブ構造の熱的安定化を図るために、先の“くさび形”双頭型糖脂質分子 **7 (n)** に重合性ジアセチレン基を導入し、自己集合によるナノチューブ構築および、チューブ状態での重合反応を試みた。その結果、重合性双頭型糖脂質は、内径が80~120nm前後のナノチューブを与えることを見いだした。ナノチューブは紫外線照射により、赤紫色に呈色し、チューブ内の分子集合マトリクスを鋳型として重合反応が進行し、ポリジアセチレンが生成していることがわかった。この重合により、ナノチューブの相転移温度が乾燥時で40℃も上昇し、チューブ状構造が安定化されていることが確認できた。

脂質ナノチューブ中空シリンダー中へのナノサイズの機能性物質を導入する手法を検討した。その結果、脂質ナノチューブ中空シリンダー部に存在する水分を、まず始めに、凍結乾燥で除去した後、得られた乾燥脂質ナノチューブを目的とするゲスト成分を含む水分

散液あるいは水溶液中に粉末状態で滴下することによって、毛細管現象で目的成分が中空シリンダー部に充填導入できることを見いだした。例えば、金ナノ微粒子の充填を目的とする場合、まず、中空シリンダー内部の水分を除去した後、テトラクロロ金(III)酸水溶液を脂質ナノチューブ中へ毛細管力によって誘導充填する。適当な還元剤の存在下、中空シリンダー反応場中での紫外線照射反応により3価の金を0価に還元して金ナノ微粒子を形成させることができた。合成鑄型を利用して初めて金ナノ微粒子を鑄型内部に一次的に組織化させることに成功した(図4)。この新規な一次元ナノハイブリッド構造は、金ナノワイヤー構造の全周辺部が絶縁体の有機物で被覆されており、このままでナノ被覆導線となり得る可能性がある。

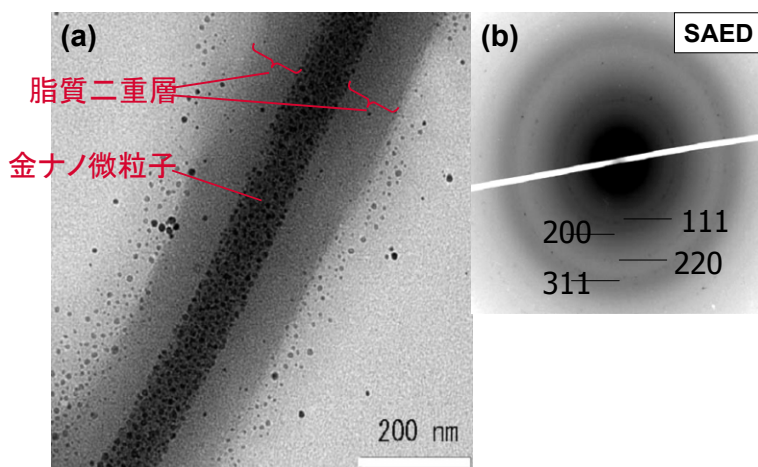


図4 (a) 金ナノ微粒子(3~10nm径)が糖脂質2から成る脂質ナノチューブ中空シリンダー内部に充填された構造を示す透過型電子顕微鏡写真と(b) その電子線回折写真

二重結合を1個有するカルダニルグルコシド系糖脂質(昨年度報告)のナノチューブ形成に関連して、まず赤外分光法によって得られた構造解析結果と分子動力学法、および密度関数理論計算を組み合わせ、最安定構造を形成させた。その安定型構造をとらせた合計256分子から構成される脂質膜を仮定して最適な分子充填挙動を分子動力学法を用いて解析した。その結果、このカルダニルグルコシド系糖脂質から成る脂質膜断片はいつもサドル型の平衡形態をとることがわかった。最終的には、分子構造安定化、膜断片安定化、長周期構造安定化といったボトムアップ型の理論的アプローチにより、実験で得られた分子キラルパッキングに基づくコイル状リボンやナノチューブ形態を再現することに成功した。

脂質ナノチューブ内の中空シリンダー状ナノ空間に閉じ込められた水の構造及び動的物性をATR-IR法と直接差分法を組み合わせ、及び時間分解レーザー蛍光分析によって明らかにした。その結果、脂質ナノチューブ内の水は、室温の状態の水に比べて、低温におかれた状態の水のように水素結合が発達していること、さらに、内壁近傍では水が強

く不動化されていること明らかにした（**図5**）。また貯蔵や輸送デバイスとしての応用を目指し脂質ナノチューブの内径・外径を自己集合時における冷却速度を制御することで、数10nmオーダーで変化させ、かつGFPといった蛍光タンパク質や磁性ナノ微粒子等をチューブ内に内包させることにも成功した。

3. 研究実施体制

(1) 「産業技術総合研究所 界面ナノアーキテククス研究センター」研究グループ

- ① 清水敏美（産業技術総合研究所界面ナノアーキテククス研究センター、研究センター長）
- ② 研究項目：一次元孤立微小空間構造の組織化

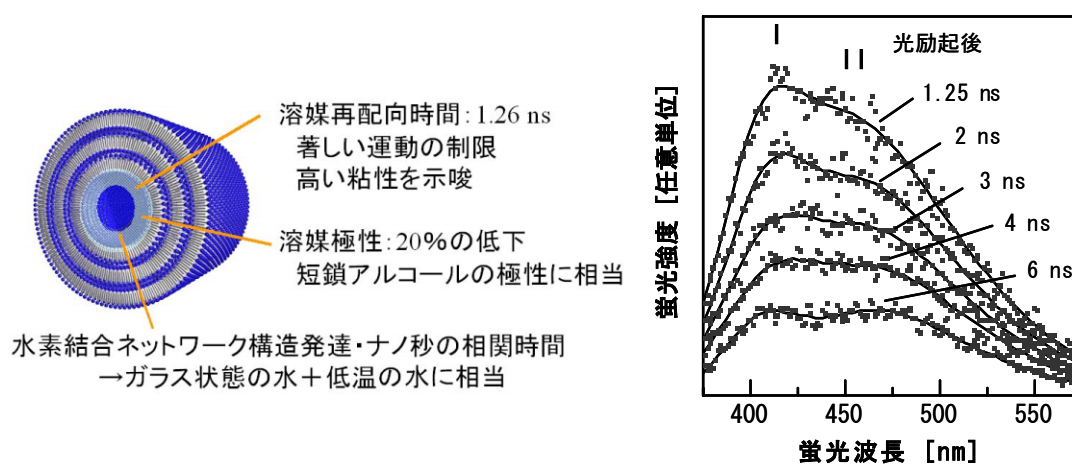


図5 (左) 脂質ナノチューブ中空シリンダー内部に閉じこめられた水の特徴と (右) 実験的根拠の一つを与えた8-アニリノ-1-ナフタレンスルホン酸の時間分解蛍光スペクトル

有機ナノチューブの形態・構造制御と高次組織化、メゾ系ホスト-ゲスト化学に関する研究

(2) 「東京大学大学院新領域創成科学研究科」研究グループ

- ① 澤田嗣郎（東京大学大学院新領域創成科学研究科教授）
- ② 研究項目：一次元孤立微小空間構造の機能発現
有機ナノチューブを利用したマイクロ包接・分離・放出機能、液相ナノ空間科学に関する研究

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文発表

- Masayuki Futamata, Characterization of the first layer and second layer adsorbates on Au electrode using ATR-IR spectroscopy, *J. Electroanal. Chem.*, **550/551**, 93–103 (2003).
- George John, Hiroyuki Minamikawa, Mitsutoshi Masuda, Toshimi Shimizu, Liquid crystalline cardanyl β -D-glucopyranosides, *Liq. Cryst.*, **30**, 6, 747–749 (2003).
- Masayuki Futamata, V. Goutev Nikolay, ATR-SEIRA spectroscopy of carboxyl terminated self-assembled monolayers on Au, *Appl. Spectrosc.*, **57**, 5, 506–513 (2003).
- Masayuki Futamata, Yoshihiro Maruyama, Mitsuru Ishikawa, Local Electric Field and Scattering Cross Section on Ag nanoparticles under Surface Plasmon Polariton Resonance using Finite Difference Time Domain Method, *J. Phys. Chem.*, **107**, 31, 7607–7617 (2003).
- Toshimi Shimizu, George John, Akihiro Fukagawa, Kozo Ito, Hiroshi Furusawa, Molecule-Up Fabrication and Manipulation of Lipid Nanotubes, *Int. J. Nanoscience*, **1**, 465–469 (2003).
- Jong Hwa Jung, Seiji Shinkai, Toshimi Shimizu, Nanometer-Leve Sol-Gel Transcription of Cholesterol Assemblies into Monodisperse Inner Helical Hollow of the Silica, *Chem. Mater.*, **15**, 2141–2145 (2003).
- Bo Yang, Shoko Kamiya, Hiroharu Yui, Mitsutoshi Masuda, Toshimi Shimizu, Effective Shortening in Length of Glycolipid Nanotubes with High Axial Ratios, *Chem. Lett.*, **32**, 1146–1147 (2003).
- Jong Hwa Jung, Seiji Shinkai, Toshimi Shimizu, Organic Supramolecular Architectures and Their Sol-Gel Transcription to Silica Nanotubes, *The Chemical Record*, **3**, 212–224 (2003).
- Jong Hwa Jung, Seok-Hoon Lee, Jong Shin Yoo, Kaname Yoshida, Seiji, Shinkai, Toshimi Shimizu, Creation of Double Silica Nanotubes by Using Crown-Appended Cholesterol Nanotubes, *Chem. Eur. J.*, **9**, 5307–5313 (2003).
- Qingmin Ji, Rika Iwaura, Masaki Kogiso, Jong Hwa Jung, Kaname Yoshida, Toshimi Shimizu, Direct Sol-Gel Replication without Catalyst in an Aqueous Gel System: From a Lipid Nanotube with a Single Bilayer Wall to a Uniform Silica Hollow Cylinder with an Ultrathin Wall,

Chem. Mater., **16**, 250–254 (2004).

- George John, Mitsutoshi Masuda, Jong Hwa Jung, Toshimi Shimizu, Unsaturation Effect on Gelation Behavior of Aryl Glycolipids, *Langmuir*, **20**, 2060–2065 (2004).
- Bo Yang, Shoko Kamiya, Kaname Yoshida, Toshimi Shimizu, Confined organization of Au nanocrystals in glycolipid nanotube hollow cylinders, *Chem. Commun.*, **2004**, 500–501.

(2) 特許出願

H15年度特許出願件数：3件（国内）、2件（外国）

（研究期間累積件数：国内20件 外国10件）