

らせんの分子ダイナミクスを用いたペプチド分子ナノワイヤ中の電子移動反応の高速化技術の開発
Investigation on electron transfer reaction *via* peptide molecules

京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 助教 宇治 広隆
Department of Material Chemistry, Kyoto University, **Hiroataka Uji**

要旨

究極の小型デバイスである分子デバイスの発展を目指し、環境エネルギーを用いたエネルギーハーベスティングを可能にするペプチド分子ナノワイヤの開発を目的に研究を行った。柔らかい構造のヘリックスを構築するヘリックスペプチドの合成を試みた。また、側鎖がらせん状に配列するペプチドナノチューブ(PNT)を構築した。アクセプター性のクロラニルを導入することで、正バイアス方向に電流が良く流れる n 型半導体 PNT を構築した。また、クロラニルと TTF を側鎖に持つ環状 β ペプチド分子を共結晶化させることで、PFM 測定においてヒステリシス応答を示す強誘電性 PNT を構築した。更に、外部 pH に応答して側鎖の配列のみを変化させるナノチューブの構築にも成功した。この材料は、天然の光合成蛋白質で見られるように、pH で電子移動を OFF にすることで過剰な電子移動反応から分子デバイスを保護する保護回路として応用できると考えられる。

1. はじめに

小型センサーの社会実装は IoT の実現に不可欠である。“trillion sensors universe”が提唱されているが、これは 2020 年代後半までに 45 兆個のセンサーを社会実装して現代社会が抱える諸問題を解決することを目的としている。特に少子高齢化社会を迎える日本にとって生体をモニターするセンサーの役割は非常に大きい。これらセンサーのサイズダウンは、如何に効率良く低電流で駆動できるかが課題である。そのためには、ナノサイズの電源がセンサーとセットになった分子素子が最も理想的である。ナノデバイスの環境を考えると室内光でも 10 nm 四方辺り毎秒 250 個の光子が照射される。つまりこの分子素子は、光を吸収する発色基からセンサー部位に電子を少なくとも 1 秒間に 250 個以上輸送できる能力が必要である。これは有機分子では高々数 nm 程度の範囲である。環境エネルギーを用いたエネルギーハーベスティングを可能にするには、分子素子の電源と機能部位を繋ぎ電子移動の担い手となる分子ワイヤ中の電子移動反応の高速化技術の確立が必要である。

本研究では、分子ワイヤ材料として規則正しい構造を構築するペプチド分子の二次構造に着目して、ペプチド分子ワイヤを介した電

子移動反応をより高速化させることを目的とした。具体的には、ヘリックスペプチド分子と、らせん状に側鎖官能基が配列するペプチドナノチューブを材料として選択した。ヘリックスペプチドにおいては、ヘリックスの構造を柔らかくすることで分子運動を促進させ、電子移動を加速化させることを目指した。従来のヘリックスペプチドは、らせん構造内に 2 本から 3 本の水素結合ネットワークがあり強固な構造を有している。本研究では、N-アルキル化アミノ酸を導入することで、らせん

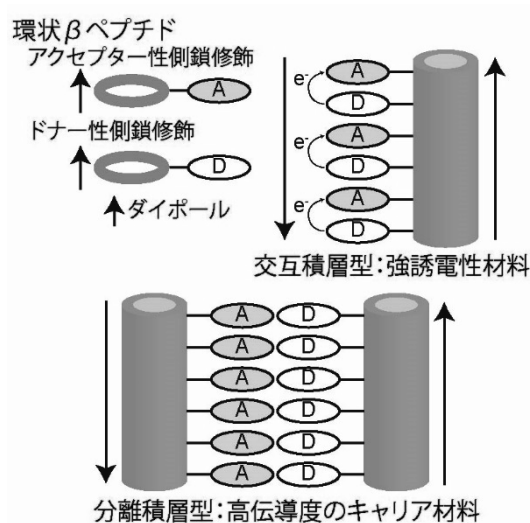


Figure 1. Schematic illustration of peptide nanotube composed of cyclic- β -peptides.

構造内の水素結合ネットワークを一部切断し、分子ダイナミクスを促進させることで電子移動の高速化を目指した。

一方で、ペプチドナノチューブは Figure 1 に示すようにドナー分子とアクセプター分子を分離積層型で配列させることで、電子移動を高速化させることを目指した。

2. 実験方法

ペプチド分子の合成は、既存の液相法による逐次縮合により合成した。合成した目的化合物は $^1\text{H-NMR}$ 、ESI-MS 測定を用いて同定した。

3. 実験結果

3.1 ペプチド分子の合成

3.1.1 *N*-alkyl Ala の合成

α ヘリックス構造のらせんを構築する *N*-Alkyl-Ala の合成は、Ala のメチルエステル体に対応するアルデヒドを反応させイミンを形成後、シアノ水素化ホウ素ナトリウムによる還元的アミノ化反応を用いてイミンをアミンへと還元させることで行った。具体的には、H-Ala-OMe とイソブチルアルデヒドを用いて還元的アミノ化反応を行うことで *N*-isoButyl-Ala-OMe の生成を確認した。次に、得られた *N*-isoButyl-Ala-OMe と Boc-Aib-OH との縮合反応を縮合剤に DCC を用いて検討したところ、痕跡量しか生成が確認できなかった。反応温度を室温から 45 度あるいは 50 度まで加熱した条件や、縮合剤として HATU や EEDQ を用いて反応の検討を行ったが目的化合物は得られなかった。また、Boc-Aib-OH の C 端を二塩化オキサリルを用いて酸塩化物化して、*N*-isoButyl-Ala-OMe との縮合反応を試みたが、この条件でも目的反応の進行は痕跡量しか確認されなかった。Ala のアミノ基に導入したイソブチル基と Aib の $\text{C}\alpha$ のメチル基の立体障害により反応速度が著しく低下しており、既存の縮合条件では合成が困難であることが分かった。マイクロウェーブ反応装置で 100 度に加熱した場合、*N*-

isoButyl-Ala の縮合反応が進むという報告¹が最近になってなされたので、当該条件について今後検討を行う予定である。

3.1.2 環状ペプチド分子の合成

β シート型分子集合体を形成することで、らせん構造を構築する環状ペプチド分子は β アミノ酸 3 量体から構成されており、Asp あるいは Lys の側鎖に官能基を導入した分子を合成した。具体的な環骨格構造は cyclo(β -Asp- β -Ala- β -Ala)、cyclo(β -Lys- β -Ala- β -Ala) あるいは、cyclo(β -Asp-ethylenediamine-succinic acid)、cyclo(β -Lys-ethylenediamine-succinic acid) の構造を設計した。また、機能性官能基として、電子アクセプター基であるクロラニル(CP3CAA、CP3CES)またはナフタルイミド(CP3Npi)、電子ドナー基であるテトラチアフルバレン(CP3TAA、CP3TES)を選択し、それぞれの環状ペプチドを合成した。

3.2 PNT の調製

新たに合成した環状ペプチド分子は蒸気拡散法、あるいは溶媒拡散法を用いて結晶化を試みた。例えば、CP3CAA の結晶は良溶媒に純水、貧溶媒にメタノールもしくはジオキサ

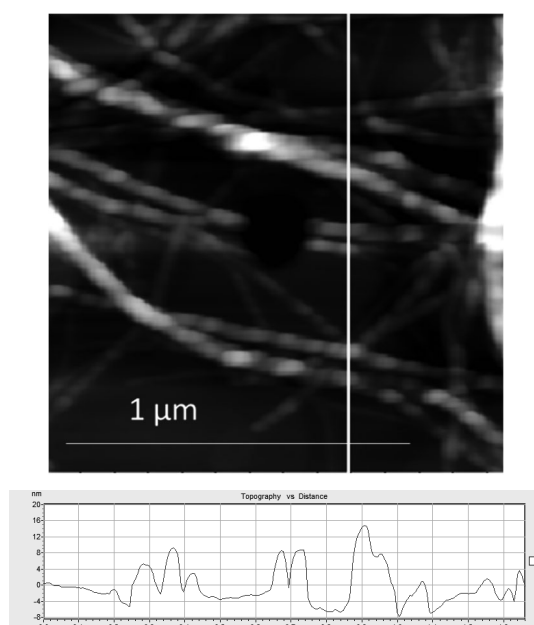


Figure 2. AFM image and height profile of the PNT of CP3CAA on gold mica substrate.

ンを用いた蒸気拡散により調製した。

偏光顕微鏡により、貧溶媒にメタノールを用いたものでは針状結晶が、ジオキサンを用いたものではひも状結晶が観察された。針状結晶を鋭敏色板下で観察したところ、結晶の長軸と短軸において屈折率異方性がみられ、長軸方向のほうが短軸より屈折率が大きいことが分かった。これは長軸方向に配列しているアミド基がクロラニルよりも屈折率が大きいためと考えられ、環状ペプチド骨格が積層することでペプチドナノチューブが形成していることが示唆された。また、AFM 観察では、長さ数 μm 、高さ 10 nm 程度のナノチューブの分子集合体が見られた (Figure 2)。

3.3 PNT の I-V 特性解析

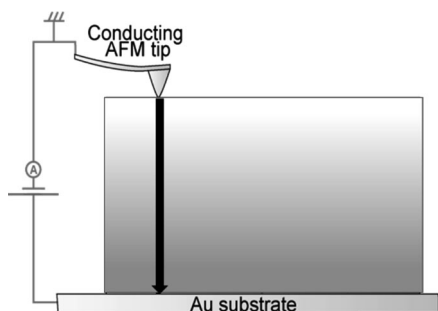


Figure 3. Illustration of I - V measurement based on AFM.

ナノチューブの電子特性を調べるため、導電性 AFM を用いて電流-電圧特性を調べた。具体的には、金マイカ上に CP3CAA の PNT 懸濁溶液をキャストした後、AFM を用いて

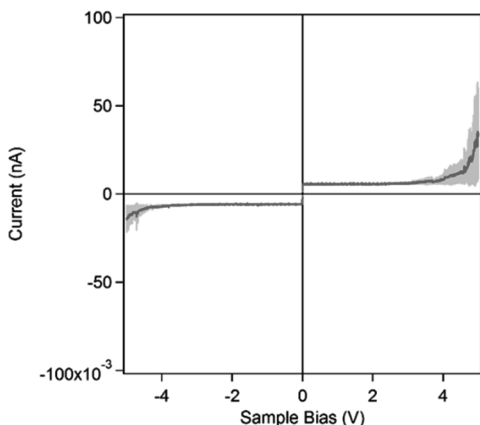


Figure 4. I - V curves of CP3CAA crystals.

Figure 3 に示す形で I - V 測定を行った。結晶の高さが 10 nm, 25 nm の 2 種類のサンプルについて測定を行った。

10 nm の厚みのナノチューブバンドルでは正負のバイアスで対称的な I - V 曲線となり、25 nm の結晶では正バイアスを印加したときに電流が流れやすくなる非対称な電流-電圧特性を示した (Figure 4)。10 nm の厚みのナノチューブバンドルで対称的な特性を示したのは、厚みが小さいために絶縁破壊が生じたためと考えられる。一方で、25 nm の厚みのナノチューブバンドルで生じた非対称性は、クロラニルの n 型特性によるものと考えられる。具体的には、Figure 5 のエネルギーダイアグラムを用いて説明できる。DFT 計算により CP3CAA の HOMO, LUMO はクロラニル部位の HOMO, LUMO と一致し、その LUMO のエネルギーは -3.9 eV であることが分かった。これは金のフェルミ準位に近い。そのため、金基板に正バイアスを印加すると界面の LUMO のエネルギーが減少し、電子密度が増加するため電流がより流れやすくなるという、金属- n 型半導体特性を示したと考えられる。

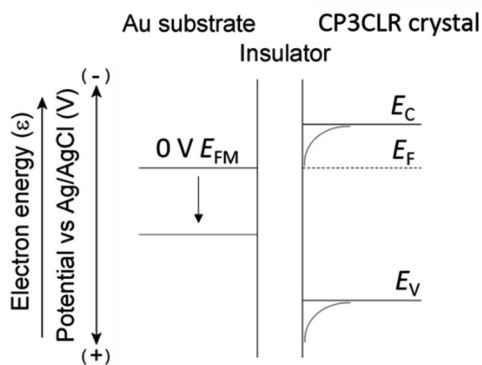


Figure 5. Energy diagram of Au substrate and CP3CAA crystal.

3.4 PNT の表面電位解析

PNT の側鎖官能基の組織化によるペプチドナノワイヤの機能化を図るため、アクセプター性 (A) の側鎖を有する CP3CES とドナー性 (D) の側鎖を有する CP3TES を組織化することを試みた。D-A の組織化の度合いを

評価するため、各種 PNT を金基板の上にキャストし、KFM を用いて表面電位を評価した。

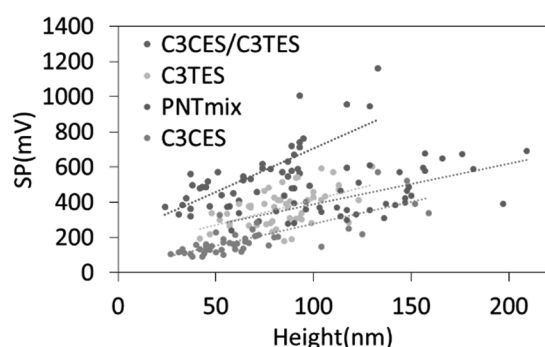


Figure 6. SP of CP3CES/CP3TES, CP3TES, CP3CES, PNTmix of CP3CES PNT/CP3TES PNT.

室温における表面電位を CP3TES, CP3CES, 共結晶 PNT (CP3CES/CP3TES) および CP3TES と CP3CES の PNT を後から混合させた PNT mix の各サンプルについて測定した。ナノチューブバンドルの厚みに対して表面電位をプロットしたグラフを示す (Figure 6)。共結晶 PNT の表面電位は単体の表面電位よりも大きくなり、PNT 内で CP3CES と CP3TES が混合して側鎖間でクロラニルと TTF の電荷移動錯体を形成していることが示唆された。また、CP3CES と CP3TES の PNT を後から混合した PNT mix は CP3CES/CP3TES よりも小さな表面電位となっている。これは、PNT mix ではモノマー同士を混合したものと比較して電荷移動錯体の形成が起こりにくいためと考えられる。このことから、混合により表面電位が増加した共結晶 PNT では一本の PNT 内に CP3CES と CP3TES が錯形成をしている交互積層型の D-A 対が構築されていると考えられる。

3.5 PNT の PFM 測定

CP3CES/CP3TES の PNT では、側鎖のクロラニルと TTF が交互積層型の D-A 対が構築していることから、電子移動材料ではなく強誘電体材料として特性が期待できるため、PFM を用いて CP3CES/CP3TES の co-PNT を金マイカ上にキャストしたサンプルについて

誘電体特性を評価した。Figure 7 に示す通り、バタフライ型の amplitude の応答と、ヒステリシス型の phase の応答が得られた。このことから、CP3CES/CP3TES の共集合体化 PNT は強誘電性を示すと考えられる。しかしながら、ヒステリシス型の応答はサンプル中の 20% 程度であり、共集合体によるサンプルの不均一性により歩留まりが悪いという課題も示された。

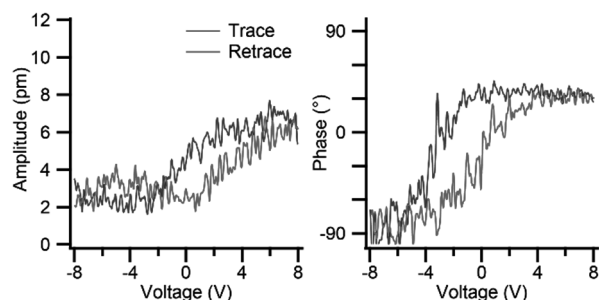


Figure 7. PFM amplitude and phase loops against bias voltage for CP3CES/CP3TES PNT on a gold mica substrate.

3.6 PNT の側鎖官能基の pH 応答制御

最後に、外部刺激応答により PNT の側鎖官能基がスイッチング特性を示すことを見出した。Figure 8 に示すように CP3Npi からなる PNT はナフタルイミドに導入したジエチルアミノ基が酸性条件ではプロトン化することで、隣り合う側鎖間でクーロン反発が働き、側鎖の規則的な構造が崩れることが分かった。この PNT の特徴的な特性としては、環状ペプチドのスタッキング間隔が 4.6 Å と大きいため、2 つ隣の側鎖間ではクーロン反発の大

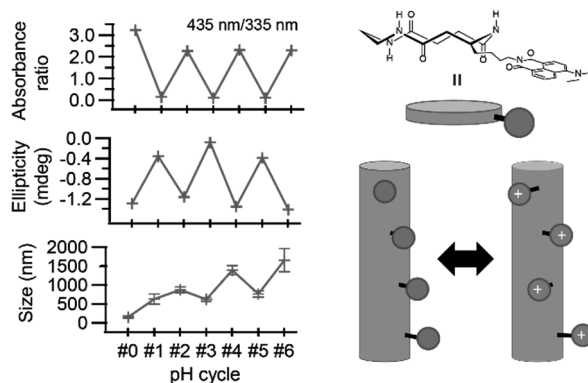


Figure 8. pH-responsive UV, CD and DLS cycle profiles of CP3Npi, and schematic illustration of pH responsive behavior of CP3Npi peptide nanotube.

きさが熱エネルギーと同等まで減少するため、酸性条件下においてもペプチドナノチューブとしての分子集合体自体の構造には変化がなく、側鎖の配列のみ pH で変化するというものである。具体的には、塩基性条件では側鎖は左巻きのらせん配列を取っているのに対して、酸性条件下ではランダムな配列になることが分かった。

4. まとめ

還元的アミノ化により *N*-Alkyl-Ala の合成に成功したが、アミノ基に修飾したアルキル基の立体障害により、続く縮合反応がほとんど進まないことが明らかになった。今後はマイクロウェーブ反応などを導入することで反応条件をさらに検討して、Aib と *N*-Alkyl-Ala の交互配列を用いた新規ヘリックスペプチド分子の合成を完成させ、ヘリックスの柔らかさと電子移動反応の関係について評価する。

また、側鎖がらせん状に配列する環状 β ペプチドの分子集合体である種々のペプチドナノチューブを構築した。アクセプター性のクロラニルを導入した CP3CAA は、正バイアス方向に電流が良く流れる n 型半導体として機能することが分かった。このクロラニルと TTF を側鎖に持つ環状 β ペプチド分子を共結晶化させることで、分離積層型の錯形成により高伝導度の分子ワイヤの構築を目指したが、各種測定から交互積層型の錯形成を取っていることが分かった。このため、構想していた電子移動材料の構築とはならなかったが、PFM 測定から、得られた分子ワイヤは強誘電性を示すことが分かった。このことから、本研究で得られたペプチド材料は高密度なメモリ材料として機能することが期待できる。また、本研究の過程で、アクセプター分子の候補として用いたナフタルイミドを側鎖に有する環状 β ペプチドである CP3Npi は、酸性と塩基性の pH 変化に応答して、側鎖部位の配列のみが変化するという新たな現象を見出した。分子集合体の外部刺激応答において、分子集合体の構造が変化することは良く報告さ

れているが、機能性部位の配向状態のみが変化するのはあまりなく、新しい材料である。このような特徴的な応答を生じる材料は、天然の光合成蛋白質で見られるように、pH で電子移動を OFF にすることで過剰な電子移動反応から分子デバイスを保護する保護回路として応用できると考えられる。

謝辞

本研究は京都大学大学院工学研究科材料化学専攻の嶋谷優希氏、釜野雄輔氏、大村紘司氏、田畑有基氏、木村俊作教授との共同研究です。

また、本研究を援助して頂いた公益財団法人京都技術科学センターに感謝致します。

参考文献

1. J. Morimoto, Y. Fukuda, D. Kuroda, T. Watanabe, F. Yoshida, M. Asada, T. Nakamura, A. Senoo, S. Nagatoishi, K. Tsumoto and S. Sando, *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, **141**, 14612-14623.

研究成果発表

- 1) Tabata, Y.; Kamano, Y.; Kimura, S.; Uji, H., Engineering pH-responsive switch of donor- π -acceptor chromophore alignments along peptide nanotube scaffold. *Rsc Adv* 2020, DOI: 10.1039/d0ra00231c.
- 2) Ohmura, H.; Tabata, Y.; Kimura, S.; Uji, H., Piezoelectric properties reflecting nanostructures of tetrathiafulvalene and chloranil complexes using cyclic peptide nanotube scaffolds. *submitted*.