

光駆動分子バルブの開発

Development of a Light-Powered Molecular Valve

東邦大学	桑原 俊介
派遣期間	2014年9月1日～2016年3月22日
研究機関	Department of Chemistry, Rice University Houston, Texas 77005, United States
研究指導者	Prof. James M. Tour

A “molecular machine” is a molecule or a molecular system capable of converting external energy into mechanical motion. Recently we designed molecular valves, which have a potential to regulate the flow of molecules by blocking and opening passageways. To clarify the rotation of the rotor part of the molecular valves by fluorescence correlation spectroscopy (FCS), we developed photostable Cy5-COT fluorophores. By analyzing the rotation of a control molecule (unimolecular submersible nanomachines; USN), it was demonstrated that the Cy5-COT fluorophores do not affect the rotation of the rotor part. We found that the Cy5-COT fluorophores provide an almost twofold increase in photostability compared to the previous Cy5 fluorophores. This improvement in photostability will further the study of the behavior of the molecular valves in solution.

研究目的

分子マシンとは、外部から得たエネルギーを機械的動作に変換する分子のことである。これまでに分子ブレーキ、分子ラチェット、分子モーターなど、単純な動作を示す部品が合成されており、現在これらの部品を組み合わせた分子マシンに仕事をさせるという試みが活発に行われている^{1,2}。

我々はこれまでに、光を照射することで分子の一方方向輸送を制御する分子マシンである「光駆動分子バルブ」を設計した。分子バルブは中心のクラウンエーテル部分でカチオン性の分子を吸着することができる。その後、光照射によりローター部分を一方方向に回転させることにより、分子を一方方向に輸送することができると考えている。このような分子バルブは、金属有機構造体 (MOF) と組み合わせた物質貯蔵材料や、薬剤の捕捉と放出を制御するドラッグデリバリーシステム (DDS) など、幅広い分野への波及効果が期待できる。

これまでに合成した分子バルブは、中心のローター部分の回転が速く、一方方向の回転を明らかにすることが困難であった。一方、ライス大学の James Tour

らは、分子マシンの単一分子が一方方向に移動していく過程を蛍光相関分光 (Fluorescence Correlation Spectroscopy: FCS) で調べることにより、分子マシンの動作を議論している³。本研究では、FCS法を分子バルブに適用し、分子バルブの一方方向の回転を明らかにすることを目的とした。

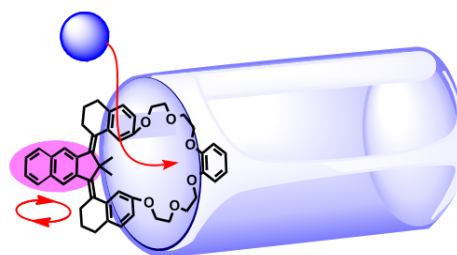


Figure 1. Light-Powered Molecular Valve

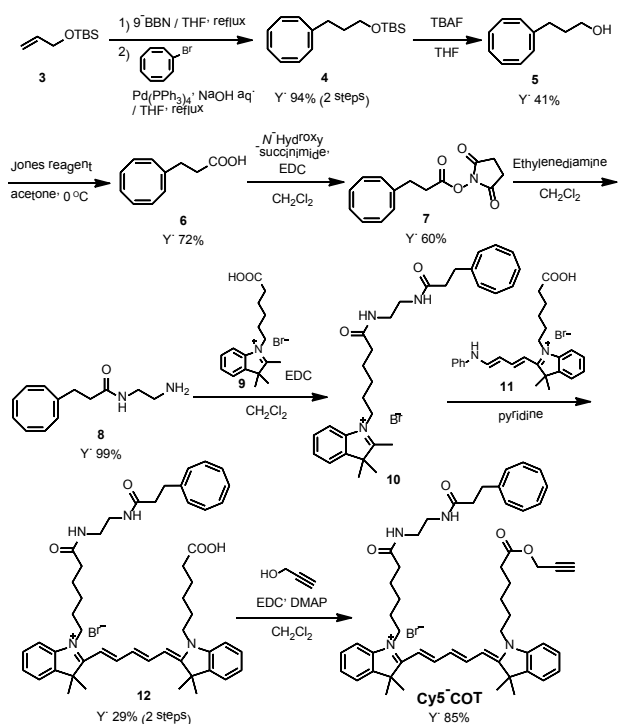
研究経過と考察

FCS法を用いて分子バルブの単一分子の動作を調べるためには、1) 計測に必要な時間 (1.5 秒以上) に消光せず、2) 分子バルブの回転動作を阻害しない蛍光色素が必要である。今回、蛍光色素の候補とし

シアニン系蛍光色素 Cy5 を選んだ。Cy5 の励起波長 (> 630 nm) は、分子バルブの動作のための励起波長 (300-400 nm) と離れており、分子バルブの動作を阻害しない。しかし Cy5 はフォトブリーチングにより消光するなど、安定性が低いことに問題が残されていた。今回、フォトブリーチングによる消光を防ぐため、シクロオクタテトラエンを連結した蛍光色素 Cy5-COT を合成した (scheme 1)。

オレフィン **3** を 9-BBN でヒドロホウ素化した後、1-ブロモシクロオクタ-1,3,5,7-テトラエンとの鈴木-宮浦カップリングにより TBS エーテル **4** を得た。**4** の TBS 基の除去、Jones 酸化によりカルボン酸 **6** を得た。**6** に *N*-ヒドロキシスクシンイミドを作用させ活性エステル **7** とした後、エチレンジアミンを作用させ、アミン **8** を得た。**8** とカルボン酸 **9** を縮合させてアミド **10** とした後、イミニウム塩 **11** とカップリングさせカルボン酸 **12** を得た。最後に、連結部位としてアルキンを導入し、目的物である Cy5-COT を得た。

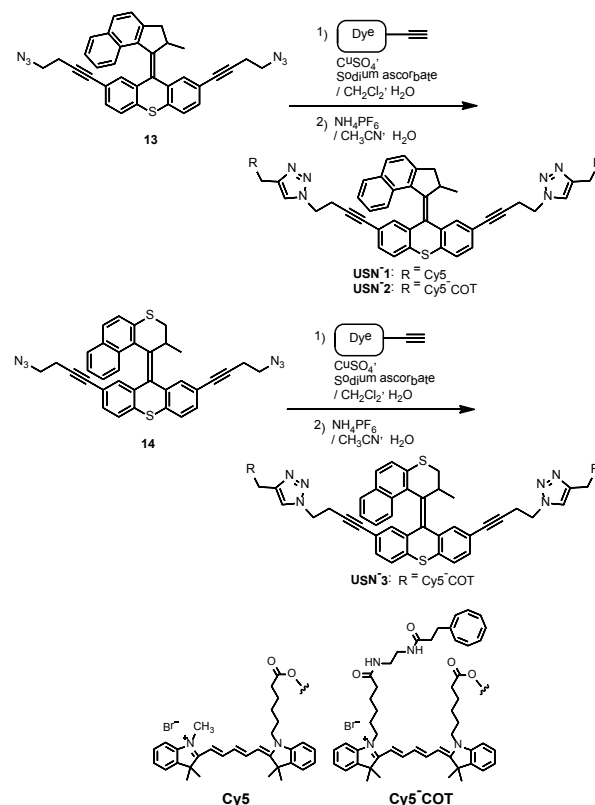
Scheme 1



はじめに、これまでに単一方向の回転を起こすことが明らかになっている分子マシン (Unimolecular Submersible Nanomachine: USN)^{3,5} を用いて、Cy5-COT が FCS 法に適用できるかを調べた。アジド

13、**14** に対し Cy5 または Cy5-COT を作用させ、連結体 USN-1-3 を得た (Scheme 2)。

Scheme 2



次に、USN-3 を用いて光照射による回転挙動を調べた。USN-3 の重アセトニトリル溶液に 365 nm の光を照射し ¹H NMR で追跡したところ、88%の割合で不安定異性体が生成した。この不安定異性体の溶液を 60 °C に加熱した結果、99%の割合で USN-3 に戻ることがわかった。以上の結果から、Cy5-COT は USN の一方向の回転を阻害しないことがわかった。

続いて、FCS を用いて USN-1、USN-2 の光安定性を調べた。ガラス基板上的 USN-1、USN-2 の DMSO 溶液に 637 nm の光を照射した。一定時間ごとに単一分子に相当する蛍光スポットを検出した (80 x 80 μm², 500 frames, 50 ms/frame)。蛍光スポットは時間が経過するにつれて消光し、その際の蛍光強度、スポットの数、および消光するまでの寿命 (τ_{on}) を追跡した (Figure 2, 3)。

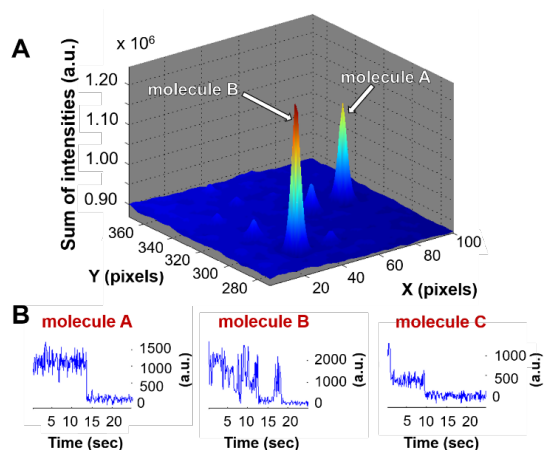


Figure 2. (A) 3D plot of fluorescence intensity across a section of the imaging surface depicting the fluorescence of two USN-2 molecules. (B) Time traces of three representative molecules showing the temporal behavior of fluorescence emission until photobleaching.

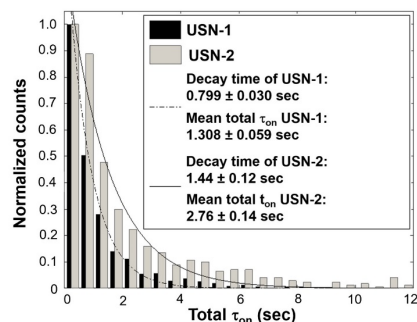


Figure 3. Histogram comparison of total on-time. Each histogram was fitted to an exponential fit and the average decay times were calculated. A simple average over all total-on-times was calculated and presented as Mean total τ_{on} .

USN-1 の場合、731 個の分子を蛍光スポットとして検出した。1.5 s 以上の長寿命の分子数は全体の 23%であった。一方、USN-2 の場合、631 個の分子を検出し、1.5 s 以上の長寿命の分子数は全体の 43%と大幅に増加した。さらに USN-1 と USN-2 の全ての τ_{on} の平均値、および減衰曲線より見積もった平均寿命を求めた (Figure 3)。その結果、USN-2 の τ_{on} の平均値および平均寿命は、USN-1 と比べて 2 倍程度増加することが分かった。

以上、本研究において合成した蛍光色素 Cy5-COT は、FCS 測定による分子マシンの動作の追跡に十分な光安定性を示すことがわかった。今後、Cy5-COT を分子バルブに連結し、照射によって分子バルブを回転させながら動作を追跡することで、分子バルブの一方方向の回転運動を明らかにすることができると考えている。

参考文献

1. Kinbara, K.; Aida, T. *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 1377-1400.
2. Shirai, Y.; Morin, J.-F.; Sasaki, T.; Guerrero, J. M.; Tour, J. M. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 1043-1055.
3. García-López, V.; Chiang, P.-T.; Chen, F.; Ruan, G.; Martí, A. A.; Kolomeisky, A. B.; Wang, G.; Tour, J. M. *Nano Lett.* **2015**, *15*, 8229-82-39.
4. Altman, R. B.; Terry, D. S.; Zhou, Z.; Zheng, Q.; Geggier, P.; Kolster, R. A.; Zhao, Y.; Javitch, J. A.; Warren, J. D.; Blanchard, S. C. *Nature Methods* **2012**, *9*, 68-72.
5. Klok, M.; Boyle, N.; Pryce, M. T.; Meetsma, A.; Browne, W. R.; Feringa, B. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10484-10485.

研究の発表

口頭発表

なし

誌上発表

1. Synthesis and Photostability of Unimolecular Submersible Nanomachines: Toward Single-Molecule Tracking in Solution
García-López, V.; Jonathan Jeffet, J.; Kuwahara, S.; Martí, A. A.; Ebenstein, Y.; Tour J. M. *Org. Lett.*, *in press*.