

整理番号	H28-J-136	報告者氏名	田丸 俊一
------	-----------	-------	-------

研究課題名 バイオマス材料を基盤とする高効率光捕集システムの構築

<代表研究者> 機関名：崇城大学工学部 職名：教授 氏名：田丸 俊一

<共同研究者> 機関名： 職名： 氏名：  
 機関名： 職名： 氏名：  
 機関名： 職名： 氏名：  
 機関名： 職名： 氏名：

<研究内容・成果等の要約>

天然由来の多糖であるカードランを原料として、酵素反応を利用する事で、カードランの側鎖にアミロース鎖が導入された、半人工型の分岐多糖アミロースグラフトカードラン (AGC) を合成することに成功した。前駆体の合成過程を調節することで、様々なアミロース側鎖導入率を持つAGCを調製することが出来た。これらのAGC上のアミロースはヨウ素デンプン反応に対して陽性であったことから、アミロース側鎖は本来のらせん構造形成能を有していることが確認され、その平均的な鎖長は概ね分子量10,000程度であることが示された。一方、カーボンナノチューブ (CNT) とAGCの錯形成を調査したところ、水溶性のCNT・AGC錯体の形成が認められた。この錯体においてCNTはカードラン主鎖部分に選択的に包摂されていることが明らかとなった。以上の結果から、AGC上のカードラン主鎖もアミロース側鎖も、本来のらせん構造形成能と物質包摂能を保持していることが明らかとなり、かつ、カードラン主鎖とアミロース側鎖の間では明確な物質包摂能の違いがあることが示された。これらの性質を利用する事で、AGCを媒として、CNTを中心にヨウ素アニオンクラスターが枝状に配置された、明確な樹状構造を持つ階層構造を自己組織化戦略によって、自発的に構築することに成功した。

AGCを利用する事で、本研究の目標である光エネルギー捕集系の構築にも成功した。水溶性の蛍光性共役高分子であるポリチオフェン誘導体をAGCと複合化したところ、カードラン主鎖とアミロース側鎖のそれぞれにポリチオフェンが共らせん構造を形成しながら錯形成することが確認された。興味深いことに、それぞれの糖鎖と共らせん構造を形成することで、ポリチオフェンがそれぞれ異なるコンフォメーションに規格化されることが確認された。その結果、アミロース側鎖と複合化したポリチオフェンは、蛍光共鳴エネルギー移動におけるドナーとして、カードラン主鎖と複合化したポリチオフェンはそのアクセプターとして振る舞うことが確認された。事実、アミロース側鎖と複合化したポリチオフェンを光励起したところ、カードラン主鎖に複合化したポリチオフェンからのみ蛍光を示した。このことから、枝状に配置された側鎖部のポリチオフェンが光エネルギーを捉え、そのエネルギーを幹として中心部に配置されたポリチオフェンへと効率的に収束させていることが明らかとなった。

<研究発表（口頭、ポスター、誌上別）>

[学術論文] (計1件)  
投稿中

[学会発表（口頭）] (計1件)

1. Development and self-assembly of semi-artificial helical polysaccharides. Shun-ichi Tamaru, New Trends of Nano- or Bio-materials Design in Supramolecular Chemistry, Fukuoka, Kyukamura Shikano-Shima, 23-24, Oct 2017.

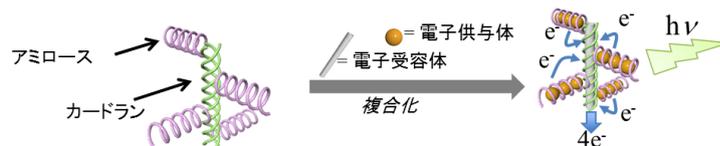
[学会発表（ポスター）] (計2件)

1. 半人工分岐多糖を利用した階層性分子集積体の構築 久保美樹・田丸俊一・新海征治 第54回化学関連支部合同九州大会, 2017年7月1日, 福岡, 北九州国際会議場
2. 半人工多岐糖を利用した光エネルギー捕集体の開発研究 久保美樹・田丸俊一・新海征治 日本化学会第97春期年会, 2017年3月16~19日, 神奈川, 慶応大学日吉キャンパス

<研究の目的、経過、結果、考察（5000 字程度、中間報告は 2000 字程度）>

異なる機能を持つ複数の分子を、明確な秩序に基づいて集積化する技術は、次世代型の機能性材料開発において極めて重要である。例えば、高効率な太陽電池の開発に有用な光捕集システムの構築においては、光誘起電子移動における電子供与体と電子受容体との階層的配置が重要となり、一方、有機半導体においても、ホール輸送・電子輸送のそれぞれを担う分子を機能的に配置する事が重要となる。

本研究では、その内部に特定の分子を取り込み安定化する天然多糖を基盤として、複数の機能性分子を明確な階層構造に集積・組織化する手法の確立を目指す。さらに、この技術を利用して高効率な光捕集システムの構築とその色素増感太陽電池への応用を図る。バイオマス資源であるらせん性多糖を化学・生化学的に改変した樹状構造を持つ半人工多糖を用いて電子供与体分子と電子受容体分子を秩序的に組織化することで、1) 電子供与体分子と電子受容体分子の組合せに関する網羅的解析、2) 光捕集能に対する秩序的分子集積効果の評価とこれに基づく分子集積構造の最適化、および、3) 現在産業廃棄物となっているバイオマス材料の新しい活用法の開発、が達成されると期待される。



$\beta$ -1,3-グルカン類は水中で三重らせん構造を形成する天然由来の多糖類である。この三重らせん構造形成は可逆的であり、一本鎖構造から三重らせん構造を再形成する過程で DNA やカーボンナノチューブ (CNT) などの特定の分子を共存させることで、 $\beta$ -1,3-グルカンと複合して超分子を形成することが可能である。申請者らのグループでは  $\beta$ -1,3-グルカン類のひとつであるカードラン (CUR) の側鎖を選択的に化学修飾することでタンパク質に見られる構造変換特性を示す両性 CUR を開発することに成功した。この両性 CUR の三重らせん構造形成は pH によって精密に制御することが可能であり、イオン性の薬剤モデル分子を pH 応答的に放出する薬剤キャリアとしての応用の可能性を示すことに成功している。そこで、この様な  $\beta$ -1,3-グルカン類が示す超分子的分子捕捉能 (ホスト分子) を活用して、高い構造的規則性を持つ超分子型光電変換系の開発と新しい刺激応答性材料の開発指針の確立を目指して研究を実施した。 $\alpha$ -1,4-グルカンであるアミロースは、もっとも良く知られたらせん性多糖であり、このらせん構造の内部に物質を包摂可能である。この様な長は  $\beta$ -1,3-グルカン類と同様であるが、 $\beta$ -1,3-グルカン類とアミロースのらせん構造は根本的に異なるため、その包摂能やゲスト分子選択性は大きく異なると考えられる。そこで、アミロースを側鎖に導入した半人工分岐カードラン (アミロースグラフトカードラン (AGC)) を設計・合成し、明確な樹状構造を持つ超分子複合材料の開発に取り組んだ。

アミロースは Phosphorylase A による酵素反応によってオリゴマルトースを基質として合成可能である。すでに、Huisgen 環化反応を利用して、カードランのグルコースユニットの 6 位に選択的にオリゴマルトースを導入し、その後酵素反応によってアミロースが側鎖に導入されたカードラン誘導体を合成することに成功している。そこで、アジド基導入率が異なるアジ化カードランを出発分子とし、ここに Huisgen 環化反応を用いてアミロースの側鎖にマルトペンタオースを導入した。続いて、マルトペンタオース側鎖をプリカーサとして酵素反応による糖鎖伸張反応を行う事で、アミロース導入量の異なる 3 種類の AGC (AGC<sub>21</sub>, AGC<sub>43</sub>, AGC<sub>58</sub>: 下付数字はアミロース側鎖の導入率を示す) を合成した (図 1)。各種顕微鏡観察、および旋光度・円二色性スペクトル測定などを用いて、AGC の構造特性を調査し、ヨウ素デンプン反応やカーボンナノチューブなどとの錯形成を検討する事でアミロース部・カードラン部のらせん構造形成能と物質包摂能の違いを明らかにし、枝部と中心部に異なる分子を選択的に複合化した明確な樹状構造を持つ超分子の構築を検討した。さらに、アミロース枝部にドナー分子、カードラン中心部にアクセプター分子をそれぞれ包摂した樹状超分子複合体を調製し、この超分子複合体が示す光エネルギー捕集能について評価した。

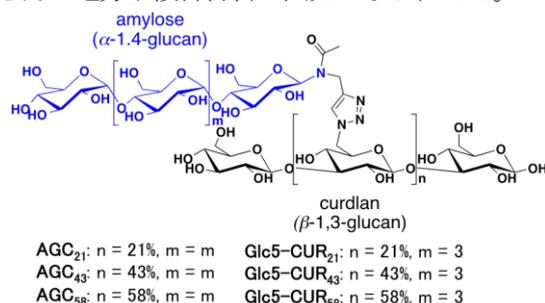


図 1. AGC とその前駆体 Glc5-CUR の構造

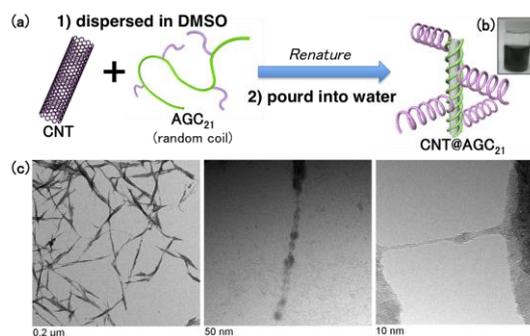


図 2. (a) AGC<sub>21</sub>/CNT 錯体形成の模式図, (b) AGC<sub>21</sub>/CNT 錯体水溶液の写真の TEM 像

上記により合成した **AGC** は、アミロース側鎖の導入率に関わらず **CNT** と錯形成し、水溶性の **CNT** 複合体を形成した (図 2b)。この複合体の透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察像からは、直線状の複合体のみが観測された。もし **CNT** がアミロース側鎖にも包摂されていれば、**CNT** が樹状の構造を持って観測されるはずであるが、この様な構造体は全く観測されなかった (図 2c)。更に、この **CNT** 複合体はヨウ素デンプン反応に対して陽性であった (図 3)。以上の結果は、(1) **CNT** は **AGC** の **CUR** 主鎖と選択的に錯形成しアミロース側鎖とは錯形成しないこと、(2) アミロース側鎖は  $I_3$  をそのらせん構造内部に一列に整理させながら包摂可能であること、をそれぞれ示している。この様に **AGC** を用いることで、中心部と枝部に異なる物質を取り込ませた、明確な樹状構造を持つ超分子の構築に成功した。

続いて、これらの **AGC** とその前駆体であるマルトペンタオースグラフトとカードラン (**Glc5-CUR**) を用いて、カードラン主鎖のらせん構造形成能を詳細に調査した。pH 7 の水中でアニオン性のポリチオフェン誘導体である **PT-1** と **Glc5-CUR** の錯形成を円二色性 (CD) スペクトルを用いて検討したところ、側鎖へのマルトペンタオースの導入率に依らず、500 nm 付近に **PT-1/CUR** 主鎖のらせん状錯体の形成を示す典型的に分裂型のコットン効果が観測された (図 4a)。このことから、**Glc5-CUR** の **CUR** 主鎖は本来の 3 重らせん形成能を保持していることが確認された。しかし、このコットン効果の強度はマルトペンタオースの導入率の増加に伴って減少することが確認された。以上の結果は、カードラン主鎖に側鎖として糖鎖の導入する事で、三重らせん形成能が低下することを示唆するとも考えられるが、先の **CNT** との錯形成の結果も合わせると、むしろ、カードラン主鎖はらせん構造を形成するものの、その構造は本来の  $\beta$ -1,3-グルカン類が示す物よりも緩く、やや多様な錯体構造を採ったものと考えられる。以上の結果を踏まえて、pH 7 の水中で **PT-1** と **AGC** の錯形成について検討したところ、**PT-1**/アミロース側鎖間のらせん状錯体の形成を示す分裂型のコットン効果が 330 nm 付近に観測されると共に、**Glc5-CUR** の錯形成と同様に、**PT-1/CUR** 主鎖のらせん状錯体の形成を示す分裂型のコットン効果が観測された (図 4b)。以上の結果から、**AGC** は **CUR** 主鎖、アミロース側鎖の双方に自発的に錯形成する事が確認された。また、**AGC** においても、側鎖導入率の上昇に伴って **PT-1/CUR** 主鎖が示す CD シグナルの現象が確認された。これまでの研究から、**PT-1** はアミロースと錯形成することで 330 nm に特有の CD シグナルを与えるだけでなく、錯形成に伴って吸収スペクトルおよび蛍光スペクトルが短波長シフトし、一方、 $\beta$ -1,3-グルカン類との錯形成する事で 500 nm に特有の CD シグナルを与えるだけでなく、錯形成に伴って吸収スペクトルおよび蛍光スペクトルが長波長シフトすることが明らかとなっている。つまり、このアニオン性ポリチオフェンは、アミロースおよび  $\beta$ -1,3-グルカン類と錯形成する事で、異なるコンフォメーションとこれに伴う異なる電子状態を採り、全く異なる物性を示す分子に変換される。**AGC/PT-1** 錯体が示す CD、吸収、蛍光スペクトルは、いずれも、**PT-1/CUR** 主鎖錯体が示す特徴と **PT-1**/アミロース側鎖錯体が示す特徴を足し合わせた結果であった。よって、**AGC** を用いることで、自己組織化戦略に基づいて、各成分の単純な混合という簡便な手法によって、ポリチオフェン誘導体を全く異なる電子状態に誘導しつつ、明確な樹状構造に配置した、階層構造を持つ超構造体へと変換する事に成功した。

興味深いことに、上記の様な **PT-1** の電子状態変化に基づく、吸収・蛍光スペクトル変化は、**PT-1**/ $\beta$ -1,3-グルカン類錯体と **PT-1**/アミロース錯体とは、それぞれ互いに蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) のドナーおよびアクセプターとして FRET ペアになり得る事を示している。その点、**AGC/PT-1** 錯体は FRET アクセプターとなる **PT-1/CUR** 主鎖錯体を中心に、FRET ドナーとなる **PT-1**/アミロース側鎖錯体が **PT-1/CUR** 主鎖錯体と近接した位置に、無数の枝状に配置された超構造を持つ。よって、**AGC/PT-1** 錯体は枝部で捕集した光エネルギーを

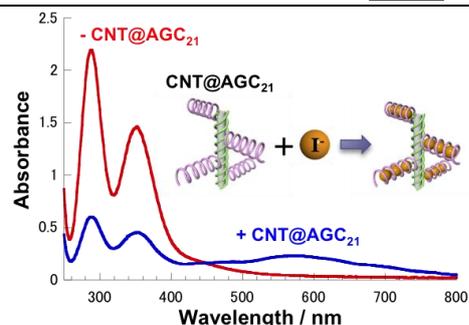


図 3. **AGC<sub>21</sub>** の **CNT** 錯体が示すヨウ素デンプン反応

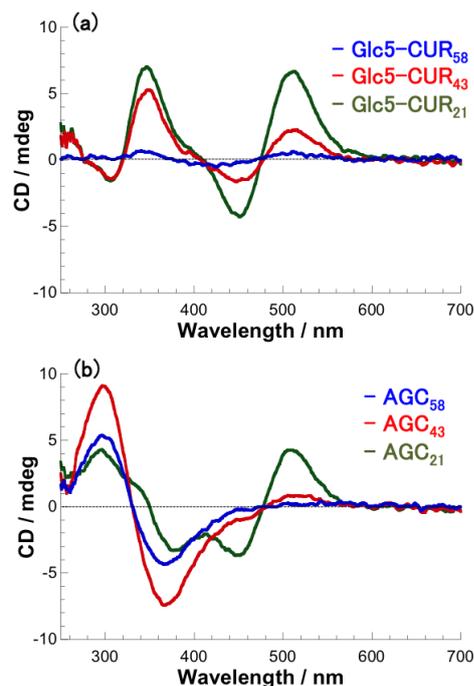


図 4. pH 7 条件下で **Glc5-CUR/PT-1** 錯体(a)および、**AGC/PT-1** 錯体が示す CD スペクトル(b)

効率良く中心部に受け渡すことが出来る、高効率な光捕集系となることが示唆された。そこで、**AGC/PT-1** 錯体の形成条件と FRET 発現効率について検討を行った。まず、比較実験として市販のアミロース (平均分子量: 2800) と **PT-1** の混合系において錯形成の pH 依存性を確認したところ、**PT-1/アミロース** 錯体は、pH にほとんど依存することなく、安定に形成する事が確認された。一方、水溶性の天然  $\beta$ -1,3-グルカン類であるシゾフィラン (**SPG**) と **PT-1** の混合系において、同様に錯形成の pH 依存性を確認したところ、**PT-1/SPG** 錯体は pH10 以上の塩基性条件下において、より形成しやすいことが確認された。そこで、次に **AGC<sub>58</sub>/PT-1** 錯体を用いて、同様に錯形成の pH 依存性を確認したところ、中性付近の pH 領域ではほぼ完全に **PT-1/アミロース** 側鎖錯体のみが存在しているのに対して、pH 12 の条件下では、**PT-1/CUR** 主鎖錯体と **PT-1/アミロース** 側鎖錯体とが、十分に比較できる比率で共存することが確認された (図 5a, b)。**PT-1/アミロース** 側鎖錯体の極大吸収波長は 375 nm 付近に観測される。一方、**PT-1/CUR** 主鎖錯体は 480 nm 付近に吸収極大波長を持ち、375 nm 付近の吸光度は 480 nm の半分程度である。よって、**PT-1/アミロース** 錯体と **PT-1/ $\beta$ -1,3-グルカン** 錯体が混在する系を 375 nm で励起すると、主に **PT-1/アミロース** 錯体からの蛍光が優位に観測される。事実、上記の参照実験に使用した市販のアミロースと **SPG** の混合溶液に **PT-1** を添加し、pH 変化に伴う錯形成状態変化を追跡したところ、CD および吸収スペクトルでは、中性条件下での **PT-1/アミロース** 錯体の優先的形成と、塩基性条件下での **PT-1/アミロース** 錯体と **PT-1/SPG** 錯体の混在が示されたが、375 nm 励起によって発現する蛍光スペクトルは pH 条件に依らず、常に **PT-1/アミロース** 錯体が優先的に観測され、pH 12 条件下でも **PT-1/SPG** 錯体由来の蛍光は僅かに観測されるのみであった。**AGC<sub>58</sub>/PT-1** 錯体が示す CD および吸収スペクトルは、参照実験である市販のアミロースと **SPG** および **PT-1** の混合溶液で観測された結果とはほぼ同様の pH 依存的なスペクトル変化を与えた。これに対して、375 nm 励起によって発現する **AGC<sub>58</sub>/PT-1** 錯体の蛍光スペクトルは、中性付近では **PT-1/アミロース** 側鎖錯体由来のシグナルを与えたものの、pH が塩基性側に移行するに従って徐々に長波長シフトし、pH 12 条件下ではほぼ完全に **PT-1/CUR** 主鎖錯体由来のシグナルを与える事が明らかとなった (図 5c)。pH 12 条件下で観測される CD、吸収スペクトルから、この条件下でも **PT-1/アミロース** 側鎖錯体の方が **PT-1/CUR** 主鎖錯体よりも優勢に形成しており、かつ、375 nm という **PT-1/アミロース** 側鎖錯体を励起する上で優位な励起波長を使用しているにもかかわらず、pH 12 条件下ではほぼ完全に **PT-1/CUR** 主鎖錯体由来のシグナルを与えたと言う実験事実は、**AGC<sub>58</sub>** を媒として自発的に集積した **PT-1** が、(1) アミロース側鎖と **CUR** 主鎖のそれぞれと錯形成する事で、互いに FRET ペアに変換されたこと、(2) FRET アクセプターが幹、FRET ドナーが枝葉となる階層的樹状構造を形成する事で、枝葉で捉えた光エネルギーを幹に効果的に捕集する、光エネルギー捕集システムが構築された事を意味している (図 6)。

以上の様に、**AGC** はその特異な構造的特徴と、分子捕捉能を基盤として、自己組織化戦略に基づく、階層性分子集合体の構築に極めて有用な宿主分子を開発することに成功した。さらに、ポリチオフェン誘導体のらせん性多糖との錯形成に伴う物性変化を効果的に利用する事で、同一の分子を FRET ペアに変換し、高効率な光エネルギー捕集システムを構築することにも成功した。この様な同一分子からなるユニークな FRET ペアを我々はヤヌス型 FRET ペアと名付けた。

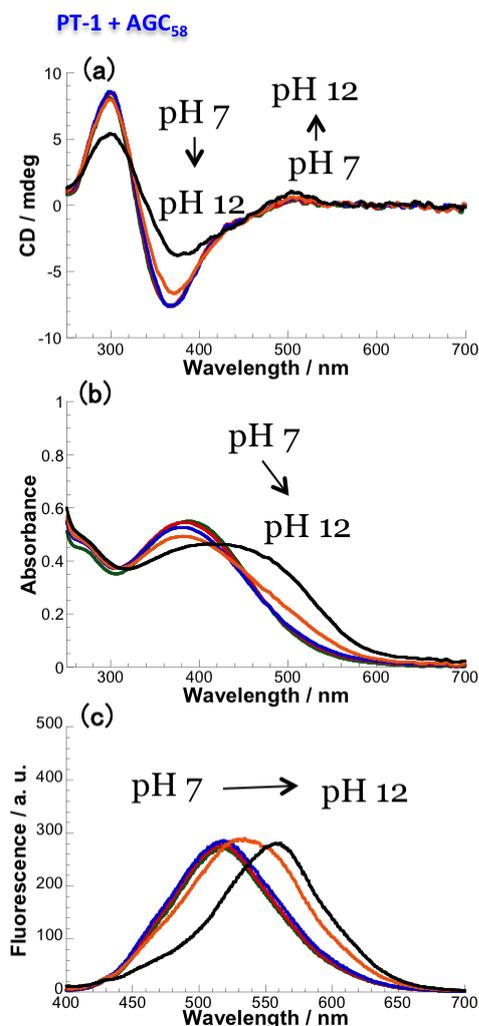


図5. pH 変化に伴って **PT-1/AGC<sub>58</sub>** 混合水溶液が示す CD (a), 吸収 (b), および蛍光スペクトル変化 (c)

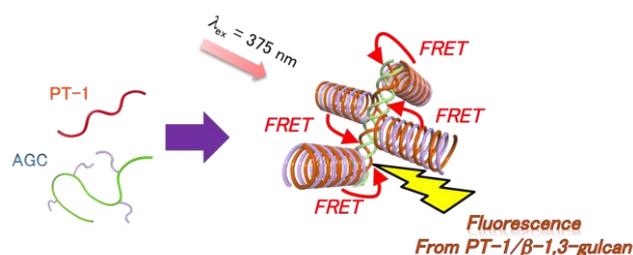


図6. **PT-1/AGC<sub>58</sub>** 混合系を 375 nm で励起した時に発現する蛍光の模式図