

水溶液系でのタンパク質をドライ系での 機能分子へ展開するには

京都大学工学研究科材料化学専攻

木村 俊作

Applicability of Proteins in Water System to Dry System

Shunsaku Kimura

Department of Material Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University

1. はじめに

「New Glass」の一般的な読者にはあまり馴染みが無いと思われるタンパク質関連の研究を紹介する。「New Glass」にタンパク質はマッチしない、とのブーイングはもっともな応答のように思えるが、ゾル-ゲル法が広く知られ、無機/有機ハイブリッド材料が多く報告されるようになった現在を考えると、意外と近い将来に無機/タンパク質ハイブリッド材料が出現するかもしれない。とくに、無機/有機のナノスケールで複合化した材料は、無機成分のタフネス、有機分子の柔軟性を併せもつ高機能性材料として期待されており、その一つの例として人工骨の研究を取り上げて考えてみると、既に無機/タンパク質ハイブリッド材料開発の手本がそこにある。つまり、生体骨を模倣したヒドロキシアパタイト/コラーゲンのハイブリッド複合材料である。無機材料の脆くて柔軟性に欠ける点をコラーゲンが補ってしなやかさを示す。コラーゲンは、無機成分の欠点を隠す構造

材料として機能していると考えられるが、さらに、インプラントしたとき骨形成因子（タンパク質）や細胞との親和性をこの複合材料に賦与する機能も合わせ持っていることが予想される。注意すべき点は、無機/タンパク質ハイブリッド材料に期待される点は、無機成分と有機成分がそれぞれ示す物性上の特長を兼ね備えるような高性能材料の追求だけにあるのではなく、何らかの特異的な機能を賦与できることにある。

果たしてタンパク質を無機成分とハイブリッド化し、さらに、機能を持たせることが一般に可能であろうか。穏和な条件下で機能するタンパク質は、高温下や水のない系では失活する場合が多く、機能を保持したハイブリッド化には多くの障壁があると予想される。まずは、タンパク質の非生理条件下での機能の保持あるいは新たな機能の発現について調べることが重要であろう。本稿では、光エネルギーの化学エネルギーへの変換システムである光合成系を念頭に置き、この分子システムにおける電荷分離と電子移動でのタンパク質の役割について考え、この機能を発現できるモデル分子系を構築することで光エネルギーの電気エネルギーへの変換シ

〒615-8510 京都市西京区京都大学桂
TEL 075-383-2400
FAX 075-383-2401
E-mail: shun@scl.kyoto-u.ac.jp

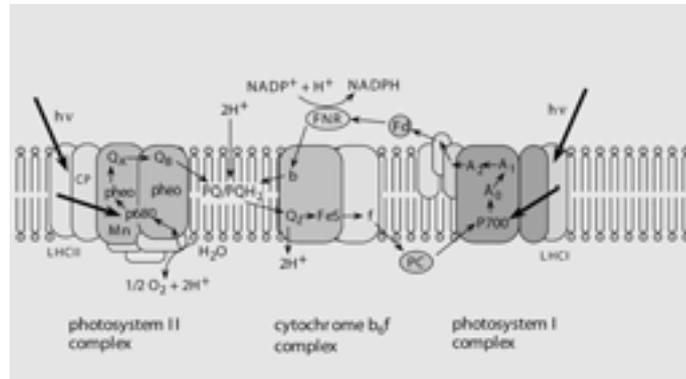


Figure 1 Schematic illustration of photosystem I and photosystem II (cited from a textbook).

ステム構築の試みを説明する。また、このモデル分子系を水系からドライ系へ移すことでどのような変化があるのかを述べ、非生体条件下でのモデル分子の機能について検討を加え、生体関連化合物の分子デバイスや光電子材料への応用について触れる。

2. 光合成

光エネルギーの化学エネルギーへの変換プロセスでは、チラコイド膜における光エネルギーの高効率捕集、反応中心へのエネルギー移動、ベクトルの電子移動に伴う電荷分離により、水分子の酸化と NADP の NADPH への還元が起きている (Figure 1)。

高効率で電荷分離が起こる機構には未だ不明な点が残っているが、ダイゼンホーファーらにより決定された光合成反応中心をなす蛋白質複合体の 3 次元構造に基づき¹⁾、電子移動の様子が解明されつつある。色素の配向・配列、色素の酸化還元電位やタンパク質の分子振動等、様々な側面から解析が進んでいるが、色素の周囲を取り囲むタンパク質のらせん構造の役割についても指摘されている²⁾。タンパク質の 3 次構造は、らせん構造やシート構造のような 2 次構造の集合体として捉えられる。この中で、らせん構造は一般によく見出される構造であり、

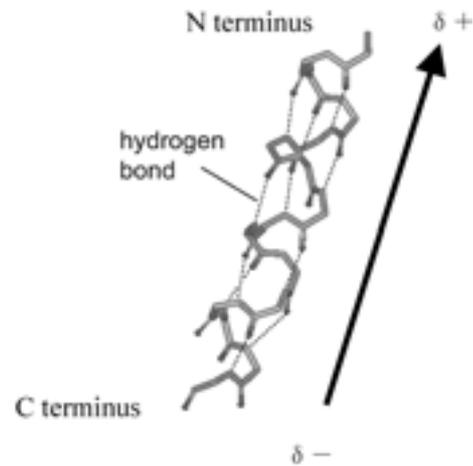


Figure 2 Generation of dipole moment along a helical peptide.

ペプチド結合がらせん軸に沿って配向・整列している。このため、らせん構造のセグメントは大きなダイポールモーメントを有していることが知られており³⁾、発生する大きな電場が電子移動に影響を与えることが考えられている。

3. 光電変換システム

光エネルギーを NADPH や ATP 合成などの化学エネルギーへ変換することが、光合成システムや光合成細菌で行われている。光照射によ

る光電子移動が一連の反応の最初であるが、これを電極表面で行うと光エネルギーを光電流に変換することができる。

前述したように、らせん構造をとるペプチド分子を電子移動に影響を及ぼすように用いることができるなら、電子移動の方向をベクトル的に規制でき、電荷分離の効率を上げることができるかと期待される。そこで、らせん構造をとる13量体のペプチド分子に、C末端側に金表面に分子を固定化するためのジスルフィド基を、N末端側に光エネルギー受容部としてN-エチルカルバゾリル (ECz) 基を、および、逆に配置した分子をそれぞれ合成した⁴⁾。このペプチド分子を金基板とインキュベートすることで、金表面上に自己組織化膜 (SAM) を調製することができる。このペプチド分子は集合体形成能に優れ、電極表面上に稠密な単分子膜が形成され、また、らせん軸は傾いてはいるが表面に垂直方向を向いている。Figure 3 に模式図を示したように、ECz 基を光励起すると水溶液中のメチルビオロゲン (電子受容体) へ電子が移動し、生成する ECz 基のカチオンラジカルへ金電極から電子がながれ、光電変換を行うことができる。結果を Figure 4 に示した。光照射に応じてカソード電流の流れることがわかる。

この分子システムの特徴は、発生する光電流の方向をヘリックスペプチドの配向で制御できる点である。らせん形成ペプチド分子のC末端でペプチド分子を金表面に固定化した場合、ダイポールモーメントは金基板から水溶液へと向かい、この方向への電子移動が加速されカソード電流が観察された。同じ増感剤を用いても、らせん形成ペプチド分子のC末端に増感剤を結合し、N末端側でペプチド分子を金表面に固定化すると、ダイポールモーメントは水溶液側から金基板へと向かい、水溶液中に電子ドナーを配置することで、ダイポールモーメントの方向に従ったアノード電流が観察された。このようにらせん形成ペプチドを用いると、光照射により流れる光電流の向きを制御できるこ

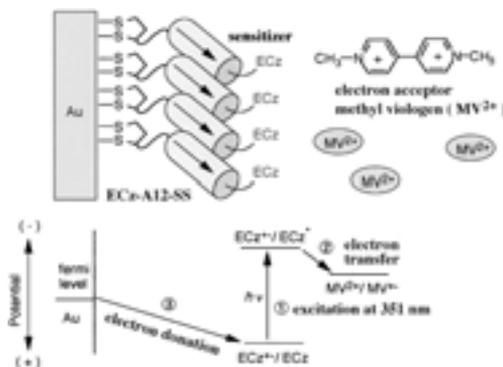


Figure 3 Schematic illustration of photocurrent generation by using the self-assembled monolayer of a helical peptide on gold⁴⁾.

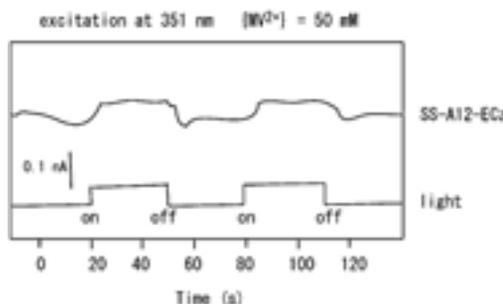


Figure 4 Photocurrent generation by a helical peptide SAM on gold⁴⁾.

とから、増感剤を結合したらせん形成ペプチドは、分子ホトダイオードと捉えることができる。

らせん形成ペプチドのダイポールモーメントが光電流に及ぼす効果について、更に検討してみた。Figure 5 に示すように、ここでの分子システムでは、増感剤 (ECz 基) が光励起され、らせん形成ペプチドを介して電子が金電極に運ばれる。生成した増感剤のカチオンラジカルに水溶液中の電子ドナー (EDTA) から電子が移動し、この結果、アノード電流が流れる。ここで、金電極に負の電位を印加し金電極のフェルミ準位を上げていくと、Figure 6 に示すように光電流は次第に減少し、やがてゼロとなる。さらに、電位を負にするとC末端側で

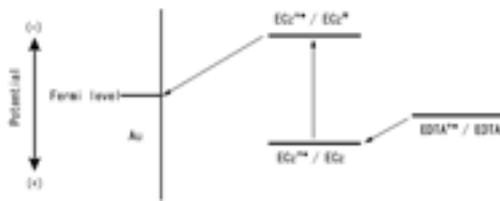


Figure 5 Energy diagram of the anodic photocurrent generation using EDTA⁴⁾.

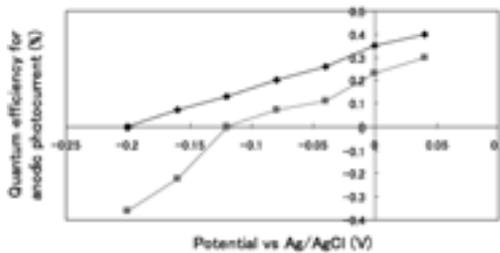


Figure 6 Effect of electric potential on the anodic photocurrent generation using EDTA in the ECz-A12-SS (■, immobilized via C-terminal to gold) and SS-A12-ECz (◆, immobilized via N-terminal to gold) SAMs⁴⁾.

らせん形成ペプチドを金に固定化した場合については、光電流の向きが逆転しカソード電流が観測された。この光電流がゼロとなる電位を zero-potential というが、興味深いことに、同じらせん形成ペプチドで同じ増感剤を用いているにも拘わらず、N末端側で固定化した場合とC末端側で固定化した場合とで値が異なり、C末端側で固定化した場合の方がN末端側の場合と比べてより正の値となった。らせん形成ペプチドのC末端側はダイポールモーメントの負極となっており、このため、正の側へシフトしたと考えられる。このように、ダイポールモーメントの効果は、zero-potentialの違いついては観測された。

4. 真空系でのらせん形成ペプチド

タンパク質は水溶液中あるいは脂質膜中で特

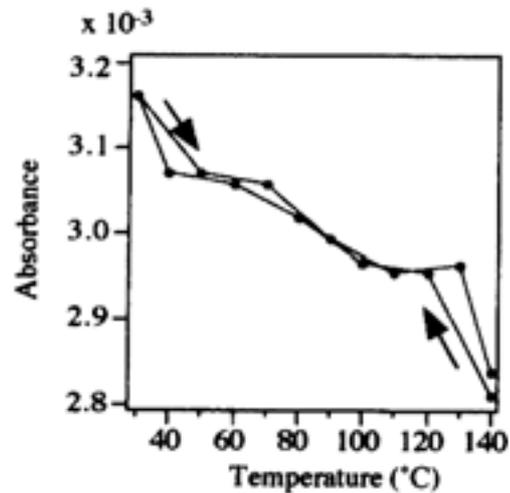


Figure 7 Temperature dependence of the amide I absorption of the hexadecapeptide on gold.

定の三次構造をとって機能を発現しており、脱水系あるいは高温にすると変性が起こり機能を失う場合が多い。金基板上に固定化したらせん形成ペプチドについて、これらの点を調べてみた。らせん形成16量体ペプチドを金基板上に固定化し、反射吸収IRスペクトル測定を真空下に行った⁵⁾。アミドI吸収帯が 1670 cm^{-1} に、アミドII吸収帯が 1540 cm^{-1} に認められたことから、このペプチドはらせん構造をとり、金基板上に垂直に近い配向で固定化されていることが示された。基板に石英を用いて、16量体ペプチドの単分子膜をトランスファーし、大気下にCDスペクトルを測定した場合にもらせん構造が確認された。これらのことは、らせん構造が溶媒の無い状態でも保たれることを示す。さらに、真空下、温度効果を調べた(Figure 7)。温度を室温から120度まで上昇させても、アミドI吸収帯のピーク位置に変化はなく、また、吸収強度の減少も10%に満たない範囲であった。このことは、らせん構造が真空下、100度を超えても安定であることを示している。らせん形成ペプチドの水分散液のCD測定を温度を変えて行くと、100度までの温度

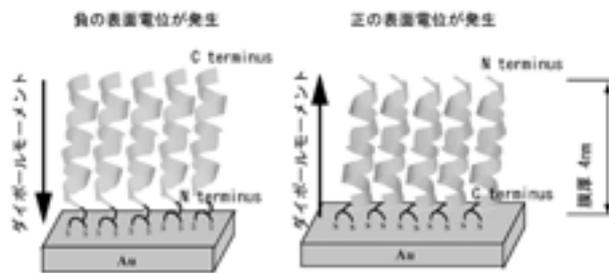


Figure 8 Schematic illustration of surface potential generation due to the dipole moment of the vertically aligned helical peptides on gold (the electric field is estimated to be about a million volt/cm).

でらせん構造は大きく乱れてしまうことから、溶媒のない系の方がペプチドの構造安定性はむしろ高いと言える。

らせん形成ペプチドが配列した分子オーダーの厚みを有する膜の特徴は何であろうか。らせん形成ペプチドは大きなダイポールモーメントを有しており、同じ向きで金基板上に垂直配向で並べることができる、これに伴う表面電位が発生するはずである (Figure 8)。真空下、N 末端で金基板に結合したらせん形成 16 量体ペプチド膜の表面電位を測定したところ -125 mV となり、24 量体ペプチドになると -180 mV の値が観測された⁵⁾。らせん形成ペプチドの C 末端はダイポールモーメントの負極であり、負の表面電位の発生を説明できる。また、鎖長が長くなるとダイポールモーメントも大きくなり、表面電位の絶対値が大きくなったことも説明できる。定量的には、ダイポールモーメント、ダイポールモーメントが並ぶことによる脱分極、金基板と結合する部位の分極を考慮することで観測値を理論的に解釈できる。一方、C 末端で金基板に固定化したらせん形成ペプチド膜の表面電位はおよそ $+400$ mV となり、ダイポールモーメントの向きが逆転することで表面電位も負から正に変化した。ダイポールモーメントが表面電位発生のオリジンであることがわかる。

このような表面電位は $3\sim 4$ nm の膜厚に発生しており、ペプチド膜にはおよそ 100 万 V/

cm もの大きな電場が形成されていることになる。このような大きな電場が原因で、光電変換に見られた分子ホトダイオード特性が観察されたことは不思議ではない⁶⁾。今後、ドライ系での光電変換についても観察する予定である。

5. 結 語

シリコンベースの半導体工学がエレクトロニクスを担うようになって久しい。この間、ガリウムヒ素のような新しい素材も利用されるようにはなったが、シリコンを用いた新規技術開発の成功がシリコンをデバイスの中心に据え続けている。ムーアの法則に従った半導体の高集積化については、ゲート絶縁膜の薄膜化にともなうゲートリーク電流の増大が問題となっているものの、2007 年には 65 nm の微細加工が可能になると考えられている。さらに、三次元トランジスタや新構造のデバイス開発に力が注がれていることから、微細化が進み、量子サイズ効果が顕著となるような状況に至ってもシリコン中心の世界は変わらないような気がする。しかしながら、量子サイズ効果を利用したデバイスを設計するようになったときには、有機分子を組み込むことが当然の如く検討されることとなるであろう。例えば、今回紹介したような 100 万ボルト/cm もの電場を発生するらせん形成ペプチドは有用なツールの一つとなるであろう。この他、光合成系では、高効率エネルギー

捕集、高速電子移動、電荷分離が起こっており、それらの原理に基づいて機能する有機分子も開発されることであろう。このようなタンパク質の機能に学ぶ新規な有機分子が今後多く開発されることは間違いがないであろう。有機分子を用いたエレクトロニクスは、有機結晶や有機薄膜を用いた有機エレクトロニクスから、単分子が機能する分子エレクトロニクスへと着々と進展しており、有機分子による分子トランジスタも提案されている。今後、有機分子がエレクトロニクスデバイスの発展に大きな貢献を果たすと予想している。このような中、私達は、有機分子と半導体とのコンポジットの作製と物性解析に着手しているが、有機分子の合目的設計、分子の合成、自己組織化等による構造形成のシナリオを分子にプログラミング化、等、有機分子を用いるメリットが多く認められる。

タンパク質（有機単分子）/半導体ハイブリッド型分子デバイスが開発されるであろうと思う所以である。

参考文献

- 1) J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber, H. Michel, *Nature*, 318, 618 (1985).
- 2) W. G. J. Hol, *Prog. Biophys. Molec. Biol.*, 45, 149 (1985).
- 3) A. Wada, *Adv. Biophys.*, 9, 1 (1976).
- 4) T. Morita, S. Kimura, S. Kobayashi, Y. Imanishi, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 2850 (2000).
- 5) Y. Miura, S. Kimura, S. Kobayashi, M. Iwamoto, Y. Imanishi, J. Umemura, *Chem. Phys. Lett.*, 315, 1 (1999).
- 6) S. Yasutomi, T. Morita, Y. Imanishi, S. Kimura, *Science*, 304, 1944 (2004).