

人工細胞による電子演算回路の開発

村岡 貴博

東北大学多元物質科学研究所

〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平2-1-1

Development of molecular computing system working at artificial cellular membrane

Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University

2-1-1 Katahira, Aoba-ku, Sendai, Miyagi, 980-8577 Japan

概要

細胞膜は一つの演算システムと見なすことができる。イオンポンプは抵抗、絶縁体であるリポソーム膜はコンデンサーとして表される。膜間におけるイオン濃度差は電池、リガンド応答によってイオン透過性を示し、抵抗が変わるイオンチャンネルは可変抵抗であり、応答性のないイオンチャンネルは通常の抵抗である。これらの分子素子を人工的に構築し、さらに細胞膜のようにそれらを集合化、組織化することにより、人工演算分子システムを再構築することができる。その中でも本研究では、可変性を示す分子デバイスであるイオンチャンネルの人工合成を行った。生体のイオンチャンネルタンパク質と同様に、刺激に応じてイオン透過性を切り替える分子デバイスの開発に成功した。

1. はじめに

情報伝達と処理を行う細胞膜は、生体演算素子とみなすことができる。例えば神経細胞での情報伝達は、細胞膜を介したイオン濃度勾配による電位差を利用して行われている。通常、細胞膜上にあるカリウムイオンポンプにより、カリウムイオンが能動的に細胞外に放出されており、細胞内部は負電位である。ここに何らかの興奮刺激

が加わると、ナトリウムイオンポンプが開き、その結果ナトリウムイオンは濃度勾配および電氣的勾配が推進力となり、細胞内へ流入する(脱分極)。ここでナトリウムイオンによる電流はカリウムイオン放出による電流に打ち勝ち、膜電位が逆転し内側がプラスとなる。これが活動電位、インパルスである。こうして局所的に生じた電位は細胞膜を通して素早く伝搬され、

他の神経細胞と接する点においてその細胞へと伝わることで、情報が回路を巡る。

以上が神経細胞の情報伝播機構であり、ここから分かるとおり、情報伝達ではイオン透過を制御するイオンチャンネルと、それを固定、さらには活動電位を伝える細胞膜が必要構成要素である。ここで、これらの分子素子を人工的に構築し、さらに細胞膜のようにそれらを集合化、組織化することにより、人工演算分子システムを再構築することができると考えられる。ここで、細胞膜そのものを人工的に再構築する技術は、リポソームの分野で開発されてきた[1]。さらに我々はこれまでに、有機合成化学的手法を駆使することにより、イオンチャンネルタンパク質を模倣したイオンチャンネル分子のプロトタイプ開発に成功している[2,3]。この人工イオンチャンネル分子は、リポソーム膜上に安定に存在し、リチウムイオンやナトリウムイオンなどの金属イオンを、サイズ選択的に透過する。さらに熱的平衡状態において、開閉状態を繰り返していることも明らかと成っている。しかし演算分子システムを構築するにあたり、天然の膜タンパク質同様、リガンド脱着などの外部刺激に応答した開閉制御機構の実現が重要である。そこで本研究では、興奮刺激として働くアドレナリンな

どの芳香族アミン類をリガンドとし、イオン透過性を可逆的に制御し得るイオンチャンネル分子の開発を目指した。

2. 実験・結果

天然のアドレナリンレセプターでは、リガンド受容部分に酸性のアミノ酸残基と芳香族アミノ酸残基が多く配置されていることが知られている[4-6]。従って、静電相互作用と芳香族相互作用によって、芳香族アミン類であるアドレナリンを捕捉していることが推察される。さらにアドレナリンレセプターは、複数回膜貫通型構造を膜内で形成しており、その土台構造により情報伝達が行われている。これらの点を模倣することで、芳香族アミン類に応答する人工イオンチャンネル分子を設計した。複数回膜貫通型構造を形成する膜タンパク質は、親水的なアミノ酸残基を多く含むペプチドドメインと、疎水的なアミノ酸残基を多く含むペプチドドメインとが交互に連結された特徴的な一次構造を有する[7-10]。表面が親水的、内部が疎水的な空間を有する脂質二分子膜に挿入されることで、親水的なペプチドドメインが膜外に、疎水的なペプチドドメインが膜内に配置され、複数回膜貫通型構造が形成される。従って人工イオンチャンネル分子の設計において、同様

に親水部と疎水部とを交互に連結した分子構造とした。疎水部として、剛直かつ棒状で、蛍光性を有する芳香族ユニットを用いた。カチオン-パイ相互作用によるカチオンとの親和性により、金属イオン透過性を導入できる可能性と、蛍光顕微鏡観察や分光測定による局在情報やコンホメーション情報の取得が可能である点に注目した。また疎水部中央にキラルユニットを導入し、円偏光二色性スペクトルを用いた構造追跡を可能にする分子設計とした。親水部としては、非イオン性で柔軟性を有するオリゴエチレングリコールを用いることとした。さらにリガンド認識部位として、酸性のリン酸エステル部位を芳香族ユニットの近傍に導入した。これらを基に設計された膜挿入分子を、有機合成化学により合成した。得られた膜挿入分子は、核磁気共鳴スペクトル、および質量分析により確認した。

得られた膜挿入分子のコンホメーションについて、核磁気共鳴スペクトル、ならびに円偏光二色性スペクトルを用いて調べた。低極性溶媒であるテトラヒドロフラン中の場合、膜挿入分子は非常に弱い円偏光二色性を示した。そこに水を添加し、溶媒の極性を上げると、芳香族ユニットが吸収を示す波長領域の円偏光二色性が上昇した。核磁気共鳴スペクトルにおいて、

水の添加に伴い、芳香族ユニットに由来するシグナルが全て高磁場シフトした。これらのことから、高極性溶媒中では、膜挿入分子は分子内の2つの芳香族ユニットを近づけたフォールディング構造を形成していることが明らかとなった。

膜挿入分子の脂質二分子膜への導入は、蛍光顕微鏡観察により検討した。膜挿入分子をリン脂質と混ぜ、ジャイアントベシクルを作成した。得られた分散液を位相差顕微鏡で観察した所、直径 10 μm 程度のベシクルの形成を確認することができた。蛍光顕微鏡下でも、直径 10 μm 程度のベシクルからの蛍光像を得ることができたことから、脂質二分子膜中への膜挿入分子の導入を確認することができた。脂質二分子膜中での膜挿入分子は、水中と同様の円偏光二色性スペクトルを示した。従って、脂質二分子膜中においても、分子内の2つの芳香族ユニットを近づけたフォールディング構造を形成していることが示唆された。このフォールディング形成は、ラングミュア膜を用いた分子占有面積測定から、フォールディング構造の断面積に相当する値が得られたことから確認することができた。

脂質二分子膜中の膜挿入分子に対するリガンド認識を、芳香族アミンであるフェネチルアミンを用いて調べ

た。膜挿入分子を有するリン脂質から成るベシクルに対し、フェネチルアミンを添加した所、円偏光二色性スペクトルにおけるシグナル強度の連続的な減少が観察された。このことから、リガンド認識により、膜挿入分子中の2つの芳香族ユニットがより近接するコンホメーション変化を示すことが推測される。核磁気共鳴スペクトルにおいて、フェネチルアミン添加に伴い、膜挿入分子中の芳香族ユニット由来のシグナルが高磁場シフトしたことから、フェネチルアミンとの間で芳香族性相互作用が働いていることが示唆される。ジョブズプロットから、これらが1:1で相互作用していることも示された。解離定数は、約400 μM と算出された。このリガンド認識過程を蛍光スペクトルでモニターしたところ、2段階の変化が示された。発光波長の長波長シフトが見られたことから、リガンドの添加により、複合化とともに膜挿入分子同士の自己集合も進行することが考えられる。

続いて、膜挿入分子の金属イオン透過性について検討した。リン脂質から成る平面膜中に膜挿入分子を導入し、金属イオン透過を電流観測により測定した。リガンド添加前では、電流はほとんど観測されず、イオン透過性が見られないことが示された。膜の片側からフェネチルアミンを添加した場

合、わずかな電流透過が見られたものの、その強度は極めて弱いものであった。続いて膜の両側にフェネチルアミンを添加した場合、電流透過の大幅な増加が観察された。従って、膜挿入分子は、両側でのリガンド認識に応答してイオン透過性を制御可能であることが示された。ベータシクロデキストリンを用いてフェネチルアミンを膜挿入分子から外すと、電流強度は大きく減少し、再度フェネチルアミンを両側から添加すると、電流強度の回復が見られたことから、可逆性を有することも明らかとなった。精密な定量的評価の結果、膜挿入分子が6分子集合化することで超分子イオンチャンネルが形成されていることも明らかとなっている。[11]

3. 結論

細胞膜における膜タンパク質類から構築されている生体演算システムから着想を得て、人工分子を用いた分子演算素子開発を行った。リガンド認識性膜タンパク質の構造に倣い、人工膜挿入分子を設計し、有機合成化学的手法により合成することに成功した。分光学的手法により、水溶液中、ならびに脂質二分子膜中での膜挿入分子のコンホメーションを解析した結果、分子内の2つの芳香族ユニットを近接した立体構造であることが示唆さ

れた。さらに脂質二分子膜中において、フェネチルアミンを認識し、それに応答して可逆的にイオン透過性をスイッチすることも明らかとなった。これにより、リガンド脱着という化学的インプットにより応答する可変抵抗分子素子を開発することができた。

4. 謝辞

本研究の遂行にあたり、公益財団法人高柳健次郎財団の助成を受けました。ここに記し、感謝の意を表します。

5. 参考文献

- [1] *Liposomes, Lipid Bilayers and Model Membranes: From Basic Research to Application*, G. Pabst, N. Kučerka, M.-P. Nieh, J. Katsaras Eds., CRC Press, 2014.
- [2] T. Muraoka, T. Shima, T. Hamada, M. Morita, M. Takagi, K. Kinbara, Mimicking Multipass Transmembrane Proteins: Synthesis, Assembly and Folding of Alternating Amphiphilic Multiblock Molecules in Liposomal Membranes, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 194–196.
- [3] T. Muraoka, T. Shima, T. Hamada, M. Morita, M. Takagi, K. V. Tabata, H. Noji, K. Kinbara, Ion Permeation by a Folded Multiblock Amphiphilic Oligomer Achieved by Hierarchical Construction of Self-Assembled Nanopores, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 19788–19794.
- [4] T. Schrader, Towards Synthetic Adrenaline Receptors—Strong Binding of Amino Alcohols by Bisphosphonates, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 2649–2651.
- [5] T. Schrader, Toward Synthetic Adrenaline Receptors: Strong, Selective, and Biomimetic Recognition of Biologically Active Amino Alcohols by Bisphosphonate Receptor Molecules, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 264–272.
- [6] M. Herm, O. Molt, T. Schrader, Towards Synthetic Adrenaline Receptors - Shape-Selective Adrenaline Recognition in Water, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 1485–1499.
- [7] P. J. F. Henderson, The 12-transmembrane helix transporters, *Curr. Opin. Cell*

Biol. **1993**, *5*, 708–721.

- [8] E. Wallin, G. von Heijne, Genome-wide Analysis of Integral Membrane Proteins from Eubacterial, Archaeal, and Eukaryotic Organisms, *Protein Sci.* **1998**, *7*, 1029.
- [9] D. Oesterhelt, The Structure and Mechanism of the Family of Retinal Proteins from Halophilic Archaea. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1998**, *8*, 489–500.
- [10] S. Subramaniam, The Structure of Bacteriorhodopsin: An Emerging Consensus. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 462–468.
- [11] T. Muraoka, T. Endo, K. V. Tabata, H. Noji, S. Nagatoishi, K. Tsumoto, R. Li, K. Kinbara, *J. Am. Chem. Soc.* in press.