

論文題目 Aqueous Dispersion and Functionalization of Boron Nitride Nanotubes Using Biomolecules
(生体分子を用いた窒化ホウ素ナノチューブの水中分散と機能化)

氏 名 高 正宏

緒言

窒化ホウ素ナノチューブ (BNNT) はカーボンナノチューブ (CNT) と同様にチューブ状の構造をもつ。BNNT は、炭素原子がホウ素および窒素原子に交互に置換されていること以外は構造的に CNT に類似しており、空間的な原子の配置はほぼ同一である (Figure 1)。しかしながら、BNNT は高い熱的および化学的安定性と、並外れた耐酸化特性、修飾方法の多様性など CNT とは異なる固有の性質をもつ。それらの固有の特性によって BNNT はマテリアルサイエンスおよびナノテクノロジーの分野において注目を集めている新素材である。

近年の大量かつ高純度な BNNT 合成の達成により (Figure 2)、BNNT に関連する研究は注目に値するペースで増大している。しかしながら、BNNT の実用的な応用のためには、BNNT が通常の溶媒には不要であること、側壁が化学的に不活性であること、また生体適合性が低いことといった、応用を妨げるいくつかの重大な問題がある。これまでに、BNNT を有機溶媒に溶解させるための共有結合的あるいは非共有結合的な手法が開発されてきたが、生体関連への応用や環境適合性のために BNNT を水系溶媒に溶解することが広く求められている。しかしながら、BNNT の超疎水性側壁およびチューブ間の強いファンデルワールス相互作用により、通常は困難である。

生体分子は生体内に存在する化合物であり。タンパク質 (ペプチド)、核酸、糖、脂質などに大きく分類できる。生体分子の最も重要な性質は、生物学的な認識、自己組織化、および生物学的な進化であることが広く知られている。これら生体分子の優れた性質から、現代における持続可能なナノテクノロジー発展における重要性を上昇させ続けている。近年、CNT のような人工ナノ構造マテリアルの可溶化や機能化のための可溶化剤や修飾剤として生体分子が利用できることが報告されている。

本研究では、生体分子の多くの利点を考慮し、ペプチド、核酸、および多糖といった様々な生体分子を用いた水中への BNNT の分散および機能化を検討した (Scheme 1)。本研究の最初の目的は、生体分子を用いて BNNT を水中に溶解させることである。二つ目の目的は生体分子による BNNT の修飾により新たな化学的特性を付与することである。三つ目の目的は、ユニークな特性をもつ新規ハイブリッドを創製するために生体分子により修飾された BNNT 上に無機量子ド

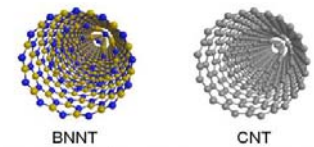


Figure 1. Molecular structure modes of multi-walled BNNT and CNT. Yellow, blue, and grey ball represents boron, nitrogen, and carbon atom, respectively.

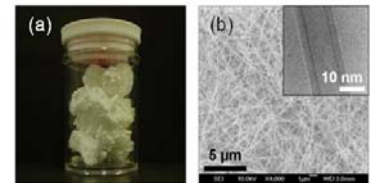
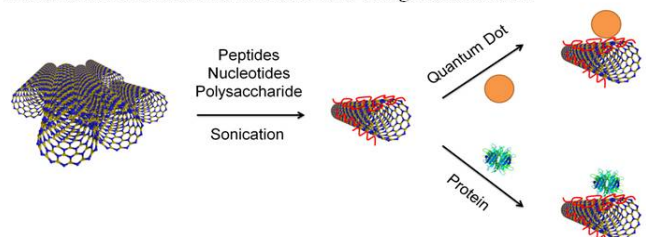


Figure 2. (a) Photograph and (b) scanning electron microscopic (SEM) morphology of BNNTs. Inset shows transmission electron microscopic (TEM) morphology of multi-walled BNNTs.

Scheme 1. Schematic routes for the aqueous dispersion and functionalization of multi-walled BNNTs using biomolecules.



ットや多機能性タンパク質のさらなる集積にある。本研究で示した水溶性生体分子による BNNT の機能化は、BNNT に良好な水への溶解性を与えるのみならず、生体分子により BNNT に新たな機能を付与する。

結果および考察

1. ペプチドを用いる BNNT の水中分散と機能化

BNNT は通常の溶媒には不溶であるため、良好な溶解性および BNNT の分散はさらなる多くの応用のために最も強く求められている。これまでに、ペプチドライブラリーから CNT に対して選択された短鎖ペプチドが、CNT の超疎水性側壁に π - π スタッキングあるいは疎水性効果によって相互作用し、水中で CNT 単一分散できることが報告されている。本章では、BNNT と CNT が構造的に類似していることから、類似した結合様式でペプチドが BNNT と相互作用すると予想し、BNNT の水中への効果的な単一分散を導くものと期待した。

BNNT の単一分散のための簡便な手法として、ペプチド共存下における超音波処理を採用した。CNT に結合するペプチドである B3 (HWSAWWIRSNQS) を BNNT の分散剤に用いた。原子力間顕微鏡 (AFM) 観察により B3 により分散した BNNT は水中で単一分散していることが分かった (Figure 3)。円偏光二色性 (CD) スペクトルは水中で B3 が α ヘリックス構造を形成していることを示し、トリプトファン残基により構成される疎水面で BNNT と相互作用し、親水部を水中に露出していることが示唆された。B3 中のトリプトファン残基それぞれをアラニンへに置換すると、 α ヘリックス構造の割合が低下し、また分散した BNNT の量も低下したことから、BNNT の単一分散には、 α ヘリックス構造に寄因するトリプトファン残基の配置が重要であることがわかった。一方、蛍光分光および赤外 (IR) 吸収スペクトルから、B3-BNNT 間に強い π - π 相互作用が働いていることが示唆された。今回構築したペプチド修飾された BNNT は、その優れた分散性と特異な物理化学的特性から、電子的、光学的、および生物学的な応用が期待できる。

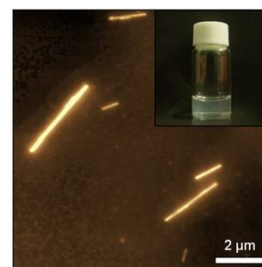


Figure 3. AFM image of B3-functionalized BNNTs on the mica surface. Inset shows a typical dispersion of B3-functionalized BNNTs.

2. フラビンモノヌクレオチドを用いる BNNT の水中分散と可視光発光への応用

BNNT を水中に単一分散する上で芳香族小分子もまた効果的に働くことが期待される。フラビンモノヌクレオチド (FMN) はビタミン B2 をリン酸化して誘導体化された生体分子として良く知られ、補酵素や光受容体など多数の生物学的プロセスにおいて重要な役割を果たしている。その分子構造は芳香族イソアロキサジン環とリン酸部位とからなる。本章では、BNNT の疎水面と FMN とがイソアロキサジン環を介した π - π 相互作用により結合し、水中で良好な溶解性と分散性を BNNT に与えることを期待した。このアプローチにより、BNNT の水中での溶解および分散のためのみならず、BNNT ベースのハイブリッドの集積が達成可能な新たな非共有結合的な側壁の化学的修飾となることが期待される。

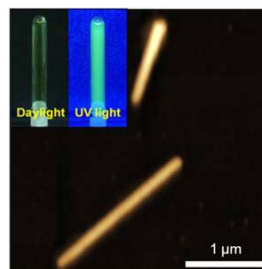


Figure 4. AFM image of FMN-BNNT nanohybrids on the mica surface. Inset shows a typical dispersion of FMN-BNNT nanohybrids under daylight and UV light (365 nm).

本章では、FMN による BNNT を分散した。IR スペクトルは FMN-BNNT 間に π - π 相互作用の形成を示唆した。UV-Vis スペクトルに見られる BNNT および FMN 双方の代表的な吸収ピークのシフトから、FMN-BNNT ナノハイブリッドの形成が示唆された。蛍光スペクトル測定から、それらナノハイブリッドが可視光領域において強く安定な蛍光特性を示した (Figure 4)。さらなる詳細な解析から、蛍光強度は pH に依存し、また熱的に安定であることが明らかとなった。FMN-BNNT ナノハイブリッドは、広い温度領域で利用可能な可視光領域での発光剤や、ナノスケールの蛍光イメージングプローブ構築を達成するための構成要素として広い注目を集めるであろう。

3. ヌクレオチドを用いる BNNT の水中分散と量子ドット修飾への応用

BNNT の蛍光は紫外線領域にあることからバイオイメージング分野における BNNT の応用は限定されている。BNNT の修飾により新たな光学特性を付与することは極めて重要である。分子認識能をもつ生体分子は修飾分子として働くことが期待される。ヌクレオチドは生化学において中心的な分子であり、生命維持に関わる遺伝情報において重要な役割を担っている。核酸もまた BNNT の側壁と核酸塩基とが π - π 相互作用を介して相互作用することが期待される。一方で、グアノシン一リン酸 (GMP) はそのピリミジンの N7 および/もしくはプリンのアミノ基、さらに P-O-5' 糖部位を介して硫化カドミウム (CdS) の量子ドット (QD) と相互作用し、GMP で保護された CdS QD を形成することが知られている。本研究においては、CdS QD と相互作用した GMP 分子に、QD との相互作用には用いられなかった π 電子を利用することにより、BNNT 側壁と π - π 相互作用できると考えた。GMP キャップされた CdS QD は BNNT より広い波長で可視光領域に蛍光発光をもつことが知られており、QD による BNNT の修飾は、BNNT の機能を変調するさらなる手法となることが期待される。

本章においては、アデノシン一リン酸 (AMP)、アデノシン二リン酸 (ADP)、アデノシン三リン酸 (ATP)、GMP、グアノシン二リン酸 (GDP)、グアノシン三リン酸 (GTP)、ウリジン一リン酸 (UMP)、シチジン一リン酸 (CMP)、グアノシンといった様々なヌクレオチドを BNNT の水中分散に用いた。

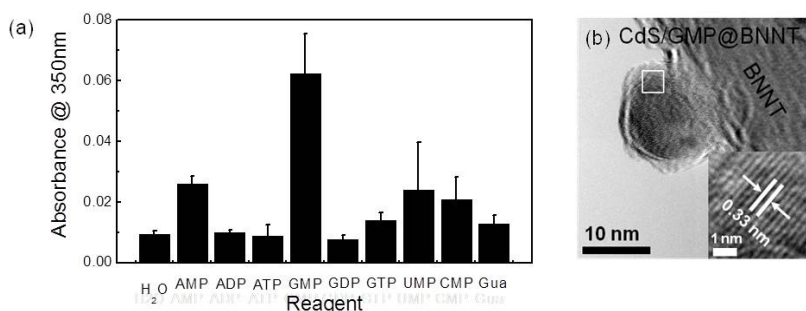


Figure 5. (a) Comparative absorptions of nucleotide-modified multi-walled BNNTs dispersed in an aqueous solution. Absorbance at 350 nm apparently corresponds to the amounts of BNNTs dispersed in the aqueous solution. (b) high-resolution TEM image of CdS/GMP@BNNT. Inset shows an enlarged portion of the square.

UV-Vis スペクトルを測定し、ヌクレオチドが吸収をもたない 350 nm の吸光度を指標に BNNT の分散量を定量した (Figure 5a)。その結果、BNNT 分散能をもつモノヌクレオチドの順列は、GMP > AMP \approx UMP > CMP であった。AMP や GMP といった一リン酸分子は二あるいは三リン酸分子よりも良い分散性を示した。高分解能透過型電子顕微鏡 (HR-TEM) 観察の結果、最も高い分散量をもたらした GMP をリンカー分子とし、BNNT を CdS QD 修飾できることが明らかとなった (Figure 5b)。UV-Vis スペクトルから、CdS 修飾された BNNT、すなわち CdS/GMP@BNNT は、強い電子移動に伴ってオリジナルの BNNT とは異なる電子構造であることがわかった。蛍光スペクトル測定から CdS/GMP@BNNT ハイブリッドは可視光領域において新たな蛍光をもつことがわかった。

4. 多糖を用いる BNNT の水中分散とタンパク質修飾への応用

本論文におけるこれまでの研究において、ペプチドおよび核酸が BNNT の側壁を修飾するために有用であることを示してきた。しかしながら、これらいずれの手法においても、用いる生体分子は比較的高コストであり、かつ毒性を示す可能性のある有機化学的手法によって合成される分子が用いられてきた。幅広い応用を展開するためには、低コストで生体適合性のある分子による BNNT の修飾が望まれる。それ故、天然の多糖はそのコスト的な安さと良く知られた生体適合性により、有用なマテリアルといえる。その中でも、高く分岐した複雑な分子構造をもつアラビアゴム (GA) は、天然に最も豊富に存在する多糖の 1 つである。GA の天然での特性および役割は、既に多くの研究がなされているが、完全には明らかにされていない。GA はただ安価で高い生体適合性をもつのみならず、良好な水への溶解性および合成化学的に容易に修飾できる特性を併せもつ。GA をナノサイエンスやナノテクノロジーに応用する研究が、現在始まりつつある。GA の利用により、BNNT を水中に効果的に分散させ、修飾できることが期待される。

本章においては、GA の多くの利点を考慮し、天然の多糖である GA による BNNT の高効率な分散が達成された。GA による BNNT 側壁の修飾により、良く分散した GA 修飾 BNNT が得られ、水中での高い溶解性を示した。AFM 観察から、GA により修飾された BNNT が良く分散していることがわかった。これら GA 修飾した BNNT は孤立分散した BNNT の生理化学的特性を検討する上で有用である。IR および蛍光スペクトルから、GA および BNNT 間に強い相互作用があることがわかった。UV-Vis スペクトル測定から BNNT の最大吸収波長のレッドシフトが見られ、GA により BNNT の電子構造がわずかに変化したことが示唆された。次いで、GA 修飾した BNNT 上へのモデルタンパク質 (ストレプトアビジン、リゾチーム、ウシ血清アルブミン、およびイムノグロブリン G) の集積を検討した。その結果、タンパク質それぞれが GA 修飾 BNNT 上に静電的相互作用により集積できた (Figure 6)。この GA 修飾された BNNT 上への多様なタンパク質の集積は、BNNT をバイオデバイスとして応用するための初期段階において重要な役割を果たすことが期待される。

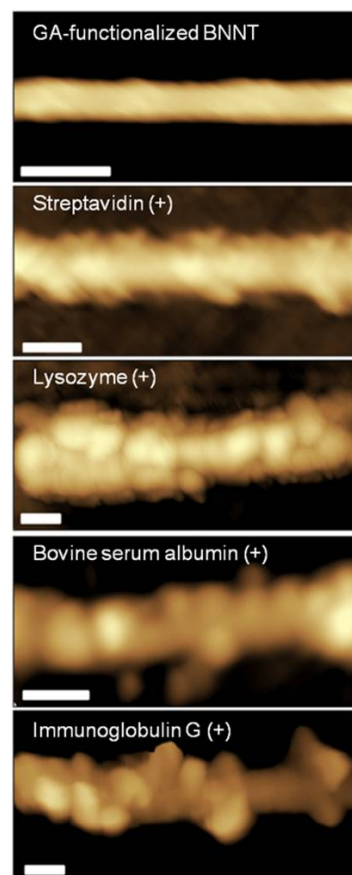


Figure 6. High-resolution AFM image of proteins on GA-functionalized BNNTs. All scale bars represent 200 nm.

結論

ペプチド、核酸、および多糖といった生体分子を用いて水中への BNNT の効果的な分散と機能化を達成した。AFM 像観察から、生体分子によって修飾された BNNT はいずれの場合も極めて高い水中分散性をもつことがわかった。さらに、修飾した生体分子の特性を利用することで、無機半導体 QD や多様なタンパク質を BNNT 上に集積させることに成功し、新たな蛍光特性や生体適合性を付与することができた。これら生体分子修飾された BNNT による研究結果は、今後のナノテクノロジーにおける幅広い応用のための重要な知見となることが期待される。