

学位論文題名

Organization of Azobenzene Monolayer based on DNA-mimetics at the Air-Water Interface toward the Fabrication of Functional Thin Films

(気液界面を反応場とする DNA-mimetics を利用した
アゾベンゼン単分子膜の組織化と機能性薄膜の作製)

学位論文内容の要旨

DNA の二重らせん構造において、4種類の核酸塩基は A-T、G-C という相補的な塩基対を形成している。この DNA の優れた分子認識を模倣出来れば、分子同士の特異的結合や塩基配列を任意に制御した鑄型への位置選択的な分子修飾が可能となる。従来行われてきた化学合成的な手法とは異なった、簡便かつ自己組織的な分子修飾・超分子構造体の作製が期待される。

我々はこれまで気液界面に着目し、両親媒性核酸塩基化合物と下水相に存在する核酸塩基との間で、二重らせん中と同様な Watson-Crick 型の塩基対形成が行われることを見出してきた。しかしながら、塩基選択性の詳細や鑄型形状との相関に関する検討は行われていない。そこで本研究においては、疎水部に機能性色素であるアゾベンゼンを導入した両親媒性アデニン誘導体(AzoAde)と、A、T、G、C 各種からなるオリゴヌクレオチドとの気液界面における分子認識について詳細に検討した。さらにチミンからなるオリゴヌクレオチド(オリゴチミジル酸)を鑄型とした際、鑄型形状をチミンモノリン酸、直鎖オリゴチミジル酸、そして環状オリゴチミジル酸と変化させることで、オリゴマー効果やアゾベンゼンの直鎖および環状配列化について検討した。また、配列化に伴うアゾベンゼンの会合挙動にも着目し、DNA-mimetics による規則配列化とそれに伴う会合体形成に起因した、蛍光性アゾベンゼン単分子膜の作製についての検討を行った。

まず、気液界面における AzoAde の塩基選択性を調べるため、 π -A 等温線測定および in situ UV-Vis 反射吸収スペクトル測定から、種々の 30-mer オリゴヌクレオチドとの相互作用について検討した(Fig. 1)。単量体やミスマッチ鑄型と比較して、dT₃₀ を下水相とした時に最も膨張した π -A 等温線を与えた。この結果より、気液界面において明瞭な A-T 相互作用が存在し、30-mer 鑄型によるオリゴマー効果も得られることが分かった。この dT₃₀ を鑄型とした場合は、AzoAde は傾いた J-form 配列をとり、後の圧縮

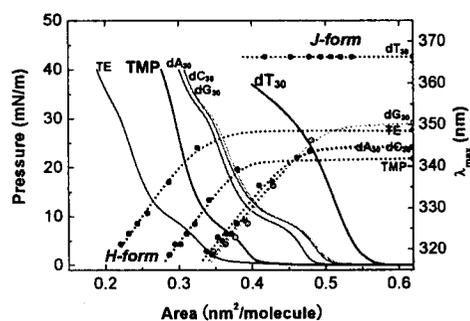


Fig. 1 Surface pressure-area (π -A) isotherms (solid lines) and λ_{\max} -area plots (dotted lines) of AzoAde on TE buffer, 10 μ M TMP, 10 μ M dG₃₀, 10 μ M dC₃₀, 10 μ M dA₃₀, and 10 μ M dT₃₀ subphases.

過程においても安定な J-form を保っていた。ミスマッチ鑄型の場合、AzoAde はモノマー状態からパラレル配向の H-form をとっており、鑄型との弱い相互作用による単純会合が起こっていた。この LB 膜における FT-IR RAS および XPS 測定から、チミン由来の $\nu_{C=O}$ (1690 cm^{-1}) の存在およびシフト量によって A-T 水素結合が確認され、N/O 比の理論値との比較から、AzoAde と dT_{30} 中の T がおよそ 1:1 の比で結合していることが分かった。

この結果をもとに、環状オリゴチミジルサン (CycT6, CycT8, CycT10) の 6、8、10 量体を鑄型として気液界面における AzoAde の環状配列化を検討した。 π -A 等温線および反射吸収スペクトル測定から、CycT6 もしくは CycT8 を使用した場合のみ、環状配列化が達成することが示唆された。長鎖の CycT10 では鑄型が歪み、直鎖鑄型と同様の挙動をとることが分かった。

次に機能性薄膜という観点から、蛍光性アゾベンゼン単分子膜についての検討を行った。アゾベンゼンは *trans-cis* 光異性化過程が支配的であり、一般的に蛍光性が乏しい。J-form アゾベンゼン会合体が蛍光性を持つことが報告されているが、異性化の抑制が問題となっていた。本研究で得られた AzoAde- dT_{30} 複合体は、安定な J-form 構造をとっているため、単分子膜レベルでの J 型由来の蛍光が期待される。そこで in situ 蛍光測定および

蛍光観察を行った結果、UV 励起下で 600 nm 付近に中心を持つオレンジ色の蛍光が確認された (Fig. 2)。従来報告されているポリイオンコンプレックス法による J-form アゾベンゼン単分子膜 ($AzoN^+/CMC$) では同様の発光を得られず、また、ミスマッチオリゴヌクレオチド上においても観察されなかった。UV 励起による *trans-to-cis* 異性化が蛍光の有無を支配していると考えられるため、導波路基板上に移し取ったそれぞれの単分子膜の UV 照射に伴う吸収スペクトル変化を調べた。ポリイオンコンプレックス膜の場合、速やかな *cis* 化が見られたが、AzoAde- dT_{30} 複合体の場合、著しい異性化の抑制が起こっている

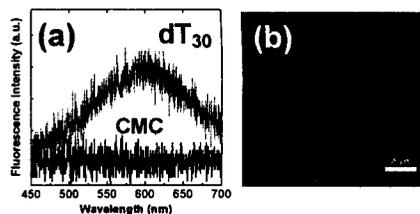


Fig. 2 (a) In situ fluorescence spectra of AzoAde monolayers on dT_{30} and CMC subphases at a surface pressure of 0 mN/m. (b) fluorescence image of AzoAde on dT_{30} . (Excitation: 360-370 nm)

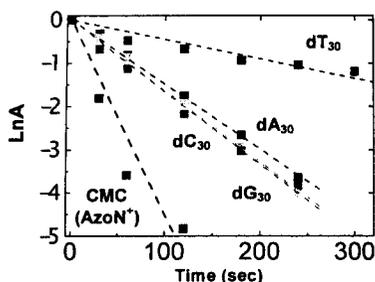


Fig. 3 First-order plots for *trans-to-cis* isomerization of AzoAde and $AzoN^+$ monolayers on various subphases. $\text{Ln}A = -kt$, in which $A = (A_{\infty} - A_0)/(A_{\infty} - A_0)$, where A_0 , A_t , and A_{∞} are the absorbance at λ_{max} of the initial state, time t , and photostationary state, respectively.

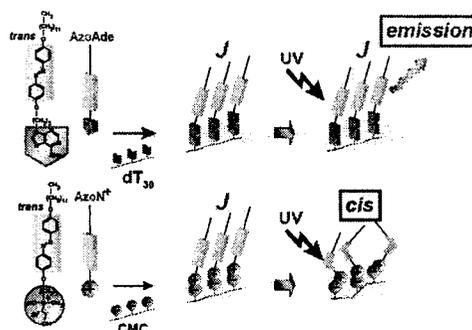


Fig. 4 Schematic illustration of fluorescence from J-formed AzoAde monolayer using multi-base-pairing with dT_{30} compared to polyion complex monolayer of $AzoN^+$ and CMC.

ことが分かった。*trans-to-cis* 光異性化における一次速度式をプロットした結果、AzoAde- dT_{30} 複合体では $k=4.5 \times 10^{-3}\text{ s}^{-1}$ 、ポリイオンコンプレックス法およびミスマッチ鑄型 (3 種) においてはそれぞれ、 $4.5 \times 10^{-2}\text{ s}^{-1}$ 、 $1.5 \sim 1.7 \times 10^{-2}\text{ s}^{-1}$ 、であることが分かり (Fig. 3)、AzoAde- dT_{30} 複合体中では *trans-to-cis* 光異性化過程が極めて抑制されていることが分かった。吸収スペクトルの比較から、J-form 配列と同時に起こる塩基対の鑄型に沿ったスタッキングがこの抑制に大きく寄与しているものと考えられる。

以上より、気液界面において DNA の優れた分子認識能を利用することができ、オリ

ゴヌクレオチド鑄型上へのアゾベンゼンの配列化が可能であることが分かった。さらに、DNA-mimetics を利用し、*trans-to-cis* 光異性化抑制による蛍光性 J-form アゾベンゼン単分子膜を作製することが出来た (Fig. 4)。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 居 城 邦 治
副 査 教 授 喜 多 村 昇
副 査 教 授 村 越 敬
副 査 教 授 谷 野 圭 持

学 位 論 文 題 名

Organization of Azobenzene Monolayer based on DNA-mimetics at the Air-Water Interface toward the Fabrication of Functional Thin Films

(気液界面を反応場とする DNA-mimetics を利用した
アゾベンゼン単分子膜の組織化と機能性薄膜の作製)

DNA の二重らせん構造において、4 種類の核酸塩基は A-T、G-C という相補的な塩基対を形成している。この DNA の優れた分子認識を模倣出来れば、分子同士の特異的結合や塩基配列を任意に制御した鑄型への位置選択的な分子修飾が可能となる。従来行われてきた化学合成的な手法とは異なった、簡便かつ自己組織的な分子修飾・超分子構造体の作製が期待される。

本論文においては、疎水部に機能性色素であるアゾベンゼンを導入した両親媒性アゼニン誘導体(AzoAde)と、A、T、G、C 各種からなるオリゴヌクレオチドとの気液界面における分子認識について詳細に検討した。その結果、二重らせん内と同様な特異的分子認識(A-T)が気液界面においても優勢であることがわかった。チミンからなるオリゴヌクレオチド(オリゴチミジル酸)を鑄型とした際、鑄型形状をチミンモノリン酸、オリゴチミジル酸、そして環状オリゴチミジル酸と変化させることで、鑄型が分子集積に及ぼすオリゴマー効果を確認し、アゾベンゼンの直鎖および環状配列化を可能とさせた。同時に配列化に伴うアゾベンゼンの J-form 型会合挙動も見出した。一般的にアゾベンゼンは *trans-cis* 光異性化過程が支配的であり、蛍光性が乏しい。J-form アゾベンゼン会合体が蛍光性を保つためには、異性化の抑制が問題とされている。本研究の AzoAde-dT₃₀ 複合体中では、気液界面における鑄型へのアゾベンゼン部位の固定化および塩基対のスタッキングなどによって、この *trans-to-cis* 光異性化過程が極めて抑制され、単分子膜からの明瞭な蛍光が得られることが分かった。

これらの結果は、気液界面における DNA の特異的認識が分子の組織化に適応可能である事とともに新規機能性薄膜としての DNA-mimetics の可能性・有用性を見出したことを意味している。

よって著者は、北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格あるものと認める。