

Preparation of nanostructure using molecular recognition of sequence-designed DNA

(塩基配列がデザインされた DNA の分子認識によるナノ構造体の作製)

学位論文内容の要旨

現在、フォトリソグラフィーを代表とする微細加工技術の発展によって、集積回路の小型化・高機能化が実現されてきた。しかしながら、この方法は加工サイズの減少に伴う高コスト・高エネルギー化および加工サイズの限界が唱えられており、新たな加工技術の開発が求められている。その候補として近年、原子・分子の自発的な集合・組織化を利用して極微細構造を作製するボトムアップ型ナノテクノロジーが注目されている。この手法では原子・分子の自己集合・自己組織化を利用しているため、分子レベルの微細加工、低コスト・低エネルギー化が期待される。その中で、DNA は核酸塩基間の相補的水素結合形成による高い分子認識性や構造の多様性を持つため、ボトムアップ法のビルディングブロックとして注目されている。

DNA をビルディングブロックとして、固相合成 DNA で形成された多次元構造体や、生物・ウィルス由来の DNA を鋳型とした金属細線の報告が多数なされている。そこで、長鎖二本鎖 DNA を鋳型とした選択的無電解メッキによる金属ナノワイヤーの作製について研究を行った。DNA 会合体形成の制御および塩基配列に選択的な修飾方法を確立することで、より高精度な機能性分子の配列制御や微細加工が期待される。

第 2 章では機能性分子の配列制御を目指し、鎖長が 40 塩基で 20 塩基ずつが相補的な 4 種類の合成 DNA (Half-sliding DNA)、A (5'-TTATGTTGTCTTGCAATACAAATGT TCTTCGAGTACTTAT-3')と B (5'-TGTATT GCAAGAAGACAACATAAATAAGTACTCGA AGAACATT-3')および、それぞれの 5'末端をリン酸化した pA、pB を用いて、10 mM Tris-HCl (pH 7.8)溶液中で Half-sliding DNA 多重会合体を形成させた (Fig. 1)。A・B と pA・pB 多重会合体の鎖長をゲル電気泳動によって比較した結果、pA・pB 多重会合体の方が長鎖の DNA 多重会合体を形成していることが

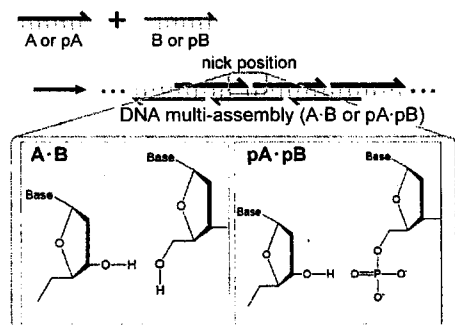


Fig. 1 Schematic illustration of DNA multi-assembly formation through the sticky-ended association of oligonucleotides, A and B, and 5'-phosphorylated pA and pB.

わかった。A・B と pA・pB の自由エネルギーの比較から、DNA 多重会合体内に多数存在する 3'末端水酸基と 5'末端の官能基間で水素結合を形成しており、安定な水素結合を形成する DNA 多重会合体の方が長鎖の DNA 多重会合体を形成することを明らかにした。

第3章では、DNA が柔軟なひも状高分子であることに着目し、Half-sliding DNA 多重会合体構造制御を行った。水溶液の塩強度を変化させた結果、10 mM Tris-HCl 溶液中では直鎖状の DNA 多重会合体を形成しているのに対し、100 mM NaCl または 100 mM MgCl₂ を含む 10 mM Tris-HCl 水溶液中では環状構造を形成していることがわかった。金属イオン存在下では DNA のリン酸骨格間の静電反発が減少し、DNA 鎖の柔軟性が上昇したことが原因だと考えられる。以上から金属イオンによって DNA の構造制御が可能なることを明らかにした。

第4章では、DNA を鋳型にした金属ナノ細線を目指し、生体触媒の一種である DNA ポリメラーゼを用いて繰り返し配列の高分子量の二重らせん DNA の合成を行った。poly(dG)・poly(dC)の合成を行い、LB 法を用いて固体基板上に poly(dG)・poly(dC)を伸長固定化した後に単一分子観察をした結果、反応の初期過程では単分散な二重らせん poly(dG)・poly(dC)が重合されるが、反応の進行と共に溶液中のグアニン間で水素結合が形成され、DNA の凝集体が形成されることを明らかにした。

第5章では、塩基配列に選択的な金属化が可能な鋳型 DNA の合成を目指し、DNA ポリメラーゼによって poly(dG)・poly(dC)配列と poly[d(AT)]配列からなるブロックコポリマー型 DNA を作製した (Fig. 2)。連続するグアニン配列に選択的な結合をするプラチナ錯体のシスプラチンと作製した DNA を混合し、還元剤によってプラチナの析出を行い、LB

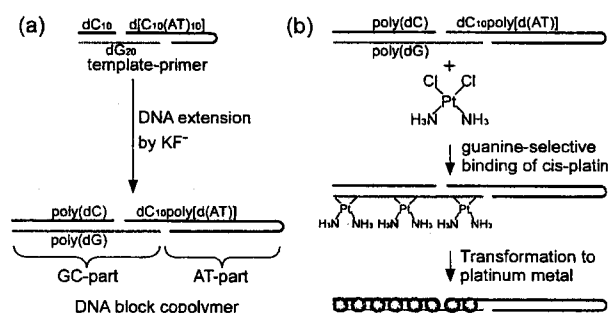


Fig. 2 (a) Schematic illustration of DNA block copolymer preparation by KF. (b) sequence-selective binding of cisplatin to DNA and reduction to platinum metal.

法によって基板上に伸長固定化した。原子間力顕微鏡 (AFM) による観察の結果、poly(dG)・poly(dC)配列選択的に直径 1~2 nm のプラチナが析出していることがわかった。塩基配列がデザインされた DNA を鋳型に用いることによって、金属を任意の位置に析出させることが可能なことを明らかにした。

これらの結果は、DNA を用いた nm スケールでの機能性分子の配列制御・微細加工に関する研究において、DNA の化学的性質・塩基配列情報が、分子サイズの微細構造を構築する上での有用な鋳型となりうることを示している。本研究で得た知見は、今後の DNA を用いたボトムアップ型ナノテクノロジーの発展につながると期待される。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	居 城 邦 治
副 査	教 授	村 越 敬
副 査	教 授	喜多村 昇
副 査	教 授	坂 口 和 靖

学 位 論 文 題 名

Preparation of nanostructure using molecular recognition of sequence-designed DNA

(塩基配列がデザインされた DNA の分子認識によるナノ構造体の作製)

現在、フォトリソグラフィーを代表とする微細加工技術の発展によって、集積回路の小型化・高機能化が実現されてきた。しかしながら、この方法は加工サイズの減少に伴う高コスト・高エネルギー化および加工サイズの限界が唱えられており、新たな加工技術の開発が求められている。そこで近年、原子・分子の自発的な集合・組織化を利用して、低コスト・低エネルギーで極微細構造を可能とするボトムアップ型ナノテクノロジーが次世代微細加工技術として注目されている。

本論文は DNA の自己集合によって形成させた DNA 多重会合体の安定化および構造制御、酵素反応を利用した塩基配列がデザインされた長鎖 DNA の合成とその塩基配列に選択的な金属細線の作製について報告している。相補的な配列を持つ 2 種類の合成 DNA から DNA 多重会合体を形成させ、その 5'末端リン酸基と 3'末端水酸基間の水素結合によって DNA 多重会合体が安定化させること、そして金属イオンの添加によって DNA 多重会合体の構造を制御可能なことを明らかにした。さらに、DNA が生体高分子であることに着目して、DNA ポリメラーゼを用いた塩基配列がデザインされたブロックコポリマー型 DNA である poly(dG)-poly(dC)-poly[d(AT)]の合成法を確立した。また、この DNA を鋳型に用いて poly(dG)-poly(dC)配列に選択的なプラチナクラスターの析出を実現した。

これを要するに、著者は、DNA の化学的性質・塩基配列情報が、ナノメートルスケールの微細構造を構築する上での有用な鋳型になりうるという知見を他に先駆けて見出したものであり、ナノサイエンスに対して貢献するところ大なものがある。

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のあるものと認める。