

平成21年 4月30日現在

研究種目：特定領域研究
 研究期間：2005～2008
 課題番号：17067015
 研究課題名（和文）自己組織化共役ポリマーDNAの電子・光機能性発現とその電荷輸送ダイナミクス
 研究課題名（英文）Electro-optical function and charge transport dynamics in self-organized conjugated polymer DNA.
 研究代表者
 溝口 憲治 (MIZOGUCHI KENJI)
 首都大学東京・大学院理工学研究科・教授
 研究者番号：40087101

研究成果の概要：

生命の遺伝情報を司る DNA は、高い自己組織化能力と設計の自由性を持つ。さらに電気伝導性があればナノエレクトロニクスの素材として有望であることから、その電気伝導性が盛んに研究された。しかし磁気的光学的性質から、基本的に絶縁体であることを明確にした。本研究では次に、DNA に電気伝導性を持たせる可能性の追求と、その基礎物性を明らかにした。方法として、2価金属イオンと DNA の化合物を合成したり、ヨウ素をドーピングして電荷の注入を試みた。また、これらの構造を調べるために、トンネル顕微鏡による DNA の可視化に成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
17年度	6,700,000	0	6,700,000
18年度	6,700,000	0	6,700,000
19年度	6,700,000	0	6,700,000
20年度	6,700,000	0	6,700,000
年度			
総計	26,800,000	0	26,800,000

研究分野：固体物性

科研費の分科・細目：物理学・物性II

キーワード：DNA、2価金属イオン、キャリアドーピング、ESR、1d磁性鎖、STM、構造

1. 研究開始当初の背景

良く知られているように、DNAは生命の遺伝情報を司る高分子であり、その骨格は磷酸と5員環のデオキシリボース糖のセットが交互に連なって構成される。長さは、ミクロンサイズにも及ぶ。各5員環には、グアニン(G: guanine)、シトシン(C: cytosine)、アデニン(A: adenine)、チミン(T: thymine)

の4種の塩基の内の1つが結合しており、複数の水素結合をとおして反平行に配置したもう1本のDNAと2重螺旋を形成する。この時に、プリン塩基のグアニン(アデニン)には必ずピリミジン塩基のシトシン(チミン)のみが、3つ(2つ)の水素結合により結合するため、G-CとA-Tというユニークな組合せしか存在しない。この事実が、DNAの遺伝情報

のユニークな転写を保証している。すなわち、遺伝情報は、この4種の塩基の組合せによって構成されている：3塩基単位で一つのアルファベットを表現し、重複も許されるので、 $4 \times 4 \times 4 = 64$ 通りの要素の組合せになる。これらの情報は、メッセンジャーRNAをとおしタンパク質の合成に使われ、遺伝情報に基づく生命の再生を保証する。DNAに関するこのような基本的な理解は、J. WatsonとF. Crick¹、R. FranklinそしてM. Wilkins等によってNature誌に一連の論文が発表された1953年には得られていた。

一方で最近では、遺伝情報担体という見方から離れた興味も持たれてきた。いわゆる遺伝子工学で発達した技術により、現在では塩基配列を自由に設計することが可能であるし、対を構成する相手の塩基種が限定されるため、3次元的な構造を自己組織化させることも可能である。実際に、1,669塩基からなる単一DNAの自己組織化を使ってナノサイズの正八面体を作った例も報告されている。また、自然状態で安定な構造であるB-formは、2本の高分子骨格の縄に塩基対のステップを挟み込んだような縄ばしごを捻って得られる図1のような構造を持つため、隣接する塩基対がほぼ平行になり、その間の相互作用によるDNAの電子状態も関心を集め、多くの研究が報告された。その中には、常識的には半導体か絶縁体と考えられてきた天然のDNAが、金属、さらには、50 mKの低温まで金属的で、Re-Cの複合電極の超伝導クーパー対による超伝導近接効果まで起こるといふセンセーショナルな報告もされてきた。この様な導電性がDNAに附加することが出来れば、その優れた自己組織化力、構造設計可能性からは豊かな

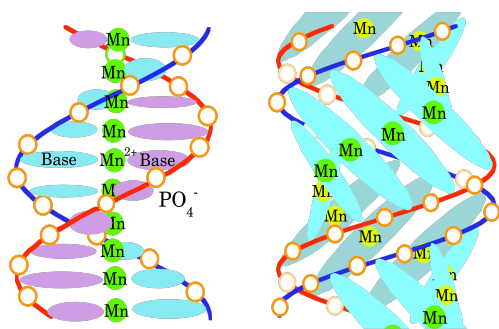


図1：DNAとMnの化合物の模式図。B-form DNAは、塩基対10枚で2重螺旋が一周し、塩基対間にはG-Cで3つ、A-Tで2つの水素結合を持つ。Mnイオンはこれらの水素結合と入れ代わって塩基対間に位置する。高分子骨格内の PO_4 アニオン2つと、 Mn^{2+} カチオンが塩を構成する。右図はもう一つの同位体A-form。

な未来が期待出来ることも確かである。また、塩基対によってその基本的性質が異なることも指摘されており、例えば、G-Cのみから構成される合成DNAでは、p-型半導体で、A-Tの場合にはn-型になると報告されている。これを応用することにより、DNA螺旋が一本のみでもp-n接合などの半導体素子機能を発揮させ得る可能性が浮上してくる。また、金属イオンである Zn^{2+} をDNAに導入することにより、絶縁体であるDNAが、金属的な電気的特性を持つことも示唆されている。

2. 研究の目的

本課題では、DNAの電子状態のキャラクタライズを、電気伝導度以外に、電子常磁性共鳴(EPR)、核磁気共鳴(NMR)、SQUID磁束計等による磁氣的性質を用いて行う。STMによる構造の解明も目指す。現状と将来の可能性をにらみつつ、DNA本来の物性をしっかりと把握したうえで、DNAに新たな機能性を附加し、将来の設計可能な自己組織化ナノエレクトロニクス基礎を構築する事を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 金属DNAの作成：サーモンのDNA 或いは λ -DNAを対象に、金属的なDNAを作成する。最初は、報告されている $\text{Zn}(2+)$ イオンのドーピングを行い、ドーピング前後の色の変化や磁化率の測定からドーピングの効果を実証する。また、ドーピングしたDNA溶液からキャストフィルムを作成し、マクロスコピックな電気伝導特性を調べる。

(2) DNAの磁氣的な特性：未ドーピング及び、ドーピングしたDNAで観測されるスピンの生成原因を調べる。現有のESR装置(10 MHz~20,000 MHz、自製)に加え、高磁場ESR(Qバンド、~35 GHz)装置を用い、g-シフトやESR線形から構造との関係性を調べ、生成原因を探る。

(3) 天然のDNA及び金属を導入したM-DNAの希薄水溶液からHOPG基盤を引き上げ、基盤上に孤立したDNA鎖として取り出す。AFM(Atomic Force Microscopy)及びSTM(Scanning Tunneling Microscopy)によるDNAの直接構造解析を行う。金属イオンの位置や、電子状態をSTMや走査トンネルスペクトロスコピー(STS)を用いて解析する。

4. 研究成果

DNAに電荷担体を導入するには幾つかの可能性が考えられる。一つは、2価金属イオンの導入であり、導電性高分子で確立した方法であるヨウ素を化学的にドーピングする方法

もある。また、最近の手法である、電界により電荷担体を誘起する可能性も興味深い。本研究では主に種々の2価金属イオンによるDNAの電子状態変化を詳細に調べた。

(1) 2価金属イオンのDNAへの導入

Jeremy S. Lee 等は Zn, Co, Niの3種の2価の塩化金属を用い、DNAのNaカチオンを2価金属イオンに置き換え可能であることを示した [1]。構造としては、水素結合の位置に2価金属イオンが入り、2価金属イオンが塩基対を結びつける役割をはたしていると考えられる。水溶液中では、2価のイオンが溶けているよりも、2倍の数の1価イオンが代わりに溶け出して、2価イオンがDNAと結合する方が系のエントロピーが増加するために2価イオンが入りやすいと考えられる。

われわれは更に、他の金属種を導入することを試みたが、Jeremyらの方法では上手くいかなかったため、新たに、純粋中にDNAとMCl₂を溶解して反応させ、Ca, Mg, Mn, Fe, Co, Ni, Zn等を導入したM-DNAの作成に成功した。

図1(左)にLee等により提案されたM-DNAの構造を示す。この構造の実験的な根拠は以下の通りである。

- ① 塩基対間の水素結合のNMR信号強度が、2価金属イオンの挿入に伴い減少・消滅する [1]、
 - ② Mnイオンが図1(右)の様に1次元配列を作ると仮定すると、電子スピン間双極子相互作用によりESR線幅が再現できる、
 - ③ 図2に示すように、Mn-DNAのESRスペクトル線形は、水分量を制御したwetとdryとでは明確に変化する。その様子はMn-DNAも天然DNAと同様な水分量によるB-form ↔ A-form構造転移(図1参照)をすると仮定することで理解可能、
 - ④ 水素結合を必要としないMn-DNAは、水素結合に起因する相補性から天然には存在し得ない塩基の組み合わせ(G-Mn-T, A-Mn-C)でも作成可能、
 - ⑤ Fe-DNAは、乾燥させると水には溶解しなくなる。仮に、2重螺旋の外側にFeイオンが配位しているとする、水和が起こるはずで、この不溶性が理解できない、
 - ⑥ Ni-DNAの高磁場ESRの解析から、Niイオンが感じている結晶場は1軸対称性に近い。1軸対称な結晶場は、Niイオンが2重螺旋外部に配位しているとする仮定とは相容れない、
- しかしながら、最終的には、X線構造解析による確認が望ましいが、DNA単結晶、或いは高配向膜の作成が困難であり、STMによる直接構造観察が有望であると考えている。

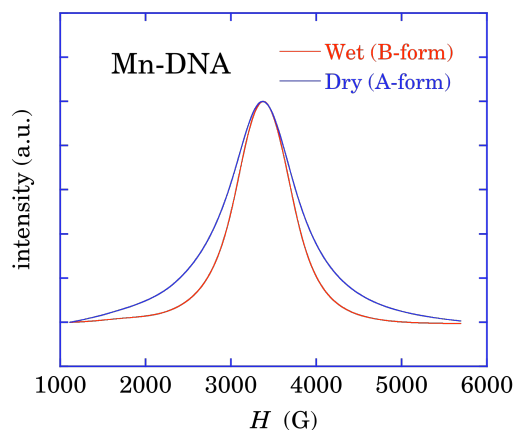


図2 Mn-DNAのESR吸収スペクトル。Wet状態とDry状態ではスペクトル線形が明確に変化する。Dry状態ではローレンツ型になる。しかし、Wet状態の線形は、1次元的な交換相互作用に特徴的な線形(ideal 1D)を示す。

(2) Fe以外のM-DNA

Fe以外の2価金属を導入したDNAは、前述したように、DNAの塩基対の水素結合の位置に入ると理解されている。その際に、2つのNa⁺カチオンと入れ替わるため、DNA本体には電荷担体の導入は起こらない。すなわち、基本的にはπ電子系に変化は起こらない。Rakitin等 [2] が、Zn-DNAのナノスケールの電流電圧特性の測定から、金属的になっていると報告している。しかし、磁化率測定からZnを含むM-DNAにおいては、π電子系は反磁性であり、又、図3に示すように光学吸収的には天然のDNAと有意な差は観測されない。従って、Rakitin等の、Zn-DNAが金属的であるとの結論は、電気伝導度の直接測定に関わる人為的な結果であり、本質的でない原因の可能性が指摘される。

一方、磁気的性質に関しては、Mn-DNAは

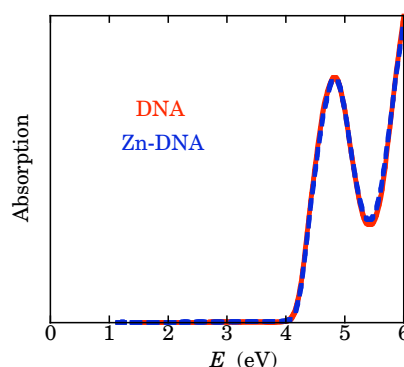


図3 DNAとZn-DNAのそれぞれの水溶液における光学吸収スペクトル。2つのNa⁺が1つのZn²⁺に置換されても、エネルギーギャップにはほとんど影響が出ない。

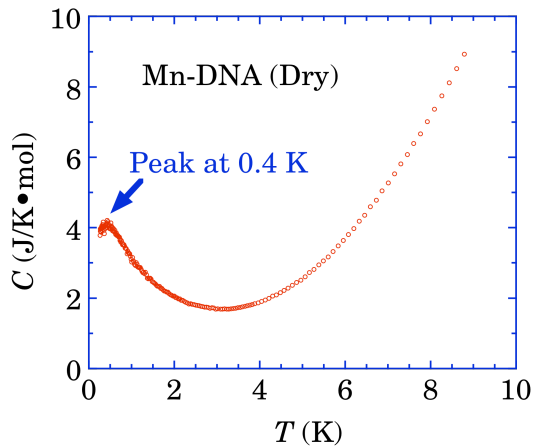


図4 A-form DNAの低温比熱。4 K以下ではフォノン散乱の寄与がほとんど消滅するが0.4 KにMnスピン間の反強磁性的な長距離秩序が発生している。

図1のように一次元鎖を構成している。特に、水分の少ない環境で安定な同位体、A-formの場合には、図4に示すように、その一次元鎖内に加えて、鎖間のMnスピン同士も反強磁性的相互作用するため、0.4 Kで磁気転移を起こすことが確認された。

(3) Fe-DNA

鉄を入れたFe-DNAは、他の2価金属を入れた場合とは定性的に異なることが見出された。他のM-DNAでは、塩基対まで含めたDNA骨格との電子のやりとりは起こらなかった。しかし、Fe-DNAは、塩基或いはDNA骨格に、3d電子を一つ与えてFe自身が3価になっていることを示唆する明確な結果を得た。図5に示すFe-DNAのESR信号の共鳴磁場は、自由電子に期待される $g \approx 2$ に相当する。即ち、3d電子の軌道角運動量が無視できることを示唆しており、3d電子数が5個の Fe^{3+} となり、 $S = 5/2$ を持つと合理的に理解出来る結果である。この事実は、Fe-DNAの色が Fe^{3+} に特有なカーキ色をしていることとも矛盾がない。更に、2 Kにおける磁化曲線からは、 $S = 5/2$ のスピンの存在を明確に示した。一方で、単一のスピン種を仮定したのでは、ESRスペクトルと磁化曲線のどちらも十分な説明が出来なかった。その代わりに、約3 : 1の割合で、 $S = 5/2$ と $S = 1/2$ が混在していると仮定すると、両方の実験結果が良く再現された。又、この2種のスピン種の相対的な割合は、CaによってFeの濃度を希釈して行くにつれ、 $S = 5/2$ のみになっていくこと、又、Feの2つの両側にCaが来ると $S = 5/2$ を持つと仮定すると定性的な理解が可能であることも分かった。こ

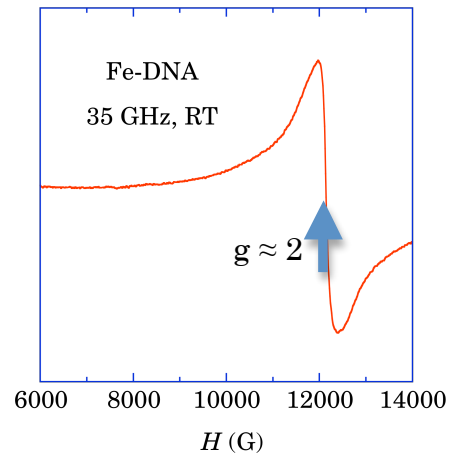


図5 Fe-DNAのQバンドESRの微分スペクトル。ESRの g -値はほぼ2と、自由電子の値に近い。これは、3d電子の軌道磁気モーメントが無視できることを示している。

の様な奇妙で興味深いFe-DNAの振る舞いの原因としては、モデルを立てることは出来ているが、未だ特定するまでには至っていない。

(4) 2価金属イオンの結合状態

核スピン $I = 5/2$ のMnを含むMn-DNAは、測定条件を選ぶ事により、核スピンによる超微細分裂を観測することが出来る。水溶液中のMn-DNAは、比較的狭い線幅と6本の分裂したESRスペクトルを与える。これらの中で、中央に位置する2本の間隔は、電子の波動関数の分布状態を敏感に反映することが知られている。即ち、イオン結合では、波動関数は球形で外に広がらないため、核との相互作用が強くなり、分裂間隔が大きくなる。一方、共有結合では、結合原子の間に波動関数が分布するため、核との結合が弱くなり、分裂間隔が減少する。

表1に、MnのESRスペクトルの超微細分裂の大きさを、種々の母結晶について整理してある。Mn-DNAにおける分裂間隔の実測値、約96 Gと比較すると、イオン性が最も強い CaF_2 結晶中のMnに近いことが分かる。この結果は、 Mn^{2+} カチオンが、塩基対の中央に位置し、電気陰性度の高い4つのNやO分子に囲まれている事を考慮すると、それらの結合がイオン性である事は、自然に受け入れられる結論であると言えよう。

(5) Ni-DNAの高周波ESR

大阪大学の萩原研究室との共同研究により、Ni-DNA中のNiのESR測定を、50 GHzから460 GHzに渡って行った。その動機は、約9.5 GHzのXバンド、及び約35 GHzのQバンド

表1 Mn 不純物における超微細分裂の母結晶依存性。イオン性結合の CaF_2 で大きく、共有結合性の ZnS で小さい。 Mn-DNA の約 96 G は、イオン性がかなり高いことを示している。

母結晶	A (G)
CaF_2	100.5
CaO	91.8
MgO	87.3
ZnS	70.3

でNiのESRを行ったが、観測に失敗していたためである。Ni²⁺イオンはスピンの1で、軌道角運動量が3であるが、結晶場中ではスピン軌道相互作用を通じ縮退が解けて、零磁場分裂 D がESR信号の共鳴磁場を支配する。

スペクトルの共鳴磁場に対して周波数をプロットすることにより、零磁場分裂の大きさ D をパラメーターとして解析した結果、一軸対称性を持つ、 $D \approx 70$ GHzの結晶場で磁場-周波数ダイアグラムが再現できることが分かった。

この結果も、塩基対の面内とそれに垂直な軸からなる一軸対称の結晶場が期待される点から合理的に理解できる。金属イオンの電子状態とM-DNAの構造モデルとの関連を支持する結果と考えられる。

(6) AFM, STMによるDNAの直接画像化の試み

STMは、原子スケールの分解能を持った直接観察の有力な手段として知られている。しかし、直径が2 nmと大きく、エネルギーギャップを持つ絶縁体であるため、トンネル電流が流れにくい。空气中で観測する場合には、DNA表面の水の層が電流パスになるためか、2重螺旋的な画像は幾つか報告されている。しかし、その分解能は、原子レベルには遠く、螺旋の存在が確認できる程度に留まる。

本研究では、HOPG基盤を希薄なDNA水溶液から引き上げることによって孤立したDNA試料を作成した。その結果、DNAの2重螺旋が開いて平らな縄ばしごのような形状の画像が得られた。その分解能は高く、特に塩基対に相当する部分では、塩基の波動関数とHOPGの炭素原子の波動関数とが重なる場合には、比較的明るい原子像が観測された。この様な高分解能画像は、たまたまバッファー

溶液にDNAを溶解せず、純水中にDNAが存在しているために得られたのでは無いかと考えている。即ち、DNA鎖を囲むのはカウンターイオンのNa⁺のみで、HOPGにDNAが付着する際に発生する(PO₄⁻の負電荷がHOPG表面に写った)イメージ電荷との引力により、この様な平面的な縄ばしごDNAが出来たと考えられる。通常のように、高濃度のバッファー溶液中では、PO₄⁻の負電荷がバッファー中の電解質イオンによって遮蔽されるため、2重螺旋が開く様なHOPGとの間の引力が働かないと考えられる。

得られた高分解能のDNA像は、金属イオンを導入したM-DNAの構造を調べることに役立つだけではなく、DNAの塩基配列を考えるにも重要な役割を果たしうる興味深い発見と考えられる。

参考文献

- [1] J. S. Lee, L. J. P. Latimer, and R. S. Reid, *Biochem. Cell Biol.* 71, 162 (1993).
 [2] Rakitin, A. et al. *Metallic Conduction through Engineered DNA: DNA nanoelectronic building blocks.* *Phys. Rev. Lett.* 86, 3670-73 (2001).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

- ① K. Mizoguchi, Physical properties of natural DNA and metal ion inserted M-DNA, *Proc. SPIE* 7040, 70400Q (1-9) (2008). 査読有
- ② J. Qu, F. Z. Khan, M. Satoh, J. Wada, H. Hayashi, K. Mizoguchi and T. Masudaa, Synthesis and charge/discharge properties of cellulose derivatives carrying free radicals, *Polymer* 49, 1490-6 (2008). 査読有
- ③ EPR study of the electronic states in natural and doped DNA, K. Mizoguchi, in S A Hashmi (Ed.), *International Conference of Electroactive Polymers 2004 (ICEP04)*, Dalhausie, India: Allied Publishers. 1 1-10. (2007). 査読有
- ④ Electronic States of natural and metal-ion doped DNAs, K. Mizoguchi, S. Tanaka and H. Sakamoto, *J. Low Temp. Phys.*, 142, 379-82 (2007). 査読有
- ⑤ AF-like Ground State of Mn-DNA and Charge Transfer from Fe to Base- π -Band in Fe-DNA, K. Mizoguchi, S.

Tanaka, M. Ojima, S. Sano, M. Nagatori, H. Sakamoto, Y. Yonezawa, Y. Aoki, H. Sato, K. Furukawa and T. Nakamura, J. Phys. Soc. Jpn. **76**, 043801-1-4 (2007). 査読有

- ⑥ Comment on "Intrinsic Low Temperature Paramagnetism in B-DNA", K. Mizoguchi, S. Tanaka and H. Sakamoto, Phys. Rev. Lett. **96**, 089801 (2006). 査読有
- ⑦ Magnetic study of the electronic states in B-DNA and M-DNA doped with metal ions, K. Mizoguchi, S. Tanaka, T. Ogawa, N. Shiobara and H. Sakamoto, Phys. Rev. B **72**, 033106, (1-4) (2005). 査読有

[学会発表] (計 16 件)

- ① M. Nagatori, M. Ojima, H. Usui, H. Sakamoto, and K. Mizoguchi, Electronic states of Metal-ion doped DNA, ICSM 2008、2008. 7. 9、ガリナス・ブラジル
- ② 永島舞、溝口憲治、坂本浩一、他 4 名、金属をドーピングした DNA の電子状態の湿度依存性 I : 日本物理学会、2007. 9. 22、北大

[図書] (計 2 件)

- ① 溝口憲治 新材料・新素材シリーズ：次世代共役ポリマーの超階層制御と革新機能 (シーエムシー出版, 東京, 2009) p. 352-357.
- ② 溝口憲治、導電性高分子の磁性・電子状態・ダイナミクス、導電性材料技術大全集 (技術情報協会, 東京、2007) 上巻, p. 455-86.

[その他]

ホームページ等

<http://spinmnan.phys.metro-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

溝口 憲治 (MIZOGUCHI KENJI)

首都大学東京・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：40087101

(2) 研究分担者

坂本 浩一 (SAKAMOTO HIROKAZU)

首都大学東京・大学院理工学研究科・助教
研究者番号：90187047