

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19350106
 研究課題名（和文） DNA コンジュゲート導電性高分子による単一分子エレクトロニクス素子の作製
 研究課題名（英文） Preparation of Single Molecular Electronics Device based on DNA-Conductive Polymer Conjugate
 研究代表者
 居城 邦治 (IJIRO KUNIHARU)
 北海道大学・電子科学研究所・教授
 研究者番号：90221762

研究成果の概要：

高度情報通信社会を将来にわたって持続的に発展させるためには、電子デバイスの微細化と高性能化を低コストでさらに進めなければならないが、これは従来の半導体デバイスの延長線上では実現が困難であり、それに代わる新しいナノデバイスの開発が不可欠である。そこで本研究では単一分子で動作する極微細ナノデバイスの作製を目標として、DNAの自己組織化と無電解メッキを応用することで単一分子デバイスを作製する手法の開発を行った。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	8,900,000	2,670,000	11,570,000
2008年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
年度			
年度			
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：材料化学／高分子・繊維材料

キーワード：天然・生体高分子材料

1. 研究開始当初の背景

半導体産業では微細加工に微細加工を重ねるといったトップダウン的な手法をとってきており、現在のトランジスターの最小寸法は45nm程度に達している。しかし、そのための設備投資、製造コストは膨大なことから、省エネ、低環境負荷なナノテクノロジーとして期待されている「自己組織化」を使ったボトムアップ手法の開発が急がれている。導電性高分子は有機EL、高分子LED、有機トランジスターの材料として注目されてい

る。現在は材料にバルク（塊り）を使っているため、半導体と比べるとキャリア移動度が3桁は低いのが問題である。単一分子の導電性高分子で有機トランジスターを作ることが出来れば、分子本来の特性を引き出した高キャリア移動度の分子デバイスの作製が可能になると期待される。

導電性高分子から単一分子デバイスを作製するために、2つの金属電極のナノメートルのギャップ間に導電性高分子1分子を挿入する必要がある。従来の手法は、間隔の決

まった電極間に導電性高分子をはめ込むためには電極間隔にあわせて長さの決まった導電性高分子を必要としていた。そのため、これまで導電性高分子の長さを制御した合成法について研究されてきた。例えば、青野らはジアセチレンからなる自己組織化単分子膜を作製し、STMの短針からの電子注入によって位置選択的に合成を開始することによって長さの決まったポリジアセチレンの合成に成功している (*Nature*, 409, 683-684(2001))。また、坂口らは電気化学エピタキシャル法によって異なるモノマーから成る導電性高分子を電気パルスに依存して合成できることを示した (*Science*, 310, 1002-1006(2005))。しかしながら、ナノギャップ電極に1分子の導電性高分子を固定するには至っていない。

2. 研究の目的

そこで本申請ではこれらの問題点を解決するために、発想を逆転した。すなわち、2つの電極のナノギャップに導電性高分子を橋渡しするのではなく、導電性高分子の両端にメゾスコピックな電極を作製するという手法を提案する。特にここではDNAを鋳型として選択的無電解メッキする技術を使い電極の作製を行う。長さの決まった導電性高分子の両端を選択的にナノメッキして金属を析出することで1分子の導電性高分子と電極との接合を目指す。

3. 研究の方法

2つの金属ナノワイヤーと単一分子の導電性高分子のナノ接合を作製するには、図1の示すように、導電性高分子の両末端にオリゴヌクレオチドを結合し、酵素によるDNA重合を行い、基板に伸長固定化し、DNA部分を選択的無電解メッキする必要がある。

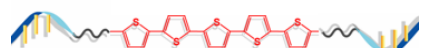


図1-1 オリゴヌクレオチドを両末端に持つ導電性高分子

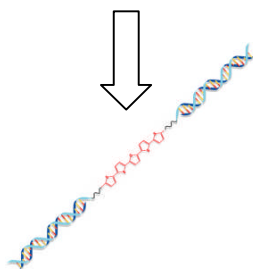


図1-2 酵素によるDNAの重合伸長と基板への伸長固定化

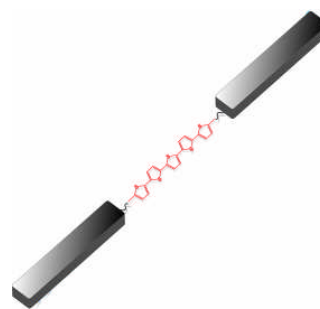


図1-3 DNAの選択的無電解メッキによるナノ電極の作製

この作製手法を実証するために以下の各ステップの研究を行った。(1)オリゴヌクレオチドからDNAへの重合伸長反応の開発(2)DNAの選択的無電解メッキによるナノ電極の作製方法の開発、(3)モデル化合物であるポリエチレンオキシド(PEG)の両末端に結合したオリゴヌクレオチドの重合伸長反応の開発

4. 研究成果

(1)オリゴヌクレオチドからDNAへの重合伸長反応の開発

HPLCによって精製したdG₁₀、dC₁₀、dA₂₀、dT₂₀を用いた。これらを相補的なDNA溶液が等モル量となるように混合しtemplate-primerとした。dA₂₀・dT₂₀に対してはdATPとdTTPを、dG₁₀・dC₁₀に対してはdGTPとdCTPを加えてDNAポリメラーゼによる重合反応を行った。電気泳動を行った後、その結果から各template-primerの伸長速度を決定した。これを元に5000bp(計算値:1.7μm)のpoly(dA)・poly(dT)と6000bp(計算値:2.0μm)のpoly(dG)・poly(dC)を合成し、LB法によってマイカ基板に移し取り、AFMによって単一分子観察を行った。

電気泳動速度はDNAの塩基配列や高次構造形成によって変化するため、合成したDNAをマイカ基板上にLB法によって伸長固定化し、構造と鎖長の検討をAFMによって行った(図2)。Poly(dA)・poly(dT)においては平均高さ0.46nm、平均鎖長1.8μmとなり、poly(dG)・poly(dC)は平均高さ0.32nm、平均鎖長2.2μmであった(それぞれ図2(a)(b))。DNAの直径は約2nmだが、Lambda DNAをLB法によって基板に伸長固定化した場合、高さは0.4nm、鎖長も1.2倍程度増加することを確認している。そのため、本研究で合成したDNAは二重らせん構造を形成しており、鎖長も電気泳動で示された分子量と一致していることが示された。以上の結果より、DNAポリメラーゼによる重合反応を用いる

ことによって塩基配列および鎖長を制御した長鎖 DNA の重合が可能であることが示された。

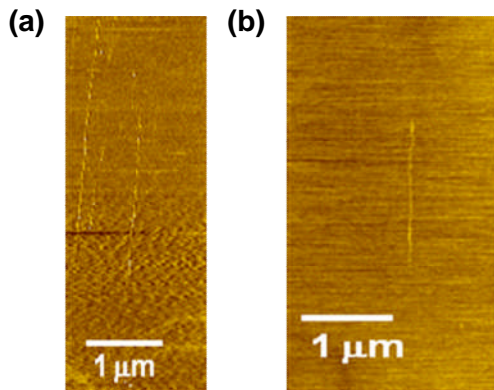


図2 酵素合成したDNAのAFM像
(a) poly(dA)-poly(dT).
(b) poly(dG)-poly(dC).

(2) DNAの選択的無電解メッキによるナノ電極の作製方法の開発

実験にはHPLCによる精製を行った dG₂₀, dC₁₀, dC₁₀(AT)₁₀を用いた。これらのDNAを等モル量で混合し、DNAポリマーゼ(KF⁻)によるDNA重合反応の出発物質(template-primer)とした。最終濃度で KPi: 60 mM, DTT: 1 mM, MgCl₂: 5 mM, template-primer: 0.1 μM, dNTPs: 1 mM, KF⁻: 7.5 U となるように酵素反応溶液 30 μl を調製し、37℃で反応させてDNAブロックコポリマーを合成した(図3(a))。この反応溶液にグアニンの連続配列に選択的な結合をするシスプラチンを加え、ジメチルアミンボラン(DMAB)によって還元後、LB法によって基板上に伸長固定化し、AFMによって観察した(図3(b))。

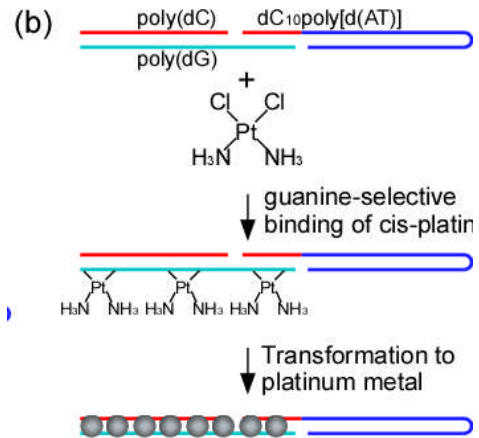
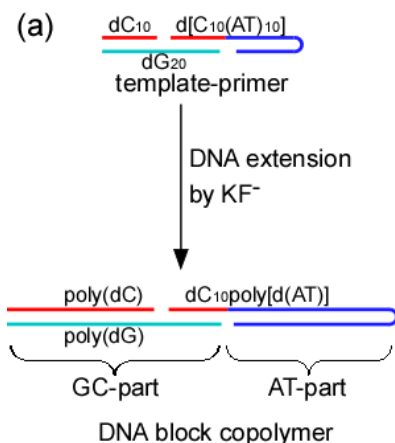


図3 (a)酵素反応によるDNAブロックコポリマーを合成、(b)グアニンへのシスプラチンの選択的結合と還元によるPtナノワイヤの作製

図4にAFMによる観察結果を示す。ひも状構造が観察され、その高さは2種類のブロックに分かれていることがわかった。一方(図3 Segment B)は平均高さが0.70 nmでDMABによる還元前のDNAと同じ高さであることからpoly[d(AT)]部分であり、もう一方(図4, Segment A)は平均高さが1.43 nmで、DMABによる還元前より高さの上昇が観察されたことからプラチナの析出が起こったpoly(dG)・poly(dC)部分であると考えられる。以上から、塩基配列をデザインしたDNAを鋳型とすることで塩基配列に選択的な金属の析出が可能であることが示された。

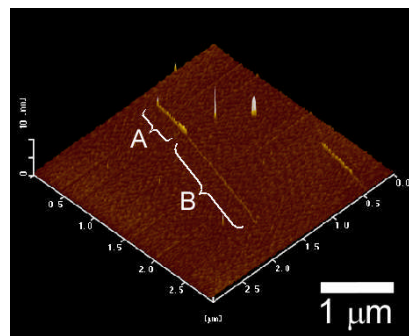


図4 シスプラチンの還元後のDNAブロックコポリマーのAFM像

(3) モデル化合物であるポリエチレンオキシド(PEG)の両末端に結合したオリゴヌクレオチドの重合伸長反応の開発

各種オリゴヌクレオチド dG₁₀、dA₂₀、および、5'末端をアミノ基修飾した NH₂-5'-dT₂₀、NH₂-5'-dC₁₀ を用い、それら DNA の両末端をリンクする分子として、両末端のカルボン酸を NHS で活性化したスベリン酸 (DSS) を用いた。NH₂-5'-dC₁₀、NH₂-5'-dT₂₀、DSS を等モル量、遮光下で反応し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) によって目的の生成物である dT₂₀-12-dC₁₀ を精製した (図 5 (A))。得られた dT₂₀-12-dC₁₀、dG₁₀、dA₂₀ を等モル量で混合した後、DNA ポリメラーゼは Klenow fragment exo⁻ (KF) により DNA の重合伸長を行った (図 5 (B))。

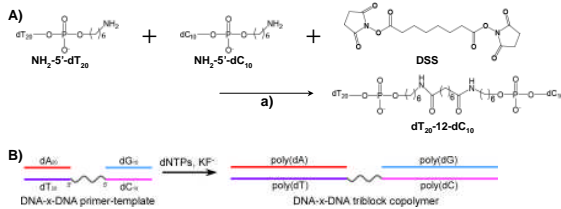


図5 (A) dT₂₀-12-dC₁₀ の合成、(B)酵素反応によるオリゴヌクレオチドのDNAへの重合伸長反応

合成した dT₂₀-12-dC₁₀ は PAGE 精製後、抽出した DNA 溶液を MALDI-TOF Mass によって分析した。これは理論値 9596 g/mol とほぼ一致することから目的の dT₂₀-12-dC₁₀ であることがわかった。精製した dT₂₀-12-dC₁₀ を用いて KF による重合を行ったアガロース電気泳動結果を示す (図 6)。dT₂₀-12-dC₁₀ に dA₂₀ のみを加えて primer-template とした場合 (lane 1) と dT₂₀-12-dC₁₀ に dG₁₀ のみを加えて primer-template とした場合 (lane 2)、dT₂₀-12-dC₁₀ に dA₂₀、dG₁₀ を加えて primer-template とした場合 (lane 3) のすべてのレーンで高分子量のスメアなバンドが観察された。これらのバンドはそれぞれ poly(dA) · poly(dT)-12-dC₁₀、dT₂₀-x-poly(dG) · poly(dC)、poly(dA) · poly(dT)-12-poly(dG) · poly(dC) が DNA ポリメラーゼによって生成したことを示しているため、分子の中心にヘキシル基を導入した primer-template でも DNA ポリメラーゼによる重合伸長が可能なことが示された。

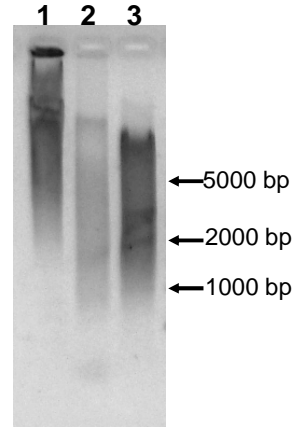


図6 電気泳動結果

lane

- 1) extension from dA₂₀+dT₂₀-12-dC₁₀
- 2) dG₁₀ + dT₂₀-12-dC₁₀
- 3) dA₂₀ + dG₁₀+dT₂₀-12-dC₁₀.

以上の結果より、(1) オリゴヌクレオチドからDNAへの重合伸長反応の開発 (2) DNA の選択的無電解メッキによるナノ電極の作製方法の開発、(3) モデル化合物であるポリエチレンオキシド(PEG)の両末端に結合したオリゴヌクレオチドの重合伸長反応の開発に成功した。この成果は、世界にさきがけて、ナノギャップ電極に1分子の導電性高分子を固定する指針を示すものであり、この手法を用いることで PEG から導電性高分子と展開することで導電性高分子からなる単一分子デバイス容易に作製できるものと期待される。

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 10 件)

- ① H. Yabu, Y. Hirai, Y. Matsuo, K. Ijiro, and M. Shimomura, "Double-layered Metal Mesh Film Having a Limited Viewing Angle Property Prepared by Electroless Plating of Self-organization Honeycomb Film", Macromolecular Symposia, 267, 100-104, 2008, 査読有
- ② A. Tanaka, Y. Matsuo, Y. Hashimoto, and K. Ijiro, "Sequence-specific platinum metal deposition on enzymatically synthesized DNA block copolymer", Chem. Commun., 2008, 4270-4272, 2008, 査読有
- ③ A. Tanaka, Y. Matsuo, K. Niikura, and K.

- Ijro, "Stabilization of Multiassembly by Addition of a Phosphate Group at the 5'-Sticky End", *Chemistry Letters*, 37(7), 758-759, 2008, 査読有
- ④ O. Haruta, Y. Matsuo, Y. Hashimoto, K. Niikura, and K. Ijro, "Sequence-Specific Control of Azobenzene Assemblies by Molecular Recognition of DNA", *Langmuir*, 24(6), 2618-2624, 2008, 査読有
- ⑤ N. Ohtake, K. Niikura, T. Suzuki, K. Nagakawa, H. Sawa, and K. Ijro, "Enhanced Cellular Uptake of Virus-Like Particles through Immobilization on a Sialic Acid-Displaying Solid Surface", *Bioconjugate Chemistry*, 19, 507-515, 2008, 査読有
- ⑥ T. Masuda, H. Akita, T. Nishio, K. Niikura, K. Kogure, K. Ijro, and H. Harashima, "Development of lipid particles targeted via sugar-lipid conjugates as novel nuclear gene delivery system", *Biomaterials*, 29, 709-723, 2008, 査読有
- ⑦ Y. Tsuboi, M. Nishino, Y. Matsuo, K. Ijro and N. Kitamura, "Phase Separation of Aqueous Poly(vinyl methyl ether) Solutions Induced by the Photon Pressure of a Focused Near-Infrared Laser Beam", *Bull. Chem. Soc. Jpn*, 80(10), 1926-1931, 2007, 査読有
- ⑧ R. Kamitani, K. Niikura, T. Onodera, N. Iwasaki, H. Shimaoka, and K. Ijro, "Patterned Immobilization of Unprotected Carbohydrates on an Aminoxy Polymer-Grafted Solid Surface", *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 80(9), 1808-1813, 2007, 査読有
- ⑨ 山本貞明, 田中賢, 伊藤絵美子, 森田有香, 角南寛, 居城邦治, 下村政嗣: 「血管内皮細胞の初期伸展に及ぼすハニカムフィルム細孔径の影響」, *表面科学*, 28(8), 433-439, 2007, 査読無
- ⑩ O. Haruta, and K. Ijro, "Application of Oligonucleotide as a Template for the Assembly of Nucleoamphiphile Bearing Azobenzene at the Air-Water Interface", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 7, 734-737, 2007, 査読有
- Sequence-Selective Fabrication of Platinum Nanowires" AsiaNANO2008 (Asian Conference on Nanoscience and Nanotechnology), 2008/11/3-7, Singapore.
- ③ K. Ijro, "DNA Sequence Specific Fabrication of Metal Nanostructures", *Korea-Japan Joint Forum (KJF) 2008*, 2008/10/23-25, Chitose Institute of Science and Technology (CIST), Chitose.
- ④ K. Ijro, "2-D organic and inorganic nanofabrication through molecular recognition of DNA at the air-water interface" *SPIE Optics + Photonics 2008*, 2008/8/12-14, San Diego, USA.
- ⑤ K. Ijro, "DNA-assisted Fabrication of Photoluminescent Silver Nanoparticles" *2007 Korea-Japan Symposium on Frontier Photoscience(KJFP 2007)*, 2007/11/22-25, Gyeongju, Korea.
- ⑥ K. Ijro, "DNA-templated fabrication of metal nanowires and nanoparticles", *Joint Symposium for the Promotion of Academic exchange on Nanotechnology and Nanobiology*, 2007/11-2, Sapporo.
- ⑦ 松尾保孝, 佐藤壮人, 石川綾子, 居城邦治: 「DNA を用いた発光性銀ナノ粒子の作製とバイオイメージングへの応用」, 第 22 回生体機能関連化学シンポジウム, 2007/9/28-29, 東北大学多元物質科学研究所
- ⑧ 松尾保孝, 佐藤壮人, 石川綾子, 居城邦治: 「DNA でコートした銀ナノ粒子の作製と光励起発光現象」, 第 60 回コロイドおよび界面化学討論会, 2007/9/20-22, 信州大学
- ⑨ 居城邦治, 佐藤壮人, 石川綾子, 松尾保孝: 「オリゴヌクレオチド/銀ハイブリットナノ粒子の作製と発光特性解析」, 第 56 回高分子討論会, 2007/9/19-21, 名古屋工業大学
- ⑩ 居城邦治, 田中あや, 佐藤壮人, 橋本裕一, 松尾保孝: 「分子集合体システムの金属化による機能性ナノ構造形成」, 2007 年秋季 第 68 回応用物理学会学術講演会, 2007/9/4-8, 北海道工業大学
- ⑪ 松尾保孝, 石川綾子, 佐藤壮人, 居城邦治: 「核酸塩基を用いて作製した銀ナノ粒子の発光特性」, 2007 年秋季 第 68 回応用物理学会学術講演会, 2007/9/4-8, 北海道工業大学
- ⑫ K. Ijro, M. Sato, K. Niikura, Y. Matsuo, "DNA-metal hybrid nanomaterials" *SPIE Optics+Photonics 2007*, 2007/8/26-30, San Diego, USA.
- ⑬ 居城邦治: 「DNA を鋳型とした機能性ナノ構造の構築」, 第 40 回若手ペプチド夏の勉強会, 2007/8/5-7, 小樽

[学会発表] (計 14 件)

- ① K. Ijro, "Fabrication of Nanowires by Base-Selective Metallization of DNA", *Japan-Korea-China Mini-symposium on Nanotechnology, Biotechnology and Catalysis -Satellite Session-*, 2008/11/7, Hokkaido University, Sapporo.
- ② K. Ijro, Y. Matsuo, A. Tanaka, "DNA

- ⑭ 居城邦治:「水面単分子膜上での核酸分子の認識」, 超分子組織体の構造と機能化に関するシンポジウム, 2007/4/21-22, 東京工業大学

[図書] (計3件)

- ① 居城邦治: エヌ・ディー・エス, 超分子サイエンス&テクノロジー—基礎からイノベーションまで—, 2009, 第4章, 957-965
- ② 居城邦治, 新倉謙一, 松尾保孝: シーエムシー出版, 金属・マイクロ粒子の形状・構造制御技術, 2009, 第7章, 188-198
- ③ 新倉謙一, 居城邦治: シーエムシー出版, 量子ドットの生命科学領域への応用, 2007, 195-203

6. 研究組織

(1) 研究代表者

居城 邦治 (IJIRO KUNIHARU)
北海道大学・電子科学研究所・教授
研究者番号: 90221762

(2) 研究分担者

新倉 謙一 (NIIKURA KENICHI)
北海道大学・電子科学研究所・准教授
研究者番号: 40360896

松尾 保孝 (MATSUO YASUTAKA)
北海道大学・電子科学研究所・助教
研究者番号: 90374652

(3) 連携研究者

なし