

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19750121

研究課題名（和文） 基板上での DNA マッピングを用いた発光性金属錯体配列

研究課題名（英文） Fabrication of emissive metal complex arrays using DNA programmed mapping on a surface

研究代表者 小林 克彰

甲南大学・先端生命工学研究所・講師

研究者番号：30433874

研究成果の概要（和文）：DNA をナノワイヤ配線の材料として用い、基板表面における位置選択的なナノワイヤの構築を行った。DNA 捕捉分子を微細パターン状に表面修飾することで、捕捉分子を介した位置選択的な DNA 配線を構築した。また、金薄膜上に赤外レーザーの焦点を合わせると、周囲の物質が焦点に急速に引き込まれる、Laser pull-in effect を発見した。この効果を用いることで、DNA の塩基配列方向を制御した DNA 配線が簡便に出来ることを発見した。

研究成果の概要（英文）：DNA nanowire fabrication on a desired position was established. DNA capture molecule was newly synthesized and patterned on a surface which afforded the immobilization of DNA nanowire at a particular position. Moreover, we discovered “Laser pull-in effect” which is the rapid convergent suction toward a laser focal point on a Au film surface. This effect led to the fabrication of DNA nanowire with the control of base sequence orientation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,000,000	0	1,000,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	660,000	3,860,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：分子素子・自己集合

## 1. 研究開始当初の背景

近年、基板表面上のナノサイエンスはフォトリソグラフィに代表されるトップダウン法と、分子設計が可能なボトムアップ法との合流点となりつつある。中でもナノワイヤを用いて、マイクロメートルサイズの電極間を繋いだ系では、ナノトランジスタやナノセンサーへの応用が期待されている。こ

れらのナノワイヤを用いたナノデバイスの機能は、ナノワイヤの性質に依存し、これまでも様々なナノワイヤが報告されている。DNA を鋳型として用いたナノワイヤは、DNA 自身を修飾機能化が可能のため、様々な機能付与が期待される。

DNA をワイヤーとして用いた例として、気液界面の表面張力を用いて、DNA を直鎖

状配線としたものが報告されている(X. Michalet, et al., *Science*, 277, 1518(1997)). また、DNA を鋳型とした銀イオンの還元による銀被覆ナノ配線 (E. Braun, et al., *Nature*, 391, 775(1998))を構築し、導電性の向上させた例もある。さらには、ポリアニリン修飾したDNA 上で $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ を通电により発光させた例がある(N. Kobayashi et al. *J. Mat. Chem. II*, 1766 (2001)). これらの例では、DNA の直鎖状アニオン性ポリマーとしての性質を主に利用して機能化を行ったものである。しかし、DNA のもう一つの重要な特徴である、情報保持能を活かしているとは言えない。最近報告されているように、DNA の塩基配列情報を用いれば、基板平面上で自在に図形を描くことも可能である(P. W. K. Rothmund, *Nature*, 440, 297(2006)). 本研究では、DNA の塩基配列情報を用いて分子配列を構築し、さらには基板平面上の決められた位置に決められた配向で配置することを目指した。

## 2. 研究の目的

DNA の塩基配列情報を用いて、基板上にナノサイズの座標を作成し、その上に発光性錯体をマッピングすることを目的とした。概念図を Fig. 1 に示す。DNA は情報分子としての機能を有し、これをナノワイヤの素材として利用すれば、ワイヤ自身に位置情報をコードすることが出来るため、マイクロサイズ電極間の2次元平面をマッピングすることが出来ると考えられる。マッピングする分子として発光性の錯体を用いるため、分子が適切に配置されているかという評価は蛍光顕微鏡で行うことが出来る。本研究はバイオナノ材料及び発光材料の両面において、新しい展開を示すものと期待できる。

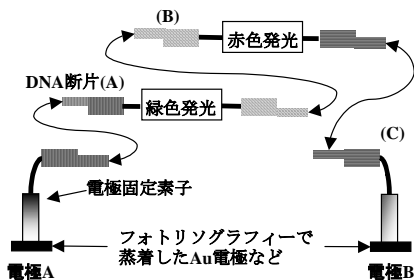


Fig. 1 DNA を用いた分子マッピングの概念図。DNA 断片上に DNA の接続情報((A)、(B)、(C)など)を導入して位置をプログラムする。

## 3. 研究の方法

上記の目標を達成するためには、(1)DNA ナノワイヤの位置、塩基配列方向を制御した新規な DNA 配線法及び(2)発光錯体を塩基配列上に配置したマイクロメートルサイズの DNA の調製、が必要である。本研究では、まず、(1)に関する研究を行った。固定方法として、次の二つの方法を試みた。

### ①DNA 捕捉錯体を用いた位置選択的な DNA

ナノワイヤの調製 DNA の捕捉錯体及び、Si/SiO<sub>2</sub>を基板とした Au パターン電極上への捕捉錯体の選択的な修飾法を Fig. 2 に示す。DNA 捕捉錯体は、DNA インターカレータであるアクリジンを上部に有する。また、6 配位の Ru 錯体の下に 4 つのホスホン酸基をアンカー基として導入し、表面に吸着した際に分子自体が垂直に配向するように設計した。分子の修飾は、予め SiO<sub>2</sub>表面をアルキルホスホン酸で修飾したのち、Au 電極上にメルカプトブチルホスホン酸及びジルコニウムイオンを介して、DNA 捕捉錯体を修飾した。DNA の配線は、分子修飾した Au パターン基板を DNA の溶液に浸し、液中から基板を引き上げることで、DNA を伸張固定した (分子コーミング法)。

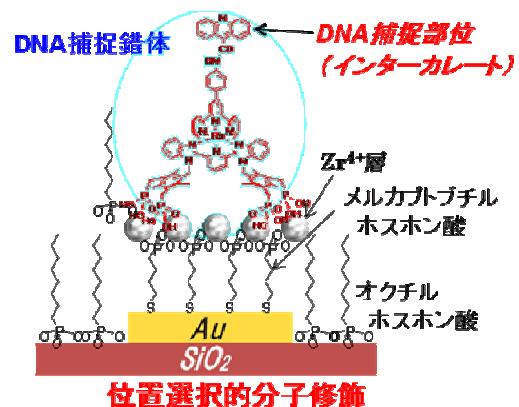


Fig. 2 DNA 捕捉錯体の位置選択的な表面修飾。アンカー基の表面選択性を利用する。

### ②光ピンセットを用いた DNA 配線の構築

DNA の片方の末端をマイクロメートルサイズのビーズに固定し、光ピンセットでビーズを操作・配置することで DNA 配線の起点を設定した。DNA にはλ-DNA を用い、λ-DNA の片端の粘着末端に相補的な biotin で修飾されたオリゴ DNA をハイブリダイズさせ、リガーゼで処理して、ビオチン修飾λ-DNA を調製した。この DNA をアビジン修飾ビーズ上に、アビジン-ビオチン結合を介して固定した(Fig. 3)。固定された DNA は、SYBR Gold 染色を施し、蛍光顕微鏡で観察した。光ピンセットで配置した DNA の伸張固定は、本研究で新しく発見した Laser Pull-in Effect (後述)により行った。



Fig. 3 DNA 修飾ビーズ

## 4. 研究成果

(1) DNA 捕捉錯体を用いた位置選択的な DNA ナノワイヤの調製 DNA 捕捉錯体の位置選択的修飾は、Si/SiO<sub>2</sub>を基板表面上に作成

した、2-6  $\mu\text{m}$  サイズのくし形電極上で行った。DNA 捕捉錯体の位置選択的修飾の確認は、TOF-SIMS を測定して、表面に修飾した分子の分子量をイメージングすることで行った。その結果、DNA 捕捉錯体のマスパターンは Au 電極上に局在していることが判った。この基板を用いて、分子コーミング法により DNA を表面に伸張固定したところ、Au パターン電極間に選択的に DNA が配線されていることを確認した(Fig. 4A)。さらに、DNA 配線を鋳型として、Pd (Fig. 4B)または Cu の無電解メッキにより、金属ナノ細線を電極間に構築した。この金属ナノワイヤは、数 G オームの非常に大きな抵抗を有するが、オーミックな伝導性を示した。

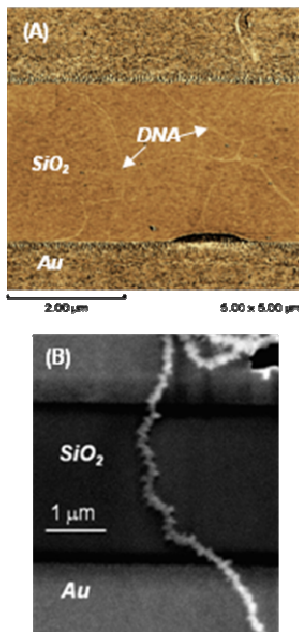


Fig. 4 DNA 捕捉錯体を用いて位置選択的に構築した DNA 配線(A)と DNA の無電解メッキにより調製した Pd ナノ配線(B)。

## (2) 光ピンセットを用いた DNA 配線の構築

①Laser pull-in effect の発見 光ピンセットの赤外レーザーの焦点を、10 nm の Au 蒸着膜上に合わせると、周囲にある分子が焦点に向かって急速に引き込まれることを発見した(Laser pull-in effect)。この効果は、SiO<sub>2</sub> 表面などの赤外線を透過する材料表面では観察されない。また、Au 蒸着膜の膜厚が 30 nm 以上になると、Laser pull-in effect が起こらな

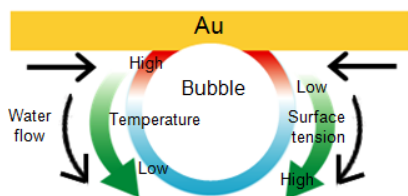


Fig. 5 レーザー焦点におけるマランゴニ対流

いことを確認した。この効果は、赤外線を表面で吸収した際に、局所的な加熱により発生するマイクロナノバブルが原因と考えられる。マイクロナノバブルの汽水界面にレーザー焦点を熱源とした温度勾配が生じ、その結果生じる表面張力差によって起こるマランゴニ対流が主な原因であることが判った(Fig. 5)。そのため、系中に界面活性剤を混入させると、引き込み効果は極端に弱くなることが判った。

## ②Laser pull-in effect を用いた DNA 配線の構築

片方の末端を基板表面に固定した DNA に Laser pull-in effect を適用すると、固定末端を起点として、もう一方の自由な DNA 末端がレーザー焦点に引き込まれるため、DNA が伸長することが判った。基板への DNA の固定方法は Avidin-biotin 結合、Au-thiol 結合を用いて行い、それぞれの DNA で引き込み効果を検討した。Avidin-biotin 結合を用いた場合、Au 表面は Avidin 蛋白質の厚い膜で覆われているため、伸張した DNA は固定されることがなく、レーザーを切ると縮まって元の起点の位置に戻ることが判った。一方、Au-thiol 結合を用いた場合では、Au は剥き出しになっているため、Laser pull-in effect によって伸ばされた DNA はマイクロバブルの周囲で Au と相互作用してピン止めされ、DNA は伸張固定されることが判った。従って、分子修飾を施さない Au 表面上で DNA の分子配線が可能であることが判った。

DNA 配線の起点位置を自在に制御するために、マイクロメートルサイズのビーズに DNA を修飾し、ビーズを光ピンセットで操作・配置を

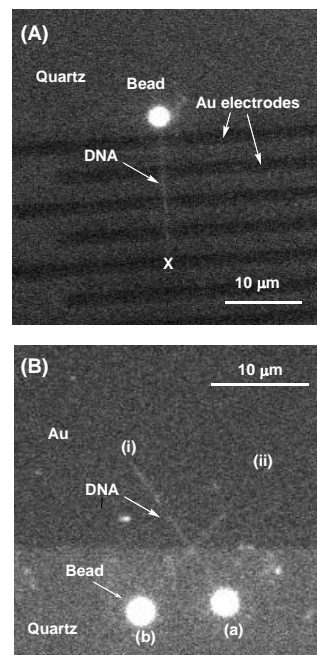


Fig. 6 Laser pull-in effect を用いて作成した DNA 配線(A)及び DNA ジャンクション

することで、自在に起点を設定可能にした。固定されたビーズを起点として、Laser pull-in effect を利用して、位置選択的に DNA の配線に成功した(Fig. 6A)。ここで注目すべきことは、ビーズに固定する末端は任意に設定可能であることから、ビーズを起点として塩基配列方向が伸張方向に制御されている点である。従って、本研究で行った配線は位置及び塩基配列情報を活かした極めて新規性が高い配線方法である。この方法を用いれば Fig. 6B に示すような、任意の位置に DNA のナノジャンクションを作ることも可能である。現在までに、本研究のように自在に DNA を配置・配線した例は無く、今後、ナノサイエンスの分野をリードする方法と成り得ると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計 3 件)

- (1) Sho Fujii, Katsuaki Kobayashi, Katsuhiko Kanaizuka, Tetsuaki Okamura, Shoichi Toyabe, Eiro Muneyuki, Masa-aki Haga, “Observation of DNA pinning at laser focal point on Au surface and its application to single DNA nanowire and cross-wire formation”, *Bioelectrochemistry*, in press(2010), 査読有
- (2) Sho Fujii, Katsuaki Kobayashi, Katsuhiko Kanaizuka, Tetsuaki Okamura, Shoichi Toyabe, Eiro Muneyuki, Masa-aki Haga, “Manipulation of single DNA using a micronanobubble formed by local laser heating on a Au-coated surface”, *Chem. Lett.* 39, 92-93(2010), 査読有
- (3) Katsuaki Kobayashi, Naoya Tonegawa, Sho Fujii, Jiro Hikida, Hisakazu Nozoye, Ken Tsutsui, Yasuo Wada, Makoto Chikira, Masa-aki Haga, “Fabrication of DNA nanowires by Orthogonal Self-assembly and DNA Intercalation on a Au Patterned Si/SiO<sub>2</sub> Surface”, *Langmuir*, 24, 13202-13211 (2008), 査読有

#### 〔学会発表〕(計 14 件)

- (1) 小林克彰、小野領也、筒井謙、和田恭雄、杉本直己、“生命分子の挙動に及ぼす分子環境の効果(4) DNAの金表面固定における分子サイズ効果” 日本化学会第90回春季年会、2010年3月26日、近畿大学
- (2) 藤井翔、金井塚勝彦、小林克彰、岡本哲明、鳥谷部祥一、宗行英朗、芳賀正明、“金表面上DNA単分子の伸張固定操作” 第62回コロイドおよび界面化学討論会、2009年9月19日、岡山理科大学
- (3) 小関秀幸、藤 翔、鈴木健司、金井塚勝彦、小林克彰、筒井謙、和田恭雄、芳賀正明、“チオール修飾DNAを用いたDNAの伸張固定に及ぼす表面の影響” 第62回コロ

イドおよび界面化学討論会、2009年9月19日、岡山理科大学

- (4) 藤井翔、小林克彰、岡本哲明、鳥谷部祥一、宗行英朗、芳賀正明、“金表面でのレーザーによる位置・本数を制御したDNA単分子の伸張固定” 日本化学会第89回春季年会、2009年3月27日、日本大学
- (5) S. Fujii, K. Kobayashi, S. Toyabe, T. Okamoto, E. Muneyuki, M. Haga, ” Fabrication of DNA Nanowire by Controlling DNA Movement on Solid Surface by Optical Tweezers” 2008 MRS Fall Meeting, 2008年12月3日、ボストン・アメリカ
- (6) S. Fujii, K. Kobayashi, S. Toyabe, T. Okamoto, E. Muneyuki, M. Haga, ” Fabrication of DNA Nanowire by Optical Tweezers at a Defined Place” 2008 Korea-Japan Symposium on Frontier Photoscience, 2008年9月27日、韓国
- (7) 引田二郎、小関秀幸、小林克彰、筒井謙、和田恭雄、芳賀正明、“DNA捕捉錯体を用いて伸長固定したDNAナノワイヤードバイスの構築” 第61回コロイドおよび界面化学討論会、2008年9月9日、九州大学
- (8) 小関秀幸、引田二郎、小林克彰、筒井謙、和田恭雄、芳賀正明、“DNA捕捉分子を用いた金表面でのDNA配線” 第61回コロイドおよび界面化学討論会、2008年9月7日、九州大学
- (9) 藤井翔、小林克彰、岡本哲明、鳥谷部祥一、宗行英朗、芳賀正明、“レーザーを利用したDNA伸張およびAu電極間へのDNA配線” 第69回秋季応用物理学会学術講演会、2008年9月3日、中部大学
- (10) K. Kobayashi, J. Hikida, S. Fujii, H. Koseki, K. Tsutsui, Y. Wada, M. Haga, ”DNA wire device fabricated on Au patterned Si/SiO<sub>2</sub> surface by the usage of DNA intercalator molecules and orthogonal self-assembly” MRS International Materials Research Conference, 2008年6月9日、中国・重慶
- (11) 藤井翔、小林克彰、鳥谷部祥一、岡本哲明、岡田武也、宗行英朗、芳賀正明、“光ピンセットを用いたDNA配線の構築” 日本化学会第88回春季年会、2008年3月29日、立教大学
- (12) 引田二郎、小林克彰、筒井謙、和田恭雄、芳賀正明、“DNA捕捉錯体を用いて伸長固定したDNAナノワイヤードバイスの構築” 日本化学会第88回春季年会、2008年3月29日、立教大学
- (13) 小林克彰、戸川伸明、舎川直哉、筒井謙、和田恭雄、芳賀正明、“Au/SiO<sub>2</sub>パターン基板への選択的分子修飾と機能化” 第6

0回コロイドおよび界面化学討論会、2007年9月20日、信州大学

- (14) K. Kobayashi, S. Fujii, N. Tonegawa, M. Haga, “Fabrication of DNA Templated Molecular Nanowire and its Functions”  
1st Asian Conference on Coordination Chemistry、2007年8月1日、岡崎コンファレンスセンター

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小林 克彰 (KATSUAKI KOBAYASHI)  
甲南大学・先端生命工学研究所・講師  
研究者番号：30433874

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

芳賀正明 (MASAAKI HAGA)  
中央大学・理工学部応用化学科・教授  
研究者番号：70115723