

平成 22 年 4 月 22 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008 年度～2009 年度

課題番号：20850031

研究課題名（和文） DNA の特性を利用した積層型ナノ構造体の構築と光電変換への応用

研究課題名（英文） Construction of DNA nanostructures for photoelectric conversion

研究代表者

高田 忠雄 (Takada Tadao)

兵庫県立大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：60511699

研究成果の概要（和文）：分子材料としての DNA の特徴を生かし、センシングや光電変換機能を持つボトムアップ型新規 DNA ナノ構造体の構築を目的とし、電極に固定した DNA 上での機能性分子の集積化に関する研究を行った。光機能性分子を修飾した核酸塩基三リン酸体を合成し、その修飾塩基をポリメラーゼによってテンプレート DNA に対して連続的に取り込ませることで DNA 上への機能性分子の集積化を行い、光電応答を示す DNA デバイスの作製を行った。

研究成果の概要（英文）：Polymerase extension reaction was used to construct the DNA nanostructures and introduce photoredox molecules into DNA. Triphosphate derivatives labeled with the redox-active molecules were synthesized and used to incorporate into DNA by polymerase extension reaction. Photoelectric conversion system based on DNA nanostructures was constructed by using this method.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,320,000	396,000	1,716,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,520,000	756,000	3,276,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：DNA・光電デバイス・光エネルギー・ナノテクノロジー

1. 研究開始当初の背景

DNA は遺伝情報を司る生体高分子である一方、高度な相補塩基認識能から実現されるナノ構造体を構築するための分子材料としての側面も合わせ持っている。さらに、DNA のらせん軸に沿って一次元状に電子あるいはホールが自由に移動することが近年見出

されており、導電性材料としての応用も可能であることが示されている。

我々の研究を含め DNA 光電変換デバイスに関する研究が報告されているものの、単分子膜における研究例が多く、高効率に光捕集を行うという点に問題を抱えている。デバイスの高性能化には、電極表面に対する光機能

性分子の多層化が必要不可欠であるがその方法論は確立されていない。そこで、DNAポリメラーゼは特定の位置に化学修飾を受けた核酸塩基を効率的に取り込むという性質に着目し、この性質を利用し機能分子をDNA上に集積化することができればこれらの問題が解決できるとの構想に至り研究を行った。

2. 研究の目的

本研究では、生体分子としてのDNAと分子材料としてのDNAの特徴を生かし、空間・配向・距離が制御された機能性分子の集積化を電極上で実現し、センシングや光電変換機能を持つボトムアップ型新規ナノ構造体の構築を研究の目的とする。具体的には、光機能性分子を修飾した核酸塩基を設計し、その修飾塩基をDNAポリメラーゼによってテンプレートDNAに対して連続的に取り込ませることで、DNA上への機能性分子の集積化を試みた。この手法により、DNAをホール輸送層、DNA周囲に電子輸送層が形成された構造体、電子ドナー分子とアクセプター分子を並べた積層型ナノ構造体の構築を行い、高い効率で光エネルギー捕集と光電変換を実現するDNAナノデバイスの構築を目指した。

光機能性分子を化学修飾した核酸塩基を設計し、電極上でDNAポリメラーゼによる分子の取り込みを行う(図1)。これにより、分子の集積化が達成され、光捕集効率の大幅な向上が可能となると期待できる。DNAをテンプレートとし、配列情報に基づいて集積化を行えば、高分子や超分子系では困難なナノメートルレベルでの分子間の空間配置と距離の制御が可能となり、光捕集後の光電変換効率の向上が期待できる。また、DNA自身の持つホール輸送性としての機能を積極的に活用することで、電極に対して垂直方向にホール輸送層と電子輸送層が配向した同軸型ナノ構造体が構築できるため、高効率な電荷輸送、すなわち高い光電変換効率が期待できる。また、電子ドナー分子とアクセプタ

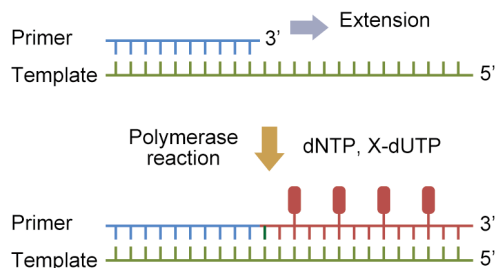


図1. ポリメラーゼ反応を利用したDNAの分子修飾

一分子を交互に並べた積層型ナノ構造体の構築も可能となると期待できる。

3. 研究の方法

核酸塩基に修飾する機能性分子として、光電変換を目的とするため特に光レドックス活性をもつ分子に着目し合成を行った(図2)。DNAポリメラーゼは、高い特異性を持っているが、水素結合パターンと反応空間を邪魔しない形で化学修飾を受けた核酸塩基はポリメラーゼによって効率的に取り込まれることが近年明らかとなってきた。これらの知見に基づき、ウリジンの5位にアセチレン基を介して機能性分子を導入した修飾核酸の三リン酸体の設計・合成を行った。機能性分子としては、電子アクセプター分子であるアントラキノ、ナフタルンジイミド誘導体を用いた。ポリメラーゼによる非天然塩基および修飾塩基の取り込みに関するこれまでの研究を参考として、HPLCならびに電気泳動法を用いて解析を行った。

取り込み効率の結果をフィードバックし、高い効率で取り込みが可能な分子の設計へとつなげ、合成した分子を用いて実際に修飾核酸の取り込みを電極上でを行い、実際の光電変換特性の評価を行った。デバイス表面上において、同様に効率よくポリメラーゼ反応が進行するかどうかを確認しつつ最適な条件(DNAの表面修飾密度や電極表面の構造状態など)を明らかにし、作製したナノ構造と光電変換効率との関係を詳細な検討を行った。

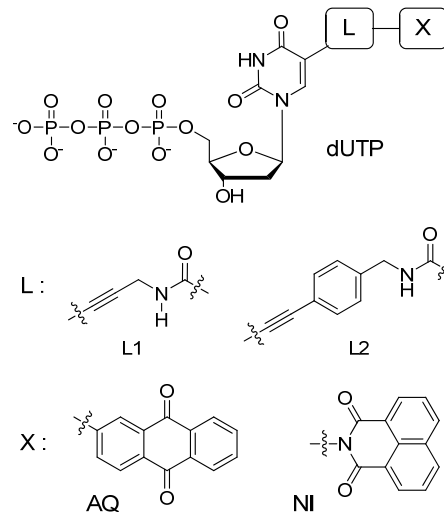


図2. 三リン酸誘導体の分子構造

4. 研究成果

光機能性分子としてアントラキノ、ならびにナフタルジイミド三リン酸誘導体の合成を行い、これらの分子がDNAポリメラー

ゼの良い基質となり DNA の化学修飾が可能であることを明らかにした。分子の合成は、出発原料に 5'-ヨード-2'-デオキシウリジンを、三リン酸誘導体の合成を行った。5'-OH を DMTr 基で保護し、3'-OH をアセチル基で保護した。その後、DMTr 基を外し、5'-OH の三リン酸化反応を行った。一方、アントラキノン(AQ)カルボン酸をプロパギルアミンと縮合反応させた後、三リン酸体と水中ソノガシラカップリング反応を行い、逆相 HPLC を用いて精製を行った。

5'末端に蛍光色素である TMR を修飾させた 15-mer の Primer DNA(P1)および部分的に相補的な配列を有する 30-mer の Template DNA(Tp1)を用いて、ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)による伸長反応の分析を行った(図 3)。ポリメラーゼについて、KOD Dash と Taq DNA polymerase の 2 種類について検討した。いずれのポリメラーゼにおいても、AQ-dUTP の存在下、プライマーの伸長が効率よく進行することが示された。他の三リン酸体を共存させると、全長の DNA の生成が確認され、テンプレート配列に基づく AQ-dUTP の複数ラベリングが可能であることが明らかとなった。伸長反応後の DNA を簡易精製し吸収スペクトルを測定したところ、AQ の吸収領域に対応する領域に吸収の増大が観測された。

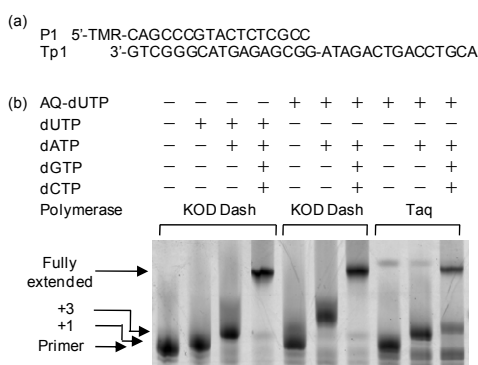


図3. (a) DNA 配列 (b) プライマー伸長反応の分析

次に、ポリメラーゼ反応を用いた光電変換デバイスの作製を行うため、電極上にプライマーを固定し、テンプレートとハイブリダイズさせた後、プライマー伸長反応を行った。反応後、AQ が吸収を持つ波長の光を照射したところ、ポリメラーゼ反応を行った電極のみが光電応答を示した。従って、電極上でもポリメラーゼ反応による選択的な光機能性分子の取り込みが行われ、光電応答を示す DNA 修飾電極が作製可能であることが示された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① Takada, T.; Tanaka, C.; Nakamura, M.; Yamana, K., "Fluorescent Analysis of Excess Electron Transfer through DNA", *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20, 994, (2010).
- ② Fukuda, M.; Nakamura, M.; Takada, T.; Yamana, K., "Syntheses and Fluorescence of RNA Conjugates Having Pyrene-Modified Adenosine and Nitrobenzene-Modified Uridine Base Pairs", *Tetrahedron Lett.* 51, 1732, (2010).
- ③ Takada, T.; Takeda, Y.; Fujitsuka, M.; Majima, T., "'Signal-On' Detection of DNA Hole Transfer at the Single Molecule Level", *J. Am. Chem. Soc.* 131, 6656, (2009).
- ④ Maie, K.; Miyagi, K.; Takada, T.; Nakamura, M.; Yamana, K., "RNA-Mediated Electron Transfer: Double Exponential Distance Dependence", *J. Am. Chem. Soc.* 131, 13188, (2009).
- ⑤ Maie, K.; Nakamura, M.; Takada, T.; Yamana, K., "Fluorescence Quenching Properties of Multiple Pyrene-Modified RNAs", *Bioorg. Med. Chem.* 17, 4996, (2009).
- ⑥ Tanimizu, Y.; Takada, T.; Nakamura, M.; Yamana, K., "Synthesis and characterization of deoxyuridine triphosphates labeled with pyrene", *Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*, 131, (2009).
- ⑦ Kawano, Y.; Takada, T.; Nakamura, M.; Yamana, K., "DNA ligation using photoremovable protecting groups", *Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*, 173, (2009).
- ⑧ Hasegawa, Y.; Nakamura, M.; Takada, T.; Yamana, K., "Synthesis and hybridization of oligonucleotides attached to a redox reporter via ethenyl linker at 5-position of pyrimidine base", *Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*, 145, (2009).
- ⑨ Fukuda, M.; Nakamura, M.; Takada, T.; Yamana, K., "Duplex formation of multiple pyrene-modified RNAs", *Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*, 133, (2009).

[学会発表] (計 7 件)

- ① レドックス修飾 DNA アプタマー固定化チップによる生体分子の電気化学

- 的検出
林英理子・高田忠雄・中村光伸・山名一成
日本化学会第89春季年会講演予稿集、1H6-08、2009
- ② ポリメラーゼ伸長反応による DNA の光機能化
渡辺小百合・高田忠雄・中村光伸・山名一成
日本化学会第89春季年会講演予稿集、1H6-09、2009
- ③ 電子ドナー・アクセプター修飾 RNA の合成と性質
真家賢治・中村光伸・高田忠雄・山名一成
日本化学会第89春季年会講演予稿集、2H6-17、2009
- ④ フェロセン共役核酸塩基の合成と性質
長谷川裕介・高田忠雄・中村光伸・山名一成
日本化学会第89春季年会講演予稿集、2H6-18、2009
- ⑤ 光脱離性保護基を利用した DNA 連結反応
河野裕太・高田忠雄・中村光伸・山名一成
日本化学会第89春季年会講演予稿集、3PA-081、2009
- ⑥ ビレン修飾三リン酸誘導体の合成と評価
谷水陽介・高田忠雄・中村光伸・山名一成
日本化学会第89春季年会講演予稿集、3PA-082、2009
- ⑦ RNA 二本鎖上に構築されたピレン会合体
福田稔・真家賢治・中村光伸・高田忠雄・山名一成
日本化学会第89春季年会講演予稿集、3PA-083、2009

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高田 忠雄 (Takada Tadao)
兵庫県立大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号：60511699