

令和 2 年 5 月 23 日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K18889

研究課題名(和文) テラヘルツ波照射によるデオキシリボ核酸の高次構造制御と機能性付与

研究課題名(英文) Control of Superstructure and Functionalization of DNA by THz Wave Illumination

研究代表者

大木 義路 (Ohki, Yoshimichi)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：70103611

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：DNAを構成する塩基に対して、テラヘルツ(THz)帯を含む16.7-600cm⁻¹の吸収スペクトルを取得した。さらに量子化学計算を実施し、実測値と計算値の比較から、上記スペクトルに出現する各吸収ピークの帰属を同定した。また、分子内で一部水素結合を形成する一本鎖DNA、すなわちヘアピン構造DNA溶液に対して、加熱乾燥処理を行うと、540cm⁻¹付近の吸収が増加する事象を確認した。したがって上記吸収の強度から、DNA内の水素結合の有無を確認できる可能性が示唆される。高強度THz波の照射による水素結合の結合・乖離運動の制御の試みについては、結果が不明確であり、今後の課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、DNAを母材とする新たな誘電体材料の開発が進むとともに、DNAに対する簡易的な構造解析手法の確立が求められている。THz波を用いた分光法は物質のマクロな構造を解析できると期待される新規の構造解析手法である。DNAおよびDNA構成塩基に関するTHz吸収スペクトルの報告は少ないため、各塩基に出現する吸収ピークの帰属同定や、一本鎖DNA内の水素結合の有無を実験的に評価した我々の研究成果は極めて重要であると考えられる。結果が不明確であったものの、高強度THz波の照射により水素結合の結合・乖離運動の制御を、先駆的に試みたことの意義も大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：Absorption spectra were measured for DNA constituent bases in a terahertz (THz) range from 16.7 to 600 cm⁻¹. Furthermore, quantum chemical calculations were conducted, aiming at making comparisons between the spectra measured experimentally and those reproduced numerically. As a result, we were able to identify almost all the absorption peaks measured experimentally. In addition, we heated and dried an aqueous solution of hairpin-structured DNA with partially formed hydrogen bonds in the molecule. As a result, we confirmed that the absorption at around 540 cm⁻¹ increased by this heating and drying processes.

This means that the existence of hydrogen bonds in DNA can be confirmed by measuring the above-mentioned THz absorption intensity. Regarding an attempt to control the bonding or dissociation of hydrogen bonds in DNA by the irradiation of high-intensity THz waves, the results are not so clear and the attempt is a subject for future research.

研究分野：誘電体材料

キーワード：遠赤外分光 THz時間領域分光 デオキシリボ核酸 ヘアピン構造DNA 塩基 水素結合 分子間相互作用

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

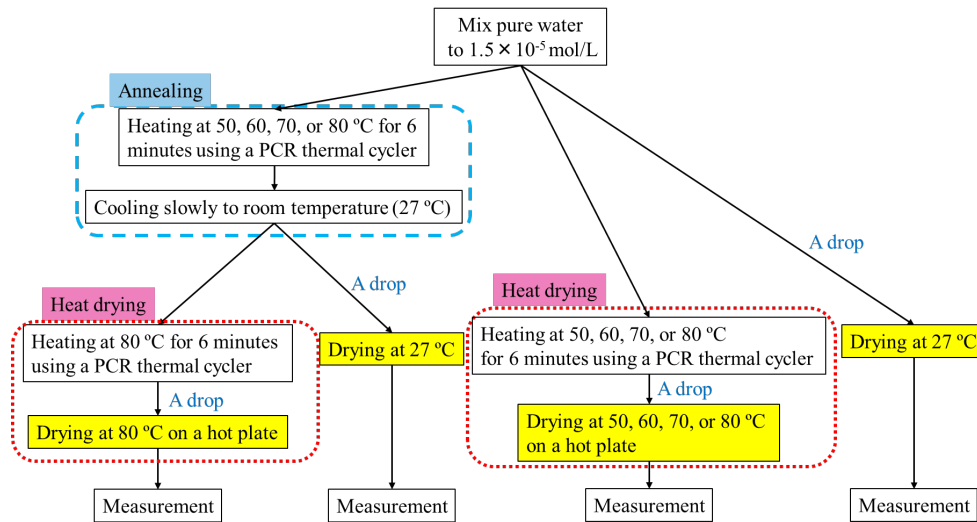


Fig. 2. Preparation procedures of DNA samples.

4. 研究成果

(1) チミンを含ませた錠剤状試料において観測したスペクトルと量子化学計算により再現したスペクトルを比較する。遠赤外領域とTHz領域をひとつのグラフで示すと、吸収の小さいTHz領域が見えづらくなるので、両者を分けて図3に示す。なお、実測したスペクトルを左の縦軸、3種類のモデルについて再現した吸収スペクトルを右の縦軸を使用して示す。また、FIR領域において、計算より再現したD、Tのモデルの吸収スペクトルは、それぞれ、25、50だけ縦軸上方向にシフトさせ、スペクトルの重なりを極力防いだ。

図3(a)のFIR領域について、実測によるスペクトルには、強度の小さな前述した3ピークを除くと、172、210、284、320、420、431、476、560 cm^{-1} に吸収が出現している。実測スペクトルに出現する172 cm^{-1} の吸収に対応するであろう、計算より再現した吸収スペクトルのピークは、Dにほぼ同じ波数で出現する174 cm^{-1} とTに出現する164 cm^{-1} のピークであるとする。174 cm^{-1} のピークの帰属が CH_3 のねじれ振動である一方、164 cm^{-1} のピークの帰属は、 CH_3 のねじれ振動とピリミジン環構造内の面外変角振動($\text{C}^2\text{-N}^3\text{-C}^4$)である。実際のチミンの結晶構造では、DおよびTが混在している⁽¹⁵⁾筈なので、上記のように、実測スペクトルの吸収付近に、計算より再現したスペクトルのピークが複数見られる場合は、確認できた帰属を全て割り当てる。これにより、実測スペクトルに出現する172 cm^{-1} の吸収の帰属は、 CH_3 のねじれ振動とピリミジン環構造内の面外変角振動($\text{C}^2\text{-N}^3\text{-C}^4$)となる。同様にして、図3(a)に示す各吸収ピークの帰属を推定し、チミンのFIR帯の吸収は、ねじれ振動や環状構造の骨格振動に基づく振動を反映することを確認した。

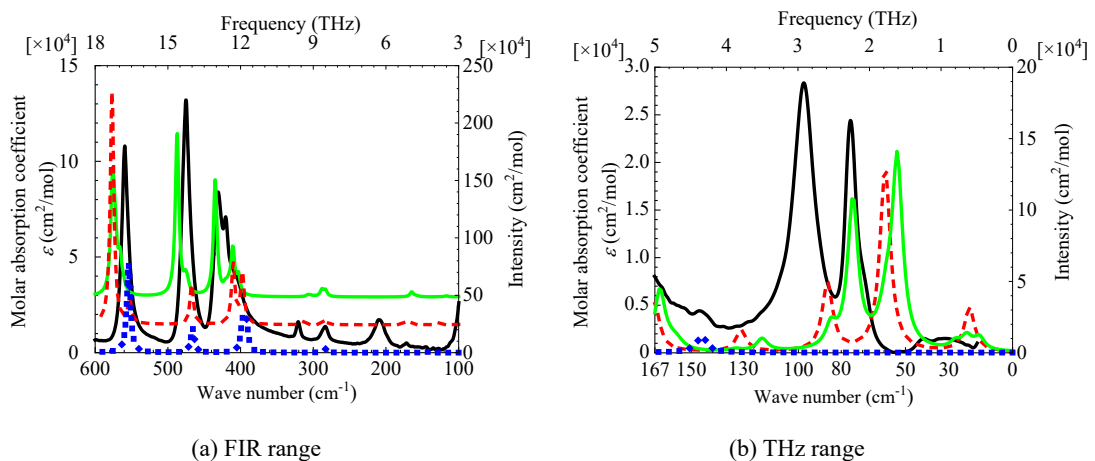


Fig. 3. Comparison of the absorption spectra measured experimentally (solid black) and numerically obtained using the three models (M: dotted red, D: broken blue, and T: solid green). The left ordinate is for the experiment, while the right ordinate is for the calculations. The spectra of D and T in (a) are shifted vertically by 25 and 50, respectively.

(2) 図3(b)のTHz領域について、実測スペクトルには、31.5, 41.5, 75.8, 97.8, 145 cm^{-1} に吸収が出現している。なお、横軸は0~167 cm^{-1} としている。Tには、波数が15.3, 21.4, 27.0, 53.8, 74.0, 117 cm^{-1} に吸収が出現しており、実測スペクトルの吸収よりも低波数に位置している。しかし、実測スペクトルに出現する31.5, 41.5 cm^{-1} の吸収の形状までを再現できていることから、Tのピークの帰属を実測スペクトルの吸収に割り当てた。なお、Tに出現する15.3 cm^{-1} と21.4 cm^{-1} の吸収が、実測スペクトルの31.5 cm^{-1} に対応していると考えている。また、Tおよび実測どちらのスペクトルにも、吸収の肩のような形状で出現する、Tの27.0 cm^{-1} のピークが、実測スペクトルの41.5 cm^{-1} の吸収に対応していると考えられる。

その結果、31.5 cm^{-1} はbuckle deformationもしくはpropeller twist deformation、41.5 cm^{-1} はbuckle deformation、75.8 cm^{-1} はstagger mode、97.8 cm^{-1} は、opening mode、145 cm^{-1} はstretch mode⁽¹⁶⁾であり、全てチミン分子間の振動である。これらの結果は、THz帯の吸収が、分子間の振動を反映するという報告⁽¹¹⁻¹³⁾と合致している。

(3) PCR装置を用いて、GCの水溶液を、50, 60, 70, 80 $^{\circ}\text{C}$ で6分間加熱した後、同温度のホットプレートで加熱乾燥させたときに得られるFT-FIRスペクトルを、図4に示す。また、比較のために、室温(27 $^{\circ}\text{C}$)で乾燥したときのスペクトルも合わせて示す。50, 60, 70 $^{\circ}\text{C}$ の加熱乾燥処理では、FT-FIRスペクトル上で新たなピークの出現または消失、および吸光度の顕著な増加および減少は観測されない。一方、80 $^{\circ}\text{C}$ の加熱乾燥処理では、540 cm^{-1} 付近の吸収の吸光度が、その他の試料の約2倍になる。

ヘアピンDNA内の水素結合はある温度で急激に切断され始めるとの報告がある⁽¹⁷⁾。前述のように、540 cm^{-1} 付近の吸収は構成する塩基の骨格振動に起因すると思われる。したがって、図4の結果は、GC内の水素結合が、80 $^{\circ}\text{C}$ の熱処理によって切断され、水素結合に抑制されていた分子振動および骨格振動が活性化するため、80 $^{\circ}\text{C}$ で乾燥させた試料の吸光度のみが他の試料より大きくなることを示していると考えられる。

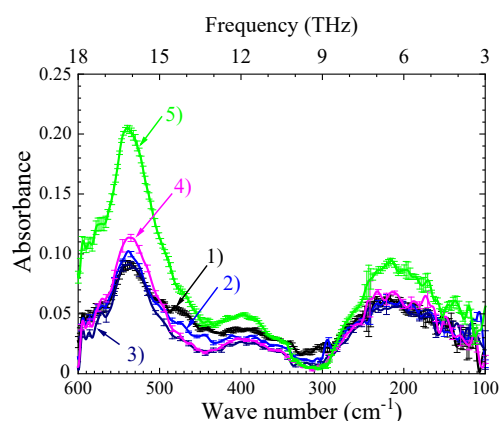


Fig. 4. FT-FIR absorption spectra of GC dried at various temperatures. 1) 27, 2) 50, 3) 60, 4) 70, and 5) 80 $^{\circ}\text{C}$.

(4) 研究の方法内で定義したアニーリングを80 $^{\circ}\text{C}$ で行った試料を、室温(27 $^{\circ}\text{C}$)あるいは80 $^{\circ}\text{C}$ において、アニーリングを行っていない試料に施したのと同じ条件で乾燥させた。図4に示したアニーリングを施さずに27 $^{\circ}\text{C}$ と80 $^{\circ}\text{C}$ で乾燥させた試料と、アニーリング操作を行った上記2種類の試料のスペクトルを重ねて、図5に示す。全ての試料に図4と同じく、100~300 cm^{-1} にかけて幅の広い吸収、540 cm^{-1} 付近にピークを持つかなり鋭い吸収が出現している。

上記の540 cm^{-1} 付近に見られる吸収の強度をより定量的に評価するため、各スペクトルのピーク分離を試みた。アニーリング操作を行わず、27 $^{\circ}\text{C}$ で乾燥させた場合には、204, 355, 392, 467, 536, 582 cm^{-1} にピークを持つ6つのローレンツ関数を用い、ピークの高さと半値幅を変化させてフィッティングした。80 $^{\circ}\text{C}$ で乾燥させた場合には、355 cm^{-1} を除く5つのローレンツ関数で同様にフィッティングした。一方、アニーリング操作を行った試料は上記6つの波数にピークを持つローレンツ関数でフィッティングした。各試料において、ピーク分離により得られたローレンツ関数について、算出した積分吸光度を図6に示す。536 cm^{-1} にピークを持つローレンツ関数について、アニーリングの有無に関わらず、80 $^{\circ}\text{C}$

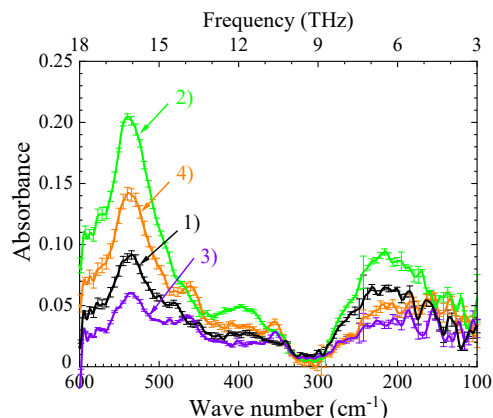


Fig. 5. Effect of the annealing conducted before the drying on the FT-FIR absorption spectrum of GC. 1) unannealed and dried at 27 $^{\circ}\text{C}$, 2) unannealed and dried at 80 $^{\circ}\text{C}$, 3) annealed and dried at 27 $^{\circ}\text{C}$, and 4) annealed and dried at 80 $^{\circ}\text{C}$.

で乾燥させた試料の方が、27°Cで乾燥させた試料より、積分吸光度が大きい。また、乾燥温度に関わらず、アニーリング操作を行っていない試料の方が、行った試料よりも積分吸光度が大きい。

水素結合の切断は 540cm^{-1} 付近にピークを持って出現する吸収を増加させると考えられる。ローレンツ関数でのフィッティングで 536cm^{-1} に分離された吸収は図5で 540cm^{-1} 付近に現れる吸収であるので、図6に見られる 536cm^{-1} における吸収の減少は、水素結合の形成によると考えられる。よって水溶液となっているDNA試料を 80°C という高温に保つアニーリング操作により、水素結合の形成が促進されると思われる。

<引用文献>

- (1) Y. Ma, P. L. Chiu, A. Serrano, S. R. Ali, A. M. Chen, and H. He, "The Electronic Role of DNA-Functionalized Carbon Nanotubes: Efficacy for in Situ Polymerization of Conducting Polymer Nanocomposites", *J. Am. Chem. Society*, Vol. 130, No. 25, pp. 7921-7928, (2008).
- (2) Q. Gu, C. Cheng, R. Gonela, S. Suryanarayanan, S. Anabathula, K. Dai, and D. T. Haynie, "DNA nanowire fabrication", *Nanotechnology*, Vol. 17, No. 1, R14-R25, (2006).
- (3) H. Yan, S. H. Park, G. Finkelstein, J. H. Reif, and T. H. LaBean, "DNA-templated self-assembly of protein arrays and highly conductive nanowires", *Science*, Vol. 301, No. 5641, pp. 1882-1884, (2003)
- (4) Z. Gao, A. Agarwal, A. D. Trigg, N. Singh, C. Fang, C. H. Tung, Y. Fan, K. D. Buddharaju, and J. Kong, "Silicon nanowire arrays for label-free detection of DNA", *Anal. Chem.*, Vol. 79, No. 9, pp. 3291-3297, (2007).
- (5) M. Green and E. Howman, "Semiconductor quantum dots and free radical induced DNA nicking", *Chem. Comm.*, pp. 121-123, (2005).
- (6) P. R. Griffiths and J. A. De Haseth, "Fourier Transform Infrared Spectroscopy", John Wiley & Sons, New York, (1986).
- (7) W. G. Fateley, "Infrared and Raman Selection Rules for Molecular and Lattice Vibrations: The Correlation Method", John Wiley & Sons, Inc., New York, Vol. 169, (1972).
- (8) H. Hoshina, Y. Morisawa, H. Sato, H. Minamide, I. Noda, Y. Ozaki, and C. Otani, "Polarization and temperature dependent spectra of poly(3-hydroxyalkanoate)s measured at terahertz frequencies", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, Vol. 13, pp. 9173-9179, (2011).
- (9) S. Ishii, H. Suzuki, Y. Morisawa, H. Sato, S. Yamamoto, Y. Ozaki, C. Otani, T. Uchiyama, and H. Hoshina, "Vibrational spectra of nylon-6, nylon-6/6, nylon-11 and nylon-12 studied by terahertz spectroscopy", *Int. Conf. Infra. Milli. Tera. Waves*, pp. 1-2, (2012).
- (10) N. Fuse, R. Sato, M. Mizuno, K. Fukunaga, K. Itoh, and Y. Ohki, "Observation and Analysis of Molecular Vibration Modes in Polylactide at Terahertz", *Jpn. J. Appl. Phys.*, Vol. 49, No. 10R, pp. 102402 1-8, (2010).
- (11) K. Suto and J. Nishizawa, "Widely frequency-tunable terahertz wave generation and spectroscopic application", *Inter. J. Infra. Milli. Waves*, Vol. 26, No. 7, pp. 937-952, (2005).
- (12) S. A. Lee, A. Anderson, W. Smith, R. H. Griffey, and V. Mohan, "Temperature-dependent Raman and infrared spectra of nucleosides. Part 1 adenosine", *J. Raman Spectrosc.*, Vol. 31, pp. 891-896, (2000).
- (13) J. Nishizawa, T. Sasaki, K. Suto, T. Tanabe, K. Saito, T. Yamada, and T. Kimura, "THz transmittance measurements of nucleobases and related molecules in the 0.4 to 5.8 THz region using a Gap THz wave generator", *Opt. Comm.*, Vol. 246, No. 1-3, pp. 229-239, (2005).
- (14) L. M. da Costa, S. R. Stoyanov, S. Gusarov, X. Tan, M. R. Gray, J. M. Stryker, R. Tykwinski, J. W. M. Carneiro, P. R. Seid, and A. Kovalenko, "Density Functional Theory Investigation of the Contributions of π - π Stacking and Hydrogen-Bonding Interactions to the Aggregation of Model Asphaltene Compounds", *Energy & Fuels*, Vol. 26, No. 5, pp. 2727-2735, (2012).
- (15) K. Ozeki, N. Sakabe, and J. Tanaka, "The Crystal Structure of Thymine", *Acta. Cryst. Section B*, Vol. 25, No. 6, pp. 1038-1045, (1969).
- (16) A. Muller, F. Talbot, and S. Leutwyler, "Hydrogen Bond Vibrations of 2-Aminopyridine/ 2-pyridone, a Watson-Crick Analogue of Adenine/ Uracil", *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 124, pp. 14486-14494, (2002).
- (17) A. T. Jonstrup, J. Fredsoe, and A. H. Anderson, "DNA Hairpins as Temperature Switches, Thermometers and Ionic Detectors", *Sensors*, Vol. 13, pp. 5937-5944, (2013).

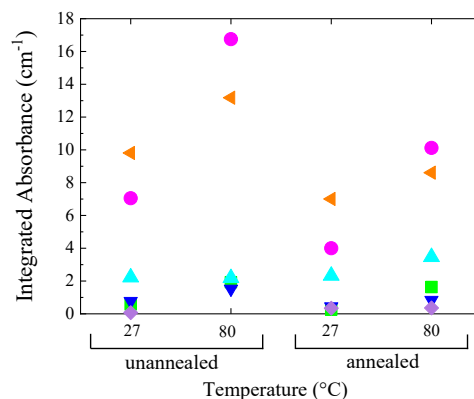


Fig. 6. Integrated absorbance of each separated peak. \blacktriangle : 203cm^{-1} , \blacklozenge : 355cm^{-1} , \blacktriangledown : 392cm^{-1} , \blacktriangle : 467cm^{-1} , \bullet : 536cm^{-1} , and \blacksquare : 582cm^{-1} . The numerals on the abscissa are the temperatures, at which the sample were dried.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yutaka Abe, Tomofumi Seki, Yoshimichi Ohki, and Maya Mizuno	4. 巻 58
2. 論文標題 Identification of vibrational modes in thymine bases by broadband far-infrared absorption spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 1 6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7567/1347-4065/ab066e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 関智文, 大木義路, 水野麻弥
2. 発表標題 一本鎖DNAを構成するヌクレオチド数および塩基が遠赤外吸収スペクトルに与える影響
3. 学会等名 電子情報通信学会シンポジウムテラヘルツ科学の最先端VI
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関智文, 大家可純, 大木義路, 水野麻弥
2. 発表標題 グアニンの遠赤外吸収スペクトルの実測と密度汎関数法による再現
3. 学会等名 電気学会誘電・絶縁材料研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関智文, 大木義路, 水野麻弥
2. 発表標題 加熱乾燥処理によるヘアピンDNA内の水素結合の制御と遠赤外吸収分光によるその確認
3. 学会等名 電気学会光応用・視覚/計測合同研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大家可純, 関智文, 大木義路, 水野麻弥
2. 発表標題 グアニンのテラヘルツ吸収スペクトルの実測と密度汎関数法による再現
3. 学会等名 令和2年電気学会全国大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 阿部裕, 関智文, 大木義路
2. 発表標題 チミン塩基の遠赤外吸収スペクトルの実測と密度汎関数法による再現
3. 学会等名 電気学会計測研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 阿部裕, 畔柳知里, 大木義路, 水野麻弥
2. 発表標題 ヌクレオチドの鎖状構造がデオキシリボ核酸のテラヘルツ吸収スペクトルにおよぼす影響
3. 学会等名 テラヘルツ科学の最先端
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 阿部裕, 畔柳知里, 大木義路, 水野麻弥
2. 発表標題 DNA構成要素の広帯域赤外吸収スペクトル
3. 学会等名 電気学会光応用・視覚/計測合同研究会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	水野 麻弥 (Mizuno Maya) (90360643)	国立研究開発法人情報通信研究機構・電磁波研究所電磁環境 研究室・主任研究員 (82636)	