

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2006～2008

課題番号：18201024

研究課題名 (和文) DNA ナノ構造体の創成と物性の研究

研究課題名 (英文) Creation of DNA nanostructure and the study of their properties

研究代表者

川合 知二 (KAWAI TOMOJI)

大阪大学・産業科学研究所・教授

研究者番号：20092546

研究成果の概要：生体が、DNA の塩基配列情報を読み取り、タンパク質や他の分子からなるナノ構造体をつくり、それを見事に配置していくプロセスと同様に、DNA をベースにして配線の鋳型をつくり、ナノスケール分子デバイスのプロトタイプを形成するナノサイエンスの確立を本研究の目的とした。本グループが世界をリードしている高分解能走査プローブ顕微鏡を発展させたナノポア型 SPM により微細なナノ構造を観察・制御し、ダイナミックにフィールドバックしながら研究を進めると同時に、ナノメートル精度の分子の位置決めによってトップダウンの超微細加工技術をとり入れ、分子デバイス形成に向けた DNA ナノデバイスサイエンスを進めた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	16,700,000	5,010,000	21,710,000
2007年度	15,600,000	4,680,000	20,280,000
2008年度	7,800,000	2,340,000	10,140,000
年度			
年度			
総計	40,100,000	12,030,000	52,130,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学 ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：プローブ顕微鏡、DNA 分子デバイス、ナノ材料、ナノポア

1. 研究開始当初の背景

我々のグループでは、今まで、DNA オリゴマーが基板上でネットワークナノ構造を形成すること、塩基配列を利用して、金・コバルト超微粒子などが高度な配列をすることなどの固体基板上での DNA による 2 次元ナノ構造の形成について知見を貯えてきた。また、高分解能走査プローブ顕微鏡を用いて、従来に無い DNA の高分解能像を得てきた。

2. 研究の目的

本研究では、①新たに開発しつつあるダイナミック SPM (走査プローブ顕微鏡) を用いて動的ナノ構造を明らかにし、それに基づいて 2 次元自己組織化ナノ構造形成のメカニズムを基礎的観点から解明すること、②さらに、他の有機分子・タンパク分子や金属錯体分子と組み合わせ、新規な 2 次元ナノ構造を形成すること、③形成されたナノ回路の電気的・磁気的特性を測定し、新しいナノスケール分子デバイスへの基礎を築くことにある。この

DNA の情報をベースとしたナノ構造形成は今後のボトムアップナノテクノロジーの典型であり、将来のバイオ分子デバイス創成へ大きなインパクトを持つ。

3. 研究の方法

(1)ダイナミック SPM の開発と DNA ナノ構造の観測

DNA をベースとした電気・磁気回路形成の研究には、DNA の情報によって形成された基板上的 DNA ナノ構造の精緻な観察とナノスケール物性測定法の確立が重要である。この課題の解決に向けて、

- ・時間分解（マイクロ秒精度）SPM（走査プローブ顕微鏡）の開発（ノンコンタクト AFM の改良）
 - ・溶液パルス噴霧法の改良：斜め入射、基板選択、噴霧機器の精度向上
 - ・ノンコンタクト AFM と高分解能 STM を組み合わせた手法の高精度化
 - ・磁気力顕微鏡、ケルビンフォース顕微鏡の分解能および感度向上とバイオ素子上のナノ粒子の物性測定（装置は既存）
- を行う。

(2)DNA の 2 次元規則構造の形成：分子デバイス部品の改良（次ページの図の(1)と(2)を参照）。

上記測定手法の開発と同時に、2 次元ナノ構造の形成・制御について新たな展開を図る。DNA 分子回路を形成するそれぞれの部品となる分子材料について、以下の研究を行う。

①配線材料の改良：

・塩基配列の選択による高次規則構造の形成。以前得た成果では、DNA ネットワークが不規則な形で形成された。その理由は、用いた DNA が A,T などの単純な組み合わせで構成されていたことによる。塩基の配列を長、中距離で周期的にし、デザインされた DNA を用いてさまざまな 2 次元周期構造を試みる。さらに、DNA と他分子との水素結合、 π - π 相互作用の利用に展開する。

・化学ドーピング。今まで、ヨウ素ドーピングにより正孔を注入することに成功し、絶縁体の DNA を変化させ半導体的ナノワイヤの電気特性を得てきた。これをベースに、他の正孔注入に適したイオンや分子（Br など、TCNE など）を試みて伝導性の制御を行う。

・金属錯体内包 DNA ワイヤ：Ni,Pt 系の錯体を水素結合を介して DNA 塩基対の間に内包し、新しい 1 次元ナノワイヤを作成する（予備的に成功しつつある）。

②チトクローム C 単電子素子：

・単分子内に内包する鉄イオンに電子を出し

入れすることにより、非線形の I-V 曲線を示す単電子制御分子の挙動を示す結果を予備的に得ており、これを元にチトクローム C タンパク質分子と DNA ワイヤと組み合わせ単電子素子としての評価をしていく。

③磁性金属ナノ粒子の DNA 上への配列と磁性／非磁性ナノメモリ作用の検証

・チオールなどを介して金属超微粒子を DNA オリゴマーに結合し、このオリゴマーの塩基シーケンスとワイヤ DNA の相補性を利用して、その情報に従い磁性および非磁性ナノ粒子を並べていく。上記ケルビンフォース SPM および磁気力 SPM によりナノ粒子の電気磁気特性を明らかにしていく。

以上のように各分子部品を創成・精緻化し、ダイナミック SPM で観察しながら、全体としての DNA/タンパク質が集積した 2 次元ナノ構造体を創り上げる。

4. 研究成果

【2006 年度】

(1)ナノポア型 SPM の開発と DNA ナノ構造の観測：DNA をベースとした電気・磁気回路形成の研究には、塩基配列の情報によって形成された DNA ナノ構造の精緻な観察とナノスケール物性測定法の確立が重要である。この課題の解決に向けて、ナノポア型 SPM（走査プローブ顕微鏡）の開発を行った。その結果、本年度、以下の成果を得た。

①DNA のナノポア構造によるセンシングを行うためシリコン基板上に直径 40nm のナノポアの作製が電子線リソグラフィにより可能となった。②DNA 電気伝導測定に用いる実験系として、MCBJ（Mechanically controllable break junction）装置の設計・開発及び立ち上げを行った。③DNA 分子に関する空間的な情報（二重鎖形成、塩基配列）をナノポア構造により読み取るため、微細なナノポア構造をナノワイヤをテンプレートとした自己集合的な手法によるアプローチを試みた。そのテンプレートとなる酸化物ナノワイヤ（MgO）の構造制御を本年度は行い、10nm 以下の非常に小さなワイヤを得ることに初めて成功し、そのメカニズムを解明した。④既存の SPM のシステムとパッチクランプ（一分子電気生理測定）を融合したナノポア型 SPM を開発し、マイクロメートル程度の孔の開けたサファイヤ基板およびブラーによりマイクロメートル程度に細くしたガラス管のキャピラリーを切断して得られた孔に人工脂質二重膜を固定した系の作成に成功した。

(2)DNA の 2 次元規則構造の形成：上記測定

手法の開発と同時に、2次元ナノ構造の形成・制御について新たな展開を図った。DNA分子回路を形成するそれぞれの部品となる分子材料について、以下の成果を得た。

①中距離で周期的にデザインされたDNAを用いてさまざまな多次元周期構造を作成した。さらに、DNAと他分子との水素結合、 π - π 相互作用の利用に展開した。②金属錯体内包DNAワイヤ：Ni,Pt系の錯体を水素結合を介してDNA塩基対の間に内包し、新しい1次元ナノワイヤを作成した。③チオールなどを介して金属超微粒子をDNAオリゴマーに結合し、このオリゴマーの塩基シークエンスとワイヤDNAの相補性を利用して、その情報に従いナノ粒子を並べた。ケルビンフォースSPMおよび磁気力SPMによりナノ粒子の電気磁気特性を明らかにした。

【2007年度】

電子線リソグラフィとシリコン加工技術を用いて、 Si_3N_4 基板に垂直な直径100nmのナノポアを持ち、 Si_3N_4 基板平面上にナノポアを挟み込むナノ電極を持つナノ構造の作製プロセスを開発した。しかし、開発したプロセスでは、最小直径50nm程度のナノポアまでしか作ることができないことができなかったため、50nm以下のナノポア構造を作る新プロセスの開発を行った。

トップダウン的手法では困難な微小ナノポア構造(30nm以下)を創製する為に、自己集合的に作製されるナノワイヤ構造体及び自発的に中空構造を発現するKirkendall効果を利用した手法を提案・開発した。第一に、テンプレートとなる酸化ナノワイヤの創製制御及びコアシェル構造化を行い、次いで

Kirkendall効果及び反応性イオンエッチング法を併用した手法により20nm以下のナノポア構造体の創製に成功した。

ナノポア型SPMの開発：既存のSPMのシステムに、パッチクランプ(一分子電気生理測定)を融合したナノポア型SPM開発を試みた。パッチクランプの手法としては、確立した手法である「削り取り法」で使われるテフロンポアを基礎とした。光学顕微鏡を用いて黙視でモニターしながら、加熱した探針を低融点テフロン薄膜に接触させることにより、テフロン薄膜に数~数十ミクロンの真円に近い孔を開けることに成功した。このテフロンポアは人工脂質膜を長時間安定に保持できることより、SPMに適した平面型パッチクランプ基板の作成に成功した。

ナノ加工技術を応用し、in-plane方向にマイクロ流路を設けたMCBJ試料を作製した。金

単原子接合の安定性評価実験を通し、MCBJが十分な機械的安定性(サブピコメートルスケール)を有している事を確認した。電気泳動により流路を流れる直径2ナノメートルの金ナノ粒子についてトンネル電流計測を行った。

【2007年度繰越分】

電子線リソグラフィとシリコン加工技術を用いて、 Si_3N_4 基板に垂直な直径100nmのナノポアを持ち、 Si_3N_4 基板平面上にナノポアを挟み込むナノ電極を持つナノ構造の作製プロセスを開発した。しかし、開発したプロセスでは、最小直径50nm程度のナノポアまでしか作ることができないことができなかったため、50nm以下のナノポア構造を作る新プロセスの開発を行った。

トップダウン的手法では困難な微小ナノポア構造(30nm以下)を創製する為に、自己集合的に作製されるナノワイヤ構造体及び自発的に中空構造を発現するKirkendall効果を利用した手法を提案・開発した。第一に、テンプレートとなる酸化ナノワイヤの創製制御及びコアシェル構造化を行い、次いで

Kirkendall効果及び反応性イオンエッチング法を併用した手法により20nm以下のナノポア構造体の創製に成功した。

ナノポア型SPMの開発：既存のSPMのシステムに、パッチクランプ(一分子電気生理測定)を融合したナノポア型SPM開発を試みた。パッチクランプの手法としては、確立した手法である「削り取り法」で使われるテフロンポアを基礎とした。光学顕微鏡を用いて黙視でモニターしながら、加熱した探針を低融点テフロン薄膜に接触させることにより、テフロン薄膜に数~数十ミクロンの真円に近い孔を開けることに成功した。このテフロンポアは人工脂質膜を長時間安定に保持できることより、SPMに適した平面型パッチクランプ基板の作成に成功した。

ナノ加工技術を応用し、in-plane方向にマイクロ流路を設けたMCBJ試料を作製した。金単原子接合の安定性評価実験を通し、MCBJが十分な機械的安定性(サブピコメートルスケール)を有している事を確認した。電気泳動により流路を流れる直径2ナノメートルの金ナノ粒子についてトンネル電流計測を行った。

Si_3N_4 及びパッチクランプナノポアを作成する過程で、「生体分子解析ナノポア形成の新しい電子線リソグラフィプロセス」という、当初の予想をはるかに上回る興味深い手法が見つかった。この端緒的な発見は、より

微細なナノポアの効率的形成を可能とするものであり、本研究の目的であるナノポアセンシングデバイスの作成に重要な影響を与えるものであり、このプロセスをさらに詳しく調べることを行った。

その結果、従来の加工サイズの限界を越える微小ポアを作成できた。又、微小電極間での電流測定に成功した。

【2008 年度】

ナノポア型 SPM の開発：既存の SPM のシステムに、パッチクランプ（一分子電気生理測定）を融合したナノポア型 SPM の開発を試みた。前年度に我々が確立した加熱した探針で数十ミクロン以下の孔を開ける手法を改良し、確実に数マイクロメートル以下の孔を開けることに成功した。

具体的には、導電性ガラス上にテフロンフィルムを固定し、探針とガラス間に流れる電流をモニターする手法を開発して、制御性を高めた。また、このように作成した 10 マイクロメートル程度の微小なテフロン孔が、実際に平面型パッチクランプ基板として安定して動作することを評価した。チャンネル蛋白（ライセニン）のポア電流をパッチクランプによる一分子計測で実際に検出することに成功した。さらに、ポア径が数マイクロメートルでは、有機溶媒フリーナリポソームより脂質膜を作成することが望ましいためリポソームの AFM による評価も行った。

・構造が高度に規定された酸化物ナノワイヤ構造をテンプレートとした手法を用いてサイズが 20nm 以下のナノポア構造を作製した。

・マイクロ流路組み込み型 MCBJ を用い、DNA の直径と同等の大きさを有する金ナノ粒子について、電気計測による検出実験を行った。その結果、流路を流れる単一金ナノ粒子の検出に成功した。更に、電極間を通過する際に、ナノギャップ電極間に印加する直流電場の大きさに比例して、ナノ粒子の流速が減少することを明らかにした。

・電子リソグラフィ、リフトオフプロセス、およびエッチングを組み合わせた 1 2 プロセスにより、Si₃N₄/Si/Si₃N₄ 基板上に最小直径 20nm のナノポアとナノ電極が融合したナノ構造の作製プロセスを確立した。このナノ構造と PDMS によるマイクロ流路を組み合わせることで、流路を流れる直径 15nm の金ナノ粒子の電気検出に成功した。

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 18 件)

(1)M.Tsutsui, M.Taniguchi and T.Kawai
Transverse field effects on DNA-sized particle dynamics
Nano Letters

2009, in press, 査読有

(2)M.Tsutsui, M.Taniguchi and T.Kawai
Fabrication of 0.5 nm electrode gaps using self-breaking technique
Applied Physics Letters

93(16), 163115(1-3), 2008, 査読有

(3)K.Nagashima, T.Yanagida, K.Oka, Hide.Tanaka and T.Kawai

Mechanism and Control of Sidewall Growth and Catalyst Diffusion on Oxide Nanowire VLS Growth
Appl.Phys.Lett.

93(15), 153103(1-3), 2008, 査読有

(4)T.Yanagida, K.Nagashima, Hide.Tanaka and T.Kawai

Mechanism of Critical Catalyst Size Effect on MgO Nanowire Growth by Pulsed Laser Deposition
J.Appl.Phys.

104(1), 016101(1-4), 2008, 査読有

(5)A.Hojo, H.Mstui, K.Iwamoto, T.Yanagimachi, H.Abdurakhan, M.Taniguchi, T.Kawai and N.Toyota

Hydration effects on the microwave dielectricity in dry Poly(dA)-Poly(dT) DNA
JOURNAL OF THE PHYSICAL SOCIETY OF JAPAN

77(4), 044802(1-7), 2008, 査読有

(6)K.Yokota, M.Taniguchi, Hiro.Tanaka and T.Kawai

Metallic nature of metal-molecule interface formed by Au-Se bonds
PHYSICAL REVIEW B

77(16), 165416(1-5), 2008, 査読有

(7)A.Marcu, T.Yanagida, K.Nagashima, K.Oka, Hide.Tanaka, and T.Kawai

Crucial role of interdiffusion on magnetic properties of in situ formed MgO/Fe₃-delta O₄ heterostructured nanowires
APPLIED PHYSICS LETTERS

92(17), 173119(1-3), 2008, 査読有

(8)K.Nagashima, T.Yanagida, Hide.Tanaka, S.Seki, A.Saeki, S.Tagawa and T.Kawai

Effect of the heterointerface on transport properties of in situ formed MgO/titanate heterostructured nanowires
JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY

130(15), 5378-5382, 2008, 査読有

(9)M.Tsutsui, K.Shoji, M.Taniguchi and T.Kawai

Formation and self-breaking mechanism of stable atom-sized junctions
NANO LETTERS

8(1), 345-349, 2008, 査読有

(10)T.Yanagida, K.Nagashima, Hide.Tanaka and T.Kawai

Mechanism of catalyst diffusion on magnesium oxide nanowire growth
APPLIED PHYSICS LETTERS, 91(6), 061502, 2007, 査読有

(11)M.Furukawa, H.S.Kato, M.Taniguchi, K.Kawai, T.Hatsui, N.Kosugi, T.Yoshida, M.Aida and M.Kawai

Electronic States of the DNA Polynucleotides Poly(dG)poly(dC) in the Presence of Iodine

Phys. Rev. B, 75, 045119-045128, 2007, 査読有

(12)M.Taniguchi and T.Kawai

DNA Electronics

Physica E, 33, 1-12, 2006, 査読有

(13)加藤浩之、古川雅士、初井宇紀、谷口正輝、川合知二、小杉信博、川合真紀
電子構造計測から探るDNA分子内の電荷移動機構

表面科学, 27, 469-474, 2006, 査読有

(14)K.Nagashima, T.Yanagida, Hide.Tanaka and T.Kawai

Influence of Ambient Atmosphere on Metal-Insulator Transition of Strained Vanadium Dioxides Ultra Thin Films

J. Appl. Phys., 100, 063714, 2006, 査読有

(15)K.Nagashima, T.Yanagida, Hide.Tanaka and T.Kawai

Stress Relaxation Effects on Transport Properties of Strained Vanadium Dioxides Thin Films

Phys. Rev. B, 74, 172106, 2006, 査読有

(16)Hiro.Tanaka and T.Kawai

High-resolution scanning tunneling microscopy and dI/dV map studies of peptidenucleic acid and fluorescein isothiocyanate

Applied Surface Science, 252, 5474-5476, 2006, 査読有

(17)T.Kawahara, T.Takahashi, Hiro.Tanaka and T.Kawai

Tunneling spectra for single molecules of HEX-fluorescent dye attached to DNA adsorbed on Cu(111) surfaces

Applied Surface Science, 252, 5495-5498, 2006, 査読有

(18)A.Satake, H.Tanaka, F.Hajjaj, T.Kawai, and Y.Kobuke

Single molecular observation of penta- and

hexagonal assembly of bisporphyrin on a gold surface

Chem Commun, 24, 2542-4254, 2006, 査読有

[学会発表] (計 19 件)

(1)谷口正輝

ゲーティング固体ナノポアを用いた電気計測

春季 第56回応用物理学関係連合講演会
2009.03.30-04.02(03.31), 筑波大学

(2)M.Taniguchi

Fabrication of Gating Solid-State Nanopore

Joint Meeting of The 7th SANKEN Nanotechnology Center Symposium

2009.01.22, 大阪大学

(3)橘田晃宜

AFMと平面パッチクランプ法を組み合わせた新規分子計測法の開発

日本生物物理学会第46回年会
2008.12.05, 福岡国際会議場

(4)高木昭彦

平坦化ゲル基板でのリポソーム、脂質膜のAFM観察

日本生物物理学会第46回年会
2008.12.03, 福岡国際会議場

(5)高木昭彦

A Flat Gel Substrate to Observe Liposomes and Lipid Membranes by using Atomic Force Microscopy

International Symposium on Surface Science and Nanotechnology

2008.11.11, International Conference Center Waseda University

(6)T.Kawai

AFM Lithography for the Functional Metal Oxide Devices

Tip-Based Nanofabrication

2008.10.21(19-21), Haward International House, Taipei, Taiwan

(7)T.Kawai

Biological processes on a membrane observed by atomic force microscopy

AFM BioMed Conference

2008.10.18(15-18), Hyatt Regency Monterey, California, USA

(8)K.Oka

Surface Effect on Transport Properties of In-situ Formed MgO/NiO Heterostructured Nanowires

4th Handai Nanoscience and Nanotechnology International Symposium

2008.09.29-30, Osaka, Japan

(9)T.Yanagida

Enhancement of Oxide VLS Growth by

Carbon on Substrate Surface
4th Handai Nanoscience and Nanotechnology International Symposium
2008.09.29-30, Osaka, Japan

(10)T.Yanagida

Oxide Nanowire VLS Growth using Organic-treated Au Nanoparticle
4th Handai Nanoscience and Nanotechnology International Symposium
2008.09.29-30, Osaka, Japan

(11)K.Nagashima,

Drastic Reduction of Reset Current on Non-volatile Resistive Switching using Titanium Oxide Heterostructured Nanowire

4th Handai Nanoscience and Nanotechnology International Symposium
2008.09.29-30, Osaka, Japan

(12)T.Kawai

Heterostructured Nano-Oxides and Their Functionalities

15th International Workshop on Oxide Electronics
2008.09.14-17, Estes Park, Colorado, USA

(13)T.KAWAI

Single-molecule sequencing of deoxyribonucleic acid using scanning tunneling microscopy

Seeing at the Nanoscale VI
2008.07.10(9-11), Maritim Proarte Hotel, Berlin, Germany

(14)筒井真楠

少数生体分子検出に向けたナノ構造 (6) : トンネル電流計測による単一金ナノ粒子検出
第 55 回春季応用物理学会学術講演
2008.03.27-30, 千葉

(15)谷口正輝

少数生体分子検出に向けたナノ構造 (5) : ゲーティング固体ナノポアの作製
第 55 回春季応用物理学会学術講演
2008.03.27-30(03.28), 日本大学(千葉)

(16)柳田剛

少数生体分子検出に向けたナノ構造 (4) : Kirkendall 効果を用いたナノポア構造の作製
第 55 回春季応用物理学会学術講演
2008.3.27-30, 千葉

(17)谷口正輝

少数生体分子検出に向けたナノ構造 (3) : EB リソグラフィによるナノポア構造の作製
第 68 回応用物理学会学術講演会
2007.09.04-08, 北海道

(18)柳田剛

少数生体分子検出に向けたナノ構造 (1) : ナノポア構造に向けたナノワイヤテンプレート

トの作製

第 68 回応用物理学会学術講演会
2007.09.04-08, 北海道

(19)筒井真楠

ナノポア構造を用いた少数生体分子検出法の開発 (1) : マイクロ流路組込み型 MCBJ
第 68 回応用物理学会学術講演会
2007.09.04-08, 北海道

6. 研究組織

(1)研究代表者

川合 知二 (KAWAI TOMOJI)
大阪大学・産業科学研究所・教授
研究者番号 : 20092546

(2)研究分担者

田中 裕行 (TANAKA HIROYUKI)
大阪大学・産業科学研究所・助教
研究者番号 : 20314429
谷口 正輝 (TANIGUCHI MASATERU)
大阪大学・産業科学研究所・准教授
研究者番号 : 40362628
柳田 剛 (YANAGIDA TAKESHI)
大阪大学・産業科学研究所・助教
研究者番号 : 50420419

(3)連携研究者

なし