

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 27 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2009～2011

課題番号：21686076

研究課題名（和文）DNA 構造転移とバイオミネラリゼーションの調和による動的躍動なナノ結晶クラスター

研究課題名（英文）Dynamic nanocrystal clusters on compacted DNA structure by means of biomineralization

研究代表者

梅津 光央 (UMETSU MITSUO)

東北大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：70333846

研究成果の概要（和文）：

DNA 分子は高分子電解質の性質を持ち、DNA 表面にカチオンが濃縮することによって、渦上に凝集したグロビュール構造へ転移する。本研究では、研究代表者が近年開発した金属イオンを用いた DNA グロビュール構造の形成技術と自身がこれまで蓄積したバイオミネラリゼーション技術を組み合わせることによって、目的結晶構造を持つ金属・半導体・セラミックスナノ結晶を DNA グロビュール構造に沿ってクラスター化させる技法を確立し、そして、外的刺激によって可逆的に構造・機能が変化するナノ結晶クラスターを作製し、エレクトロナノデバイスと多機能生体治療ナノ輸送体としての応用展開を目指した。

研究成果の概要（英文）：

DNA molecules have the properties of polymer electrolytes, and the condensation of cations on DNA causes the transition of DNA to globule structure. In this study, I combined the globule transition of DNA by means of metal ion and the biomineralization technique to form nanocrystals of metal, semiconductor, and ceramics on DNA globule structure. The assembled nanocrystals, further, were applied for electronanodevice and nanotranslocator.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	7,200,000	2,160,000	9,360,000
2010 年度	7,400,000	2,220,000	9,620,000
2011 年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
年度			
年度			
総計	20,800,000	6,240,000	27,040,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：プロセス工学, 生体機能・バイオプロセス

キーワード：ナノバイ, ナノ材料, 生物・生体工学, 自己組織化, 分子認識

1. 研究開始当初の背景

様々な無機ナノ粒子が合成されている現在、特定結晶構造を持つナノ結晶は、適切にアセンブリさせることによって接合界面間の電子や光子の伝達が変化し、バルク材料では得られない電場・光応答性を示し得る。しかし、ナノ結晶の形状に基づいた均一自己組織化以上のアセンブリは未だ萌芽的研究である。その中で、高分子の持つ自己秩序化能を用いたナノ材料アセンブリの開発は、高速・大面積・低欠陥性が要求される産業化に最も近い方法論の一つであると言われている。しかし、金属酸化物合成場は有機材料にとって不適な高温・強酸性溶液等の環境であることが多く、ナノ材料合成後、凝集させることなく高分子を利用してアセンブルすることも非常に困難である。その解決策として申請者は、DNA分子のカチオン濃縮・自己組織化機能とペプチド・蛋白質が持つ鉱物の室温合成機能(バイオミネラリゼーション)に着目した。

2. 研究の目的

本研究では、金属イオンを用いたDNA分子のグロービュール構造転移制御とバイオミネラリゼーション技術を組み合わせることによって、有機分子に温和な反応場で特定結晶構造を持つ金属・半導体・セラミックスのナノ結晶を合成すると同時にDNAグロービュール構造を鋳型としてクラスター化させる技法を開発する目的とした。さらに、電気・磁場刺激によって構造・機能が至適に変化するナノ結晶クラスター体を作成し、電磁気ナノデバイスとナノ輸送体としての応用展開を目指した。

3. 研究の方法

(1) 金属イオンを用いたDNA分子のグロービュール構造転移制御

様々な金属イオンを λ -DNA溶液中に加え、各金属イオン濃度変化による λ -DNA分子の形態変化を蛍光顕微鏡で観測し、ナノ結晶クラスターとしての鋳型として魅力のあるDNA高次構造形態を見出す。

(2) グロービュール構造転移した金属イオン濃縮DNA複合体からの室温無機ナノ結晶合成

(1)で作成した金属イオン濃縮DNA複合体上の金属イオンを室温環境下で鉱物化する。

(3) 外的刺激(電気・磁場)によるナノ結晶クラスター体の機能・構造変化の評価

ナノ結晶クラスターの電気・電場・磁性刺激に対する構造・機能変化の評価を動的光散乱、蛍光顕微鏡などを用いて行う。

4. 研究成果

(1) 金属イオンを用いたDNA分子のグロービュール構造転移制御

まず初めに、DNAを形態変化を蛍光顕微鏡で観測するために、YOYOと呼ばれる蛍光分子を λ -DNAを含む水溶液に添加したところ、YOYO分子がDNAにキレートし、DNAを染色することに成功した。そこで、パラジウムイオンを添加していった時のDNAの形態変化を蛍光顕微鏡で観察したところ、初めは、アンフォールド型から渦状構造であるグロービュール型へ転移し、その後、さらに、DNA同士が凝集した凝集体型の構造を形成することが分かった(図1)。この成功により、他の金属イオンでの可能性を見るために、マグネシウムイオン(Mg^{2+})と鉄イオン(Fe^{3+})でもグロービュール構造転移の可能性を検討した。その結果、 λ -DNAは、両金属イオン種においても金属濃度が増加するにつれて、グロービュール型構造を経て、凝集体を形成することが分かった。以上の結果から、次に、すべての金属イオン種の結果を、金属イオンの電荷濃度とDNAの塩基対濃度(DNAの濃度 \times DNAの塩基対数)の相関を撮ってみたところ、金属イオンによって境界領域は若干の相違があったものの、大まかには同じ相関が得られた。これから、アンフォールド型、グロービュール型、凝集体の形成する領域は金属イオン種に関係が無く、DNAの塩基対濃度と電荷濃度でまとめることができることが示唆された。

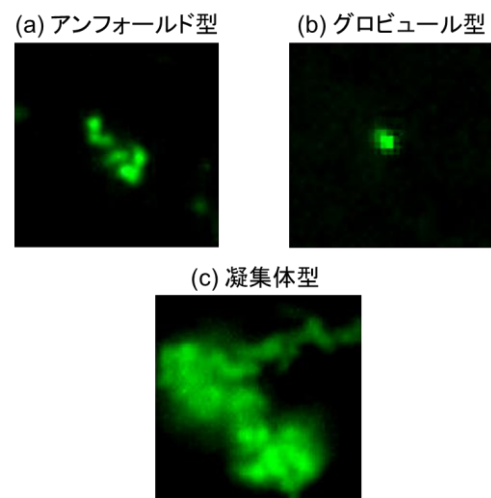


図1. Pd^{2+} 添加による λ -DNAの形態変化

(2) グロビュール構造転移した金属イオン濃縮 DNA 複合体からの室温無機ナノ結晶合成

(1) の研究成果を受けて、Pd²⁺ イオンをλ-DNA 上に濃縮させた後、化学還元をすることによって Pd ナノ粒子を作製した(図 2)。まず、化学還元力強い、NaBH₄ で還元したところ、DNA がグロビュール転移していない状態では、非常に小さい Pd 粒子がひも状の DNA 上に集積している形態が観測された。しかし、Pd²⁺ 濃度が増加し、DNA がグロビュール構造を形成する領域での還元処理では、不均一ではあるが、合成される Pd 粒子サイズが増加していった。一方、還元力が弱いアスコルビン酸で還元した場合、DNA がグロビュール転移していない状態では、NaBH₄ 同様に、非常に小さい Pd 粒子がひも状の DNA 上に集積している形態が観測されたが、DNA がグロビュール構造を形成する領域での還元処理では、約 5 nm の Pd 粒子が均一に集合している、約 50 nm の粒径分布を持つ金属ナノ結晶クラスター体が観測された。これは、DNA に Pd イオンを濃縮させた後に比較的穏やかな上限で還元させると、シングルサイズの金属ナノ粒子が DNA のグロビュール構造に沿って均一にクラスターすることを示唆している。

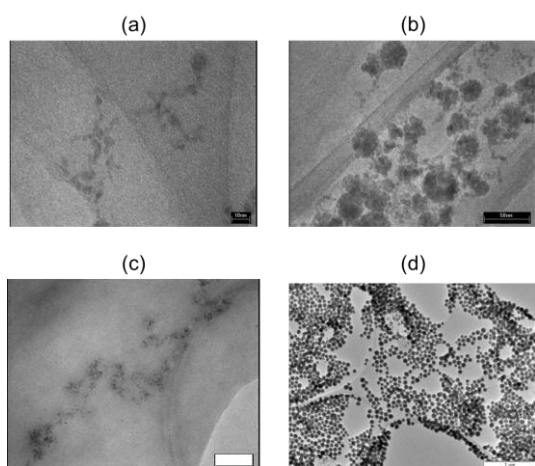


図 2. Pd²⁺ 集積 DNA からの還元処理による Pd ナノ粒子合成後の TEM 画像

- a) アンフォールド型状態での NaBH₄ 還元
- b) グロビュール型状態での NaBH₄ 還元
- c) アンフォールド型状態でのアスコルビン酸還元
- d) グロビュール型状態でのアスコルビン酸還元

(3) 外的刺激(電気・磁場)によるナノ結晶クラスター体の機能・構造変化の評価

外的刺激によるナノ結晶クラスターの構

造・機能的応答の評価を行うために、DNA グロビュール構造を鋳型とした金属ナノ結晶クラスターに水素を吸蔵させた時の電気特性を評価したところ、通常、水素が急増すると素材の電気抵抗は増加するのに対して、抵抗値が減少していた。これは、水素を吸蔵することによって金属ナノ結晶の体積が増大し、ナノ粒子間が接合したため電流が流れやすくなったためと考えている。また、水素吸蔵後に真空処理して電子顕微鏡で構造を評価したところ、水素吸蔵処理前と構造に変化がなかったことから、この水素応答工程では、ナノ結晶クラスター構造は壊れることがないことが示された。さらに、この金属ナノ結晶クラスターは水中で高分散したため、水溶液に懸濁して、磁場下で円偏光二色性スペクトルを測定した。その結果、磁場の強度変化とプラズモン吸収領域に現れるスペクトル強度に比例関係以外の相関が現れ、磁場下でナノ結晶クラスター構造が変化している可能性が示された。

また、動的な多機能ナノ輸送体の開発として、1つの DNA グロビュール構造に金イオンを濃縮して、DNA グロビュール構造を鋳型とした金属ナノ結晶クラスターを形成させ、その金表面を利用して、酸化鉄を合成することによってヘテロナノ結晶集合体を作製した。その際、薬剤存在下でクラスター化させたところ、ナノ結晶集合体内部に薬剤を内包させることに成功した。そして、このヘテロナノ結晶集合体に磁場を照射したところ、若干ではあるが、薬物の放出を確認できた。

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 12 件)

1. Hideki Watanabe, Kengo Kanazaki, Takeshi Nakanishi, Hidenori Shiotsuka, Satoru Hatakeyama, Masaru Kaieda Takeshi Imamura, Mitsuo Umetsu, and Izumi Kumagai, Biomimetic engineering of modular bispecific antibodies for biomolecule immobilization, *Langmuir*, 27, 9656-9661(2011). 査読有
2. Satoshi Ohara, Yoshiharu Hatakeyama, Mitsuo Umetsu, Zhenquan Tan, and Tadafumi Adschiri, Fabrication of Pd-DNA and Pd-CNT hybrid nanostructures for hydrogen sensors, *Advanced Powder Technology*, 22, 559-565 (2011). 査読有
3. Takanari Togashi, Mitsuo Umetsu, Takashi Naka, Satoshi Ohara, Yoshiharu Hatakeyama, and Tadafumi Adschiri

- One-pot Hydrothermal Synthesis of an Assembly of Magnetite Nanoneedles on a Scaffold of Cyclic-diphenylalanine Nanorods, *Journal of Nanoparticle Research*, 13, 3991-3999 (2011). 査読有
4. Do-Myoung Kim, Mitsuo Umetsu, Kyo Takai, Takashi Matsuyama, Nobuhiro Ishida, Haruo Takahashi, Ryutaro Asano, and Izumi Kumagai, Enhancement of cellulolytic enzyme activity by clustering of cellulose binding domain on nanoscaffolds, *Small*, 7, 656-664 (2011). 査読有
 5. Takanari Togashi, Nozomi Yokoo, Mitsuo Umetsu, Satoshi Ohara, Takashi Naka, Seiichi Takami, Hiroya Abe, Izumi Kumagai, and Tadafumi Adschiri, Material-binding peptide application -ZnO crystal structure control by means of a ZnO-binding peptide-, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111, 140-145 (2011). 査読有
 6. Takahisa Ibi, Masaru Kaieda, Satoru Hatakeyama, Hidenori Shiotuka, Izumi Kumagai, Hideki Watanabe, Mitsuo Umetsu, and Takeshi Imamura, Direct immobilization of gold-binding antibody fragments for immunosensor applications, *Analytical Chemistry* 82, 4229-4235 (2010). 査読有
 7. Takafumi Sasaki, Satoshi Ohara, Takashi Naka, Jana Vejpravova, Vladimir Sechovsky, Mitsuo Umetsu, Seiichi Takami, Balachandran Jeyadevan, and Tadafumi Adschiri, Continuous synthesis of fine MgFe₂O₄ nanoparticles by supercritical hydrothermal reaction, *The Journal of Supercritical Fluids*, 53, 92-94 (2010). 査読有
 8. Mitsuo Umetsu, Takeshi Nakanishi, Ryutaro Asano, Takamitsu Hattori, and Izumi Kumagai, Protein-protein interactions and selection: generation of molecule-binding proteins on the basis of tertiary structural information, *FEBS Journal*, 277, 2006-2014 (2010). 査読有
 9. Takamitsu Hattori, Mitsuo Umetsu, Takeshi Nakanishi, Takanari Togashi, Nozomi Yokoo, Hiroya Abe, Satoshi Ohara, Tadafumi Adschiri, and Izumi Kumagai, High Affinity Anti-inorganic Material Antibody Generation by Integrating Graft and Evolution Technologies. POTENTIAL OF ANTIBODIES AS BIOINTERFACE MOLECULES, *The Journal of Biological Chemistry*, 285, 7784-7793 (2010). 査読有
 10. Tahereh Mousavand, Satoshi Ohara, Takashi Naka, Mitsuo Umetsu, Seiichi Takami, and Tadafumi Adschiri, Organic-ligand-assisted hydrothermal synthesis of ultrafine and hydrophobic ZnO nanoparticles, *Journal of Materials Research*, 25, 219-223 (2010). 査読有
 11. Nozomi Yokoo, Takanari Togashi, Mitsuo Umetsu, Kouhei Tsumoto, Takamitsu Hattori, Takeshi Nakanishi, Satoshi Ohara, Seiichi Takami, Takashi Naka, Hiroya Abe, Izumi Kumagai, and Tadafumi Adschiri, Direct and Selective Immobilization of Proteins by Means of an Inorganic Material-Binding Peptide: Discussion on Functionalization in the Elongation to Material-Binding Peptide, *The Journal of Physical Chemistry B*, 114, 480-486 (2010). 査読有
 12. Satoshi Ohara, Yoshiharu Hatakeyama, Mitsuo Umetsu, Kazuyoshi Sato, Takashi Naka, and Tadafumi Adschiri, Palladium-polyelectrolyte hybrid nanoparticles for hydrogen sensor in fuel cells, *Journal of Power Sources*, 193, 367-370 (2009). 査読有
- [学会発表] (計 15 件)
1. Mitsuo Umetsu, T. Adschiri, I. Kumagai, Recombinant Protein Engineering for Biofunctionalization of nanomaterials, *Frontier 2011*, 2011年12月6日, Sendai
 2. Mitsuo Umetsu, Yoshiharu Hatakeyama, Satoshi Ohara, Fumihiko Kawadai, Seiichi Takami, Takashi Naka, Tadafumi Adschiri, DNA Compaction by Metal Complexes: Homogenous Spherical Mosslike Assembly by Pd Nanoclusters on Compacted DNA, 17th International Biophysical Congress (IUPAB), 2011年11月1日, 北京, 中国
 3. Mitsuo Umetsu, Takamitsu Hattori, Takanari Togashi, Tadafumi Adschiri, Izumi Kumagai, Antibody Engineering as an Interface Molecule for Inorganic Nano-materials, MRS workshop: Directed Self-Assembly of Materials Workshop, 2011年9月29日, ナッシュビル, 米国
 4. Mitsuo Umetsu, Do-Myoung Kim, Kyo Takai, Takashi Matsuyama, Nobuhiro Ishida, Haruo Takahashi, Ryutaro Asano, Izumi Kumagai, Nanoclustering design for the construction of artificial cellulosomes: High enhancement of cellulolytic enzyme activity by clustering on nanoscaffolds, 2011 E-MRS, 2011年5月12日, ニース, フランス

5. Mitsuo Umetsu, Takamitsu Hattori, Satoshi Ohara, Takeshi Nakanishi, Izumi Kumagai, Antibody Engineering as a Novel Interface Molecule for Inorganic Materials, American Chemical Society Spring 2011 National Meeting, 2011年3月29日, アナハイム, 米国
6. 梅津 光央, 低エネルギー負荷社会を指向した蛋白質デザイン, 化学系学協会東北大会, 2010年9月26日, 盛岡
7. 梅津 光央, 服部 峰充, 富樫 貴成, 阿尻 雅文, 熊谷 泉, 無機結晶面を識別する抗体の建設的な作り方, 第4回バイオ関連化学シンポジウム, 2010年9月25日, 大阪
8. 梅津 光央, 服部 峰充, 広瀬 達也, 阿尻 雅文, 熊谷 泉, 抗体分子を利用した異種材料間インターフェイス開発: バイオイメージングへの展開, 第42回化学工学会秋季大会, 2010年9月7日, 京都
9. 梅津 光央, 「ナノ」の視点から考える蛋白質とナノ材の接点, 化学生命工学談話会, 2010年7月31日, 東京
10. Mitsuo Umetsu, Takamitsu Hattori, Takanari Togashi, Takuya Hirose, Izumi Kumagai, Antibody Engineering as a Novel Interface Molecule for Inorganic Materials, 2010 E-MRS, 2010年6月7日, ストラスブール, フランス
11. Mitsuo Umetsu, Takamitsu Hattori, Satoshi Ohara, Takeshi Nakanishi, Izumi Kumagai, The generation of the antibodies with high affinity for inorganic nanomaterials by peptide-grafting and molecular evolutionary methods, 2010 MRS Spring Meeting, 2010年4月6日, サンフランシスコ, 米国
12. 梅津 光央, ナノ材を抗原とするペプチド・抗体: 発見とナノバイオ展開, (社)表面技術協会 第35回「ナノテク部会」研究会, 2010年1月21日, 東京
13. Mitsuo Umetsu, Protein engineering for bioimaging, 3rd International Symposium on Bioimaging, 2010年1月19日, 岡崎
14. 広瀬 達也, 梅津 光央, 熊谷 泉, Identification of Indium Tin Oxide interfacial-specific peptides by phage display system, 第32回日本分子生物学会年会, 2009年12月9日, 横浜
15. 服部 峰充, 梅津 光央, 中西 猛, 熊谷 泉, 金属材料表面特異的抗体から発想されるナノ素材機能化, 第82回日本生化学会大会, 2009年10月24日, 神戸

[図書] (計1件)

1. 梅津 光央, 『究極のかたちをつくる』 第3章3 バイオミネラリゼーションによる

かたちづくり, 164-173 (2009), 日刊工業新聞社

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.che.tohoku.ac.jp/~kuma/index.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅津 光央 (UMETSU MITSUO)

東北大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号: 70333846

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし