

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 8 月 5 日現在

機関番号：34104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24710125

研究課題名(和文) DNAの自己組織能を高分子材料のナノ構造の精密な制御・機能化に活かす

研究課題名(英文) Construction of rigid polymer conjugated oligonucleotide

研究代表者

田代 竜 (Tashiro, Ryu)

鈴鹿医療科学大学・薬学部・助教

研究者番号：00402785

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円、(間接経費) 1,110,000円

研究成果の概要(和文)：DNAの持つ高度な自己組織化能によるナノ構造形成体の高度化および機能化の検討を行った。機能性有機高分子をDNAに連結させた。2つのDNA鎖内におけるウラシル塩基部位の5位に共役系高分子を連結させる合成法を確立し、それを利用していくつかのDNAの構造体を作成した。1つは、DNAをベースとして高分子を軸とした分子ローターである。また、固定されたローターも作成した。それらをPAGE解析、およびFRETを利用することで目的通りの構造を形成していることを確認した。

研究成果の概要(英文)：DNA is a powerful tool for creating nanosized architectures and devices owing to its synthetic accessibility and ability to self-assemble. We designed and synthesized a novel H-shaped DNA oligonucleotide dimer cross-linked with a rigid linker. The formation of these motifs was observed via native polyacrylamide gel analysis and a fluorescence resonance energy transfer experiment using labeled DNA.

研究分野：総合理工

科研費の分科・細目：ナノバイオサイエンス

キーワード：DNAデバイス

1. 研究開始当初の背景

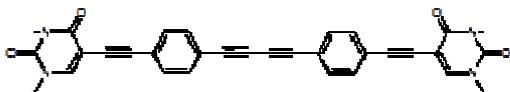
DNA は高い自己集合化能、つまり 2 本鎖形成能を有しているため、DNA は生体内の遺伝情報のみならず、近年ではナノテクノロジーの材料としても注目されている。DNA の塩基配列、つまり C-G および T-A の水素結合のパターンを組み合わせることで、複雑なナノ構造を作成させる研究が盛んに行われている。一方で、高い電子輸送能を示す π 共役系高分子は、材料としての機能性を有する。また、DNA に対して化学的に修飾を行い、様々な特性を付加することができる。この様な修飾 DNA のナノテクノロジー分野に活用する例は非常に少なく、発展の余地が大きい。化学修飾した DNA を DNA ナノテクノロジーの分野へ利用することは、DNA ナノテクノロジーの空間配置能のさらなる向上や、DNA ナノ構造体への新たな機能の付与が可能であると考えられる。

2. 研究の目的

DNA ナノテクノロジーに DNA の化学修飾を利用することを目的とする。ナノテクノロジーに利用できる化学的な修飾を DNA に施し、その特性と立体構造形成を確認する。DNA の持つ高度な自己組織化能によるナノ構造形成体の高度化および機能化のために、 π 共役系高分子および DNA の 2 つの利点を生かした高分子-DNA ハイブリッド型のナノネットワークの構築することを目的とした。ポリフェニレンエチニレンなど、 π 共役系の化合物を DNA に連結することで構造的、および電子移動などの機能的な特性を DNA に付加することが可能になると予測した。DNA の自己集合化能および高分子の電子輸送能を組み合わせれば、さらには、DNA 上での電子輸送のナノネットワーク形成が期待できる。この高分子-DNA ハイブリッド体の合成を確立し、さらにはその化合物としての性質について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

まず、硬いリンカーで連結された DNA の合成を行った。固相合成により、DNA 合成した後に、固相担体上で、グラーゼルカップリング反応を行うことで、下図のようなリンカーで 2 本の DNA を連結した。

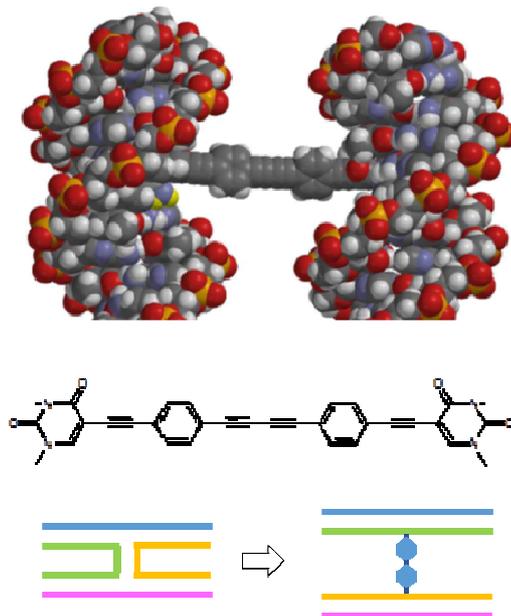


DNA の構造が、設計通りに連結された DNA の両方の鎖が、それぞれ 2 本鎖を形成するこ

とを PAGE 解析により確認した。また、FRET を利用して、さらなる構造の解析を行った。

4. 研究成果

π 共役系化合物で 2 つの DNA 2 本鎖を、アセチレン結合を介して連結させることに成功した。この構造では、DNA の塩基部位を直線的なリンカーで固定しているために DNA 同士を水平に並べることができる (下図)。また、この DNA の構造では、硬いリンカーを軸として 2 つの DNA 二本鎖が回転するような自由度をもつ。この構造は Holliday Junction をモデルにしている。Holliday Junction は DNA ナノテクノロジーにおいて、ナノタイルなどの作成に広く使用されている。その構造の類似体を、DNA の誘導体を用いて作成した。Holliday Junction はモーターのような回転の軸として利用することはできない。今回合成した修飾 DNA は Holliday Junction に実行できない回転体作成のための部品としての利用が期待される。ここで、2 つの DNA 2 本鎖が硬いリンカーを介しているというメリットは、リンカー部位が軸として機能することができるからである。

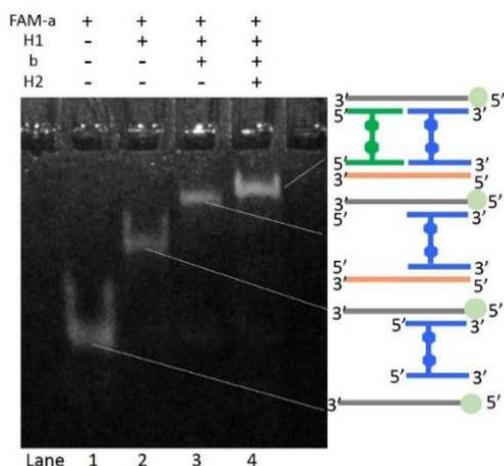


上記のような H 型の DNA の構造は、動的な DNA デバイスの作製に適している。我々はさらに H 型の DNA を 2 つ組み合わせることにより、固定された構造体も作成した。これは 2 つのリンカーで 2 本の DNA 2 本鎖を固定するために、回転運動はできないような設計にした。DNA ナノテクノロジーにおいて、Holliday Junction を組み合わせることにより、複雑な立体構造の作製を可能としている。我々は、今回作成した修飾 DNA を利用した

DNA タイルの作製の可能性を示すことができた。作成した H 型 2 つの DNA から構成される構造を下に示す。



実際に、これらの H 型 DNA を利用した構造体が 2 本鎖の構造を形成し目的とする構造の形成ができるのかを、アニーリング後のゲル電気泳動により解析した。1 本の DNA の 5' 末端を蛍光で標識しておき、それに対して相補鎖となる DNA を加えていくことで、その形成を観測した。対応する相補鎖との 2 本鎖形成後は、1 本鎖状態よりも電気泳動での泳動度が低下することから、2 本鎖形成することが明らかになった。これは、構造が大きくなったためであると推測できる。さらに DNA 鎖を加えていくと、目的とする H 型 DNA が 2 つ連結した構造を形成することが明らかになった。



さらに FRET を利用することで 2 本鎖形成の確認を行った。DNA の末端に蛍光を示す化合物と、それを消光するための化合物を DNA に連結させておき、その距離を調べた。相補鎖との 2 本鎖を形成させる前には、蛍光の消光は見られなかったが、2 本鎖形成後には消光が見られたため、近い距離にこの連結した 2 つの DNA 鎖が存在することが明らかになった。

また、FRET の性質も異なることを明らかにしている。消光の割合が、H 型 DNA が 1 つの場合よりも大きい。つまり、DNA の 2 本鎖は互いに平行に並んでいるために、より近くに寄っていることが分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 2 件)

- Bioorg. Med. Chem. 2013, 21, 466-469.
Morinaga, H.; Kizaki, S.; Takenaka, T.; Kanesato, S.; Sannohe, Y.; Tashiro, R.; Sugiyama, H.
DOI: 10.1016/j.bmc.2012.11.010

- Chem. Eur. J. 2014, 20, 1223-1225.
Sannohe, Y.; Kizaki, S.; Kanesato, S.; Fujiwara, A.; Morinaga, H.; Tashiro, R.; Sugiyama, H.
DOI: 10.1002/chem.201303930

〔学会発表〕 (計 1 件)

- 第 94 回日本化学会春年会 口頭発表
「剛直なリンカーで連結された DNA の合成」
田代 竜・岩本 真拡・杉山 弘

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田代 竜 (TASHIRO RYU)

研究者番号：00402785

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：