

研 究 報 告 書

「DNA を鋳型としたナノファイバーの構造制御」

研究期間：平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研究者：岩浦 里愛

1. 研究のねらい

分子を組み上げていくビルドアップ型アプローチは、ナノスケールの構造を構築する手法として非常に有力である。中でも、分子自己集合体は最小のエネルギーで最大の正確性を有し、様々なナノ構造体を構築できることが明らかになりつつある。例えば、両親媒性分子による自己集合体は、ミセルやベシクル、膜、ナノファイバーやナノチューブなど多様な構造を形成する。しかし、これらの分子集合体を数オングストロームから数ナノメートルのスケールで精密に構造制御したり、分子集合体中で分子の空間的位置を制御したりすることは非常に困難である。一方、ビルドアップによる精密な構造制御が数多く見られる生体中では、これらの実現に分子認識が非常に重要な役割を担っている。例えば遺伝を司る DNA が相補的核酸塩基対形成によりアデニンがチミンと、グアニンがシトシンとペアになることは非常に良く知られている。このため、ある一重鎖 DNA (ssDNA) に対応する ssDNA は一意的に核酸塩基配列が規定され、それらは塩基対形成にともない規則的な二重らせん構造を形成する。このような DNA の特徴を自己集合性分子に組み込むことができれば、DNA のもつ緻密な構造と機能を人工的に創り出すことができよう。そこで、本研究では相補的核酸塩基対形成部位を組み込んだ自己集合性双頭型分子を設計し、DNA を鋳型とした双頭型分子の精密な自己集合体構造制御と、自己集合体中で分子配列制御に挑戦した。

2. 研究成果

(1) DNA 鋳型による双頭型ヌクレオチド脂質のらせん状ナノファイバー形成

長鎖オリゴメチレン鎖の両末端に、アデニル酸、グアニル酸、チミジル酸、シチジル酸を連結した種々の双頭型ヌクレオチド脂質を合成した(図 1a)。これらのヌクレオチド脂質は水中で自己集合し、核酸塩基部位に依存してナノシート、ナノファイバー、ナノベシクルなど多様なナノ構造を形成した。次に、これらの双頭型ヌクレオチド脂質と相補的な鋳型 DNA を二成分系自己集合した結果、G-18-G-dC₂₀、A-18-A-dT₂₀、T-n-T (n = 18-20)-dA₂₀ では直径 6 nm のらせん構造をもつナノファイバーとなった。種々の測定結果から、これらのファイバー中では双頭型ヌクレオチド脂質両端の核酸塩基と鋳型 DNA の核酸塩基間で相補的核酸塩基対が形成されていることが明らかとなった。

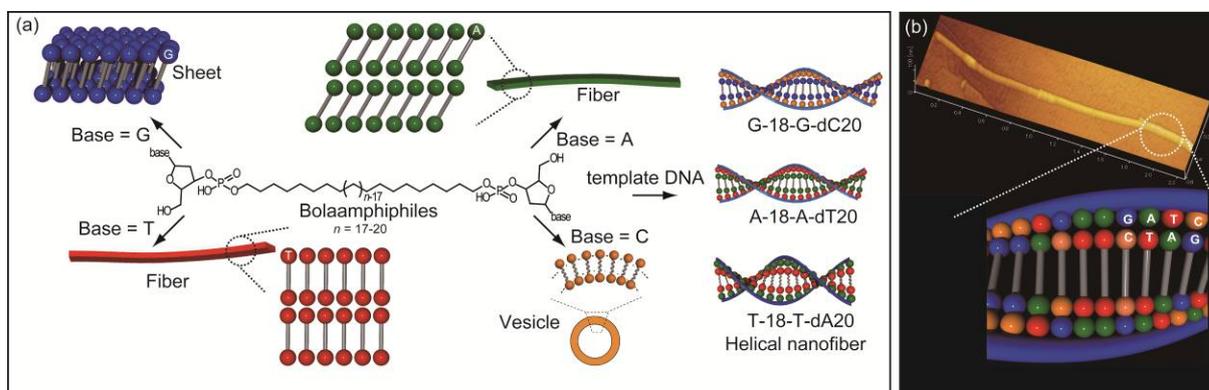


図 1 (a)双頭型ヌクレオチド脂質の自己集合および鋳型 DNA との二成分系自己集合による多様な分子集合体、(b)五成分系自己集合により生成したらせん状ナノファイバー

さらに、G-18-G、A-18-A、T-18-T、C-18-C と ATGC の核酸塩基がランダムに配列した 60mer の鋳型 DNA による五成分系自己集合を行った結果、多成分からのらせん状ナノファイバー形成に成功した(図 1b)。この 5 成分系集合体を分取し、双頭型ヌクレオチド分子の量を UPLC によって分析したところ、鋳型 DNA の核酸塩基の成分比と一致する結果が得られた。以上のように、分子認識駆動型のナノファイバーを構築することに成功し、鋳型 DNA の核酸塩基配列による双頭型分子の分子配列制御が可能であることを示した。

(2)DNA を鋳型としたアントラセンのらせん状ナノファイバー形成

アントラセンのようなアセン分子を鋳型DNA手法により自己集合させることができれば、分子間距離が一定に保たれたアセン分子の一次元配列が得られるため、 π 軌道の重なりや向きの揃った電子励起による新たな機能の発現が期待できる。アントラセンの 2 および 6 位にスペーサーを介してチミジル酸を導入したチミジル酸-アントラセン複合体 1 を新たに合成し、水中での自己集合および鋳型DNAであるdA₂₀との二成分系自己集合(1-dA₂₀)を行った(図 2a)。その結果、1-dA₂₀からは均一な幅(6 nm)をもつらせん状ナノファイバーが得られた。また、1 の自己集合体および 1-dA₂₀の二成分系自己集合体を含む水溶液のUV-Visおよび蛍光スペクトルを比較したところ、1-dA₂₀のスペクトルでは小さなストークスシフトを示した。以上より、ナノファイバー中のアントラセン部位は短軸方向にhead-to-tail型の配向を取ることで、J会合を形成していることが明らかとなった(図 2b)。次に、1 の自己集合体および 1-dA₂₀の二成分系自己集合体について時間分解蛍光スペクトル測定を行ったところ、二成分系自己集合体中のアントラセンは、自己集合体中のアントラセンに比べて蛍光寿命が長寿命化していることを見いだした。これは、アントラセンが水分子から隔離されるとともに相補的核酸塩基対形成によって分子運動が抑制され、無輻射失活がおこりにくくなったためであると考えられる。以上のように、DNA鋳型手法によりアントラセン分子が精密に一次元集積したらせん状ナノファイバーを構築することに成功し、そのナノファイバー中のアントラセンは励起状態が安定化されることを明らかにした。

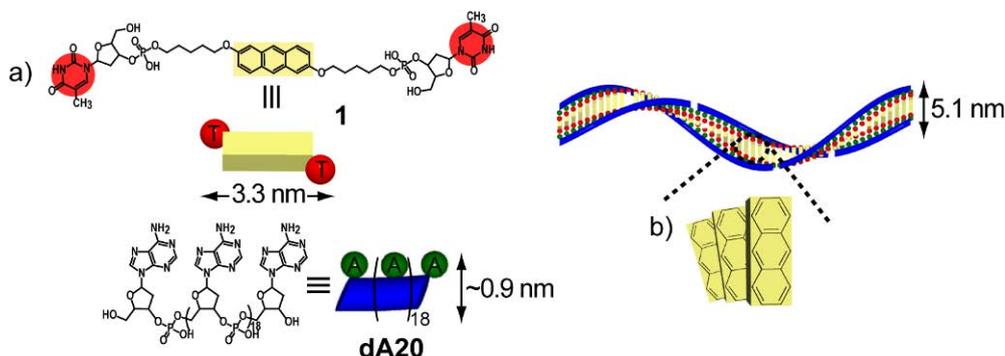


図 2 (a)チミジル酸-アントラセン複合体 1 と鋳型DNA、(b) 1-dA₂₀の二成分系自己集合によるJ会合体の模式図

3. 今後の展開

本さがけ研究では DNA と相補的核酸塩基対を形成する自己集合性分子を設計し、これらの分子と鋳型 DNA の多成分自己集合により、精密に構造が制御された分子認識駆動型のらせん状ナノファイバーを構築することに成功した。また、この手法によりアントラセン誘導体の一次元集積化と新しい光機能の発現を明らかにした。今後、本手法を応用して光・電子機能を持つ様々な分子一つ一つの空間的位置を制御し、集積化することができれば、新しい光・電子機能をもつナノデバイスの創成へつながるものと期待できる。

4. 自己評価

本さがけ研究は、DNA と相補的核酸塩基対を形成することが可能な双頭型ヌクレオチド

分子が DNA を鋳型として自己集合し、ヘリカルナノファイバーとなる現象を利用して提案した。提案当初の具体的な到達目標としては、(1)ヘリカルナノファイバーの精密構造制御、(2)ヘリカルナノファイバー中での双頭型分子配列制御、および(3)ヘリカルナノファイバーへの光・電子機能の付与によるデバイスへの応用、を掲げた。(1)については、直径 5–6 nm、らせんのピッチ 7–40 nm、分子間の距離約 0.34 nm に精密に構造制御されたヘリカルナノファイバーを構築することに成功したと考えている。また、(2)に関しては G、A、T、C の 4 種類の核酸塩基を導入した双頭型ヌクレオチド脂質分子と、鋳型 DNA との 5 成分系自己集合にチャレンジし、最終的にはこれら 5 成分からなるヘリカルナノファイバーを構築することに成功した。このナノファイバー中では、鋳型 DNA の核酸塩基配列に対応して 4 種類の双頭型ヌクレオチド脂質分子一つ一つが並んでいると考えられ、分子の配列を精密に制御する技術としてさらに発展させたい。さらに、(3)の成果としては、双頭型ヌクレオチド分子にアントラセン部位を組み込み、鋳型 DNA によってアントラセン部位を一次元集積する手法を開発した。この DNA と複合体化したアントラセン集積体は、アントラセンの蛍光寿命を長寿命化することを見いだした。3 年半のさきがけ研究によって、DNA 科学と自己集合体科学を融合した新しい構造構築・制御技術を提案し、このアイデアを実現するための重要な知見が得られたと考えている。しかし、構造と分子配列が制御されたナノファイバーをうまく利用して光・電子機能を制御し、デバイスなど実用化へつなげる具体的な成果を示すところまでは到達できなかった。今後は本成果を基盤として、精密な構造制御に基づく機能発現を目指して研究に邁進していきたい。

5. 研究総括の見解

スペーサーを介して両端に核酸塩基を有する双頭型の分子を合成し、これに塩基に対応する一重鎖 DNA に加えると、DNA 鎖に沿って二重らせん構造が形成できることを見出した。このことは、機能性のスペーサーを導入すると、それを二重鎖に沿って配列できることを意味しており、新しい分子配列制御の手法として今後の展開が期待できる。

6. 主要な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1.	R. Iwaura, T. Iizawa, H. Minamikawa, M. Ohnishi-Kameyama, T. Shimizu, “Diverse Morphologies of Self-Assemblies from Homoditopic 1,18-Nucleotide-Appended Bolaamphiphiles: Effects of Nucleobases and Complementary Oligonucleotides” <i>Small</i> , 2010 , 6, 1131–1139.
2.	R. Iwaura, M. Ohnishi-Kameyama, T. Iizawa, “Construction of Helical J-Aggregates Self-Assembled from a Thymidylic Acid Appended Anthracene Dye and DNA as a Template” <i>Chem. Eur. J.</i> , 2009 , 15, 3729–3735.
3.	R. Iwaura, M. Ohnishi-Kameyama, T. Shimizu, “Nanofiber Formation from Sequence-Selective DNA-Templated Self-Assembly of a Thymidylic Acid-Appended Bolaamphiphile” <i>Chem. Commun.</i> , 2008 , 5770–5772.
4.	R. Iwaura, Y. Kikkawa, M. Ohnishi-Kamemaya, T. Shimizu, “Effects of OligoDNA Template Length and Sequence on Binary Self-Assembly of a Nucleotide Bolaamphiphile” <i>Org. Biomol. Chem.</i> , 2007 , 5, 3450–3455.

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 2 件

発明者: 岩浦 里愛、亀山 真由美、清水 敏美
 発明の名称: 標的核酸の検出方法
 出願人: (独)農業・食品産業技術総合研究機構、(独)産業技術総合研究所
 出願日: 2008/4/10

発 明 者: 岩浦 里愛、亀山 眞由美、飯澤 智彦、南川 博之、清水 敏美
発明の名称: ベシクル及びその製法
出 願 人: (独)農業・食品産業技術総合研究機構、(独)産業技術総合研究所
出 願 日: 2009/5/8

(3) 学会発表

【国際】

- 1) Rika Iwaura, Yoshihiro Kikkawa, Mayumi Ohnishi-Kameyama, Toshimi Shimizu, "AFM observations of the binary self-assembly from nucleotide bolaamphiphile and oligonucleotide as templates" Singapore International Chemistry Conference 5, Singapore (Singapore), 2007/12/17.
- 2) Rika Iwaura, Mayumi Ohnishi-Kameyama, Toshimi Shimizu, "Sequence-selective quaternary self-assembly of a thymidylc acid-appended bolaamphiphile and DNA as templates" Hybrid Materials 2009, Tours (France), 2009/3/17.
- 3) Rika Iwaura, Yuu Someya, Hiroharu Yui, Tomohiko Iizawa, Mayumi Ohnishi-Kameyama, "Formation of helical J-aggregates self-assembled from a thymidylc acid-appended bolaamphiphile and a template DNA" 11th Pacific Polymer Conference, Cairns (Australia), 2009/12/7
- 4) Rika Iwaura, Tomohiko Iizawa, Hiroyuki Minamikawa, Mayumi Ohnishi-Kameyama, Toshimi Shimizu, "Effects of nucleobase and complementary oligonucleotide on the self-assembly of 1,18-nucleotide-appended bolaamphiphile" Pacificchem 2010, Honolulu (USA), 2010/12/19.

【国内】

- 1) 岩浦 里愛、「ヌクレオチド脂質と DNA によるナノファイバーアーキテクニクス」、第 7 回 界面ナノアーキテクニクスワークショップ ナノアーキテクニクスとイノベーション創出、つくば、2007/12/13
- 2) 岩浦 里愛、亀山 眞由美、清水 敏美、「標的オリゴ DNA による超分子ヘリカルナノファイバー形成」、第 57 回高分子討論会、大阪市立大学、2008/9/24
- 3) 岩浦 里愛、染谷 悠、由井 宏治、飯澤 智彦、亀山 眞由美、「DNA を鋳型としたヌクレオチド-アントラセン複合体の J 会合体形成と機能」、第 58 回高分子討論会、熊本大学、2009/9/18
- 4) 岩浦 里愛、飯澤 智彦、南川 博之、亀山 眞由美、清水 敏美、「DNA を鋳型としたヌクレオチド脂質の自己集合によるヘリカルロッド形成とネマチック配向」、第 58 回高分子討論会、熊本大学、2009/9/17
- 5) 岩浦 里愛、「DNA を利用したナノファイバー・ナノベシクルの製造」、テクノロジーショーケース イン ツクバ 2010、筑波大学、2010/1/22

(4) 招待講演

- ・ 岩浦 里愛、「DNA を鋳型とした超分子ナノファイバーの創製」、筑波大学学際物質化学研究センター 第 3 回機能性分子ミニシンポジウム、筑波大学、2008/10/25

(5) 著書

- ・ 岩浦 里愛、「ヌクレオチドナノファイバー(第 4 章第 2 節、分担執筆)」、超分子サイエンス & テクノロジー(監修:国武 豊喜)、NTS 出版、2009 年

(6) 受賞

- 1) Best Poster Award, Singapore International Chemistry Conference 5, 2007/12/17
- 2) ベストアイデア賞、テクノロジーショーケース イン ツクバ 2010、2010/1/22