

研究課題別評価

1. 研究課題名 環状 DNA を用いた人工光合成系の構築

2. 研究者氏名 居城 邦治

ポスドク研究員 松本 仁 (研究期間 平成 12 年 10 月 ~ 平成 14 年 12 月)

ポスドク研究員 西田 仁 (研究期間 平成 13 年 4 月 ~ 平成 15 年 3 月)

ポスドク研究員 松尾 保孝 (研究期間 平成 13 年 4 月 ~ 平成 15 年 9 月)

3. 研究の狙い:

植物や微生物の光合成は、太陽エネルギーを使って高エネルギー化学物質を効率良く作り出すシステムである。これを人工的に模倣することができれば、環境に優しい省エネルギー型化学プラントを構築することが可能となる。最近、光捕集複合体 LH2 を構成するタンパク質・色素複合体の立体構造が解明された。太陽エネルギーを捕獲するための色素分子が環状に配列していることから、色素の配列とエネルギー移動のための励起子伝達の関係が重要視されているが、なぜ自然は色素分子の環状構造を選んでいるのか？という疑問に対してまだ解答は得られていない。光捕集複合体 LH2 自身の分光学的研究も進んでいるが、色素分子の環状配列を人工的に再現できればより詳細な情報を得ることができ、この疑問に答えることができると期待される。しかし、従来の化学 (共有結合で色素分子を結合する方法) ではこのような色素分子の環状構造を作り出すことは困難であった。

そこで本研究では、DNA の分子認識を利用することで、色素分子を環状に配置した分子集合体の構築を目指した。DNA はゲノムとして遺伝情報を保持しているが、高分子化学の観点から見れば、核酸塩基、糖、リン酸からなるイオン性高分子であり、さらに核酸塩基のアデニン・チミン、シトシン・グアニン間の相補的水素結合により二重らせん構造を形作っている点から、分子認識で組みあがった超分子である。DNA の二重らせん構造を形作っている核酸塩基間の特異的な水素結合に着目することで、色素分子の環状固定化が達成できると考え、以下の 3 項目を目標とした。

- (1) 核酸塩基に色素分子が結合したヌクレオチドを新たに合成し、それを組み込んだ環状二本鎖 DNA を酵素反応により作製する。
- (2) 気液界面において環状一本鎖 DNA を鋳型とすることで、両親媒性色素分子の環状構造体を作製する。
- (3) 作製した色素環状配列集積構造の励起子伝達を単一分子レベルで計測することで光捕集アンテナ分子としての働きを明らかにして、さらに光電変換薄膜と組み合わせて人工光合成系を構築する。

4. 研究結果:

本研究では、塩基配列が決まった DNA 断片 (オリゴヌクレオチド) を足場 (鋳型) とすることで、塩基対形成を使い核酸塩基を持つ両親媒性化合物の気液界面での配列を制御することに成功した。下記に記す三つの大きな成果を得た。

- (1) 光合成系の光捕集アンテナ色素系を模倣するために環状 DNA を足場として色素分子

のアゾベンゼンの環状配列を行い直鎖状 DNA と比較した。その結果、環状チミジル酸 8 量体と環状チミジル酸 6 量体を鋳型とした場合、アゾベンゼンの最大吸収波長は短波長にシフトしており、アゾベンゼンを環状に配列することで特異的な吸収スペクトルを示すことがわかった。

(2)足場として用いた DNA の塩基配列に従った色素の二次元配列制御を行った。その結果、 $d(\text{GGA})_{10}$ を足場としてアゾベンゼン - チミン誘導体分子を気水界面で組織化すると、チミンとアデニンの塩基対形成は二塩基隔てることになり、単分子膜中のアゾベンゼン基を完全に分散化できることに成功した。この単分子膜を固体基板上に移し取ってもアゾベンゼンの分散構造を保持できたことから、アゾベンゼンの光異性化を利用した光メモリー素子として応用できることを示した。

(3)ラングミュアー - プロジェクト法で DNA - 両親媒性化合物ポリオンコンプレックス単分子膜を垂直引き上げ法でガラス基板に移し取ることで DNA 分子を伸長して配向・配列固定化できることに成功した。この方法によって直鎖状二重らせん DNA、環状二重らせん DNA を伸長固定化できる。制限酵素が特異的な塩基配列に結合した DNA も伸長固定化できることより、単一 DNA 分子の塩基配列マッピングに応用できることを示した。

以上の成果は色素分子の精密配列制御に関する要素技術であるが、伸長固定化した DNA 分子上に環状に配列した色素分子集合体をさらに集積化することで光合成の機能を創成することが可能になると期待できる。

5. 自己評価：

研究項目毎に達成状況をみると、核酸塩基に色素分子が結合したヌクレオチドを組み込んだ一本鎖 DNA を合成することができ、質量分析装置による分子量の確認も行った。相補鎖と二本鎖 DNA の形成については測定を行ったが、まだ、不明な点が多く確認中である。

5種類の大さの異なる環状一本鎖 DNA の合成に成功した。また核酸塩基と色素を併せ持つ両親媒性化合物も合成することができた。気水界面において環状一本鎖 DNA と両親媒性色素分子を複合化することで、DNA の環状に沿ってナノメートルのスケールで色素を環状に配列することに成功した。得られた複合構造体を固体基板に単分子膜を固定することができた。

また、ラングミュアー - プロジェクト法で DNA - 両親媒性化合物ポリオンコンプレックス単分子膜を垂直引き上げ法でガラス基板に移し取ることで、DNA 分子を伸長して配向・配列固定化することに成功したが、単一分子レベルでの蛍光寿命測定および励起スペクトル計測、光電変換効率の増加の測定については、着手できなかった。

まとめると研究申請時に掲げた研究計画はほぼ達成できたが、最終目標には至らなかった。その原因はマンパワー不足、時間不足である。私の研究室は学部ではなく研究所に属しているために絶対的な学生数は少なく、研究成果の大部分はポスドクによって得られた。本研究課題では大型装置の購入を控え、その分をポスドクの雇用費にまわすことで標準より多くの3名を雇用した。それでも最終研究目標に到達できなかったということは、当初の目標の設定が甘かったと言わざるを得ない。

しかし、本研究では DNA の塩基配列情報を、ナノメートルスケールで他の分子（ここでは色素分子）の配列に転写するという他に類を見ないオリジナルな手法を開発することができた。この手法は極微細加工法として次世代ナノテクノロジー研究において重要になると考えられる。また、研

究目標通りではなかったが、ラングミュア-プロジェクト法で直鎖状二重らせんDNA、環状二重らせんDNAを伸長固定化できることを新たに見出した。DNAの単一分子塩基配列マッピングに応用できることから、DNA分析の新技术として期待され、今後のDNA研究の展開につながるものである。

6. 研究総括の見解：

人工光合成系の実現は、人類の夢の一つである。光合成系を構成するためには、複雑な立体構造を分子・原子レベルで実現する必要があるが、本研究の提案者はDNA断片を利用する方法を用いた。光合成系実現のためにはあらゆる可能性を試みる価値があり、採択に至ったものである。

しかし人工光合成系は大きく複雑で、限られた時間とマンパワーでは実現に至らなかった。その点では満足すべきではない。しかしその過程でDNAの塩基の配列情報を他の分子配列に転写する手法などを実現しており、今後関連分野で活用の途が拓かれることを大いに期待したい。

7. 主な論文等：

主な論文

1. Shimomura. M., Mitamura. R., Matsumoto. J., Ijiro. K. : "DNA-mimetics: towards novel molecular devices having molecular information ", *Synthetic Metals*, 133-134:473-475(2003)
2. Yabu. H., Tanaka. M., Ijiro. K., Shimomura. M. : "Preparation of Honeycomb-Patterned Polyimide Films by Self-Organization ", *Langmuir*, 19, 6297-6300 (2003).
3. Ijiro. K., Matsuo. Y., Shimomura. M. : "Stretching of single DNA molecules by LB technique for restriction site mapping ", *Nucleic Acids Research Supplement*, 3, 47-48 (2003).
4. Hashimoto. Y., Ijiro. K., Sawadaishi. T., Shimomura. M. : "Electric Conductivity of Nucleic Acid Polymer Monolayer ", *International Journal of Nanoscience*, 1, 707-711 (2002).
5. Nishida. J., Matsumoto. J., Morisue. M., Ijiro. K., Shimomura. M. : "Circular Arrangement of Azobenzene Chromophores in the Nucleoamphiphile Monolayer by Base-Pairing with Cyclic DNA ", *International Journal of Nanoscience*, 1, 677-681 (2002).
6. Ijiro. K., Matsumoto. J., Morisue. M., Shimomura. M. : "Controlled Aggregation of Azobenzene based on DNA-Mimetics at the Air-Water Interface ", *International Journal of Nanoscience*, 1, 597-601 (2002).
7. Matsuo. Y., Ijiro. K., Shimomura. M. : "Stretching of Single DNA Molecules by Langmuir-Blodgett Method ", *International Journal of Nanoscience*, 1, 695-699(2002).
8. Sunami. H., Ijiro. K., Shimomura. M. : "Molecular Recognition of Nucleobases Attached to Self-Assembled Monolayers detected by Chemical Force Microscopy and Quartz Crystal Microbalance ", *International Journal of Nanoscience*, 1, 667-671 (2002).

口頭発表

国際学会発表 (24 件)

1. Matsumoto. J., Ijiro. K., Nishimura. S.-I., Shimomura. M. : "Template Polymerization of Diacetylene Assemblies Based on DNA-Mimetics at the Air-Water Interface ", *Xiangshan*

Science Conference on Functional Supramolecular Systems(2001)

2. Ijiro. K., Matsuo. Y., Hashimoto. Y., Mitamura. R., Nishimura. S.-I., Sawadaishi. T., Shimomura. M. : 'Fabrication of 2-D Self-Assembled DNA Molecules towards Molecular Photonics Devices ', Xiangshan Science Conference on Functional Supramolecular Systems(2001)
3. Matsumoto. J., Ijiro. K., Nishimura. S.-I., Shimomura. M. : "Template Polymerization of Diacetylene Assemblies Based on DNA-Mimetics at the Air-Water Interface ", 2nd Chitose International Forum on Photonics Science & Technology(2001)
4. Ijiro. K., Mitamura. R., Nishimura. S.-I., Sawadaishi. T., Shimomura. M. : "Controlled Immobilization of Single DNA Molecules Complexed with Cationic Lipid Monolayer at the Air-Water Interface ", 2nd Chitose International Forum on Photonics Science & Technology(2001)
5. Ijiro. K., Sawadaishi. T., Matsumoto. J., Matsuo. Y., Sunami. H., Morisue. M., Mitamura. R., Hashimoto. Y., Shimomura. M. : 'Preparation of DNA-Based Molecular Assemblies by Self-Organization ', 1st Asian Symposium on Nanotechnology and Nanoscience(2001)
6. Matsumoto. J., Ijiro. K., Nishimura. S.-I., Shimomura. M. : "Template Polymerization of Diacetylene-Nucleobase Monolayers Organized by Oligo-DNA at the Air-Water Interface, RIES-Hokudai International Symposium (2001)
7. Ijiro. K., Matsuo. Y., Mitamura. R., Shimomura. M. : "Alignment of Stretched Single DNA Molecules by Langmuir-Blodgett Technique ". TOF2002-International Conference on Thin Organic Films-(2002)
8. Ijiro. K. : 'Immobilized DNA and DNA-mimetics towards Novel Molecular Devices with Molecular Information ', First International Symposium on DNA/RNA/Protein for Nanotechnology(2002)
9. Hashimoto. Y., Sawadaishi. T., Ijiro. K., Shimomura. M. : 'Photo-conductivity of LB films consisting of Nucleic Acid Polymer ', 14th International Conference on Photochemical Conversion and Storage of Solar Energy(IPS-14)(2002)
10. Matsumoto. J., Morisue. M., Ijiro. K., Shimomura. M. : 'Construction of p-Electron Systems Based on DNA Mimetics at the Air-Water Interface ', 14th International Conference on Photochemical Conversion and Storage of Solar Energy (IPS-14)(2002)
11. Ijiro. K., Matsumoto. J., Morisue. M., Nishida. J., Shimomura. M. : 'Control of Chromophore Aggregation Based on DNA-Mimetics at the Air-Water Interface ', 3rd Chitose International Forum on Photonics Science & Technology(2002)
12. Nishida. J., Matsumoto. J., Morisue. M., Ijiro. K., Shimomura. M. : 'Circular Arrangement of Azobenzene Chromophores in the Nucleoamphiphile Monolayer by Base-Pairing with Cyclic DNA ', Asia NANO(2002)
13. Matsuo. Y., Ijiro. K., Shimomura. M. : 'Stretching of single DNA molecules by Langmuir-Blodgett method ', Asia NANO(2002)
14. Sunami. H., Ijiro. K., Shimomura. M. : 'Molecular Recognition of Self-assembled Monolayers having Nucleobases detected by Chemical Force Microscopy and Quartz Crystal Microbalance ', Asia NANO(2002)
15. Ijiro. K., Matsumoto. J., Morisue. M., Shimomura. M. : 'Controlled Photoisomerization of

Azobenzene Chromophores in the Nucleoamphiphile Monolayers by Base-Pairing with Template DNA ”, Asia NANO(2002)

16. Hashimoto. Y., Sawadaishi. T., Ijiro. K., Shimomura. M. : "Electric Conductivity of Nucleic Acid Polymer Monolayers ”, Asia NANO(2002)
17. Ijiro. K., Matsumoto. J., Nishida. J., Morisue. M., Matsuo. Y., Shimomura. M. : "DNA-based Molecular Handling in Self-Organized Monolayers ”, The First International Congress on Bio-Nano Interface (ICBN)(2003)
18. Matsumoto. J., Morisue. M., Ijiro. K., Shimomura. M. : "Transcription of DNA Sequence into Chromophore Arrangement in DNA-Mimetic organizates at the air-water interface ”, The First International Congress on Bio-Nano Interface (ICBN)(2003)
19. Matsuo. Y., Ijiro. K., Shimomura. M. : "Observation of stretched single DNA molecules by scanning near-field optical microscope ”, ICP21-The XXIst International Conference on Photochemistry-,(2003)
20. Shimomura. M., Matsumoto. J., Nishida. J., Morisue. M., Ijiro. K. : "Aggregation Behavior and Photoisomerization of Azobenzene DNA-Mimetics Formed at the Air-Water Interface ”, ICP21-The XXIst International Conference on Photochemistry-,(2003)
21. Matsuo. Y., Ijiro. K., Shimomura. M. : "Near-Field Optical Imaging of Stretched Single DNA Molecules Prepared by Langmuir-Blodgett Method ”, UPS '03 -11th Conference on Unconventional Photo-active Systems-(2003)
22. Yabu. H., Higuchi. T., Ijiro. K., Shimomura. M. : "Preparation of Photochromic Nano-particles Containing Azobenzene Chromophores ”, UPS '03 -11th Conference on Unconventional Photo-active Systems-(2003)
23. Ijiro. K., Matsumoto. J., Morisue. M., Shimomura. M. : "Controlable Aggregation of Azobenzene based on DNA-Mimetics at the Air-Water Interface ”, UPS '03 -11th Conference on Unconventional Photo-active Systems-(2003)
24. Ijiro. K., Matsuo. Y., Shimomura. M. : "Stretching of single DNA molecules by LB technique for restriction site mapping ”, The 3rd International Symposium on the Nucleic Acids Chemistry(2003)

国内学会発表 (50 件)

招待講演

1. 居城邦治 : "核酸塩基単分子膜の作製と分子認識能", 日本薬学会第 121 年会, 2001 年 3 月 28 - 30 日, 札幌 .
2. 居城邦治 : "AFMを用いた核酸塩基対形成のマッピング", 第 16 回生体機能関連シンポジウム若手フォーラム, 2001 年 9 月 19 日, 東京 .
3. K. Ijiro: "Immobilized DNA and DNA-mimetics towards Novel Molecular Devices with Molecular Information", First International Symposium on "DNA/RNA/Protein for Nanotechnology", February 8, 2002, Tokyo.
4. 居城邦治 : "DNAおよびDNAミメティクスを用いた機能性分子組織体の構築", 第 1 回界面ナノアーキテクトニクスワークショップ, 2002 年 3 月 6 日, つば .

5. K. Ijiro: "DNA-Based Molecular Handling in Self-Organized Monolayers", The First International Congress on Bio-Nanointerface (ICBN 2003 TOKYO), May 19-24, 2003, Tokyo.
6. 居城邦治: 「DNAからつくるナノ材料」, 第20回ライラックセミナー 第9回若手研究者交流会, 2003年6月14-15日, 北海道大滝村.
7. 居城邦治: 「自己組織化によるDNAの配列制御」, 21世紀COE若手研究者ネットワークシンポジウム, 2003年7月4日, 札幌.
8. M. Shimomura, J. Matsumoto, J. Nishida, M. Morisue and K. Ijiro: "Aggregation Behavior and Photoisomerization of Azobenzene DNA-Mimetics Formed at the Air-Water Interface"; XX1st International Conference on Photochemistry (ICP21), July 26-31, 2003, Nara.
9. 居城邦治: 「シングルDNAのナノ材料化」, 日本学術振興会第174委員会, 2003年10月20日, 東京.

特許

国内特許 (4件)

1. 「有機超膜膜とその累積体並びにその製造方法」, 特願 2002-263434、2002.9.9、居城邦治・松本仁・下村政嗣
2. 「環状DNAの伸長固定化法」, 特願 2002-315169、2002.10.31、居城邦治・松尾保孝・下村政嗣
3. 「DNA一分子の特異的塩基配列検出法」, 特願 2003-79849、2003.3.24、居城邦治・松尾保孝・下村政嗣
4. 「DNAの無電解メッキによる金属細線構造の構築」, 特願 2003-358959、2003.10.20、居城邦治・橋本裕一・下村政嗣

外国特許 (2件)

1. 「有機超膜膜とその累積体並びにその製造方法」, PCT/JP03/11514、2003.9.9、居城邦治・松本仁・下村政嗣
2. 「DNA一分子の特異的塩基配列検出法」, PCT/JP03/13853、2003.10.29、居城邦治・松尾保孝・下村政嗣