

Title	Electron Spin Arrays with Designed Arrangements on the DNA Nanostructures
Author(s)	厚見, 宙志
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59472">https://hdl.handle.net/11094/59472</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	厚見宙志
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 25193 号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	Electron Spin Arrays with Designed Arrangements on the DNA Nanostructures (DNA ナノ構造上に規則的に配置された電子スピニアレイに関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 中谷 和彦 (副査) 教授 小川 琢治 教授 久保 孝史

## 論文内容の要旨

本研究は、DNA のナノ構造と核酸塩基に結合する小分子を利用することで、多次元空間における特定のアドレスに電子スピンを配置する *molecular-based nanotechnology* を目的とした論文である。DNA 中のミスマッチ塩基対部位に結合する小分子に安定ラジカル分子をコンジュゲートさせた分子を利用することで、DNA の相補的塩基対を利用して構造体を構築する一次元、二次元、三次元 DNA ナノ構造をテンプレートとして、多次元空間上の特定のアドレスへ電子スピンを規則的に配置することに成功した。本論文では、一次元的に伸長した DNA 二本鎖、平面上へ広がる DNA ナノ構造(DNA tile)、三次元構造を有する DNA tetrahedron 構造上の特定のアドレスに電子スピンを配置した結果を示す。ナノスケールな DNA 上に整列した電子スピニアレイは、ラジカル電池、動的核分極のためのスピン集積材料や、DNA ナノ構造上に規則的に配置された電子スピンの酸化還元能を利用した化学反応場としても期待出来る。

第一章は、ミスマッチ塩基対部位を有する DNA 二本鎖上の特定のアドレスに配置することを目的とした、電子スピン含有小分子の合成及び DNA に対する結合評価を示す。本研究で用いる電子スピン含有小分子は、G-G ミスマッチに結合する Naphthyridinecarbamate dimer (NCD) を骨格とし、2,2,6,6-tetramethylpiperidine *N*-oxide (TEMPO) 及び NitronylNitroxide (NN) をコンジュゲートした NCD-TEMPO と NCD-NN、また、A-A ミスマッチに結合する Naphthyridineazaquinolone (NA) を骨格とした NA-TEMPO、NA-NN の四種類である。本章では各々のミスマッチ塩基対部位との結合評価、結合化学量論比、結合定数、及び電子スピン共鳴法(ESR)による結合評価の結果を示す。Figure 1 は NCD-TEMPO と DNA の複合体の結合様式を示す。各分子は核酸塩基選択的に結合し、DNA 構造上へアドレスラブルに配置可能であることを明らかにした。

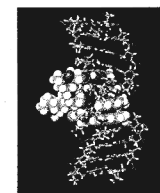


Figure 1. NCD-TEMPO/DNA 複合体の結合様式図

第二章は、二種類の異なる電子スピンと核酸塩基結合小分子(NCD-NN と NA-TEMPO)を利用して、一次元上に伸長した DNA 上に、周期的な一次元電子スピニアレイに関する結果を示す。はじめに、両分子の結合サイトに対する結合直交性を示し、その後、一次元電子スピニアレイの構築を行った。一次元電子スピニアレイの構築のテンプレートとなる DNA は、1)自発的には二本鎖を形成しない、2)各小分子結合サイトを含み、のりしろとなる overhang 領域を有する設計となっており、NCD-NN 及び NA-TEMPO の両方の小分子を添加した場合のみ DNA は一次元上に伸長し、一次元電子スピニアレイの構築に成功した(Figure 2)。

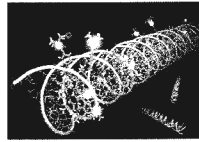


Figure 2. 一次元上に伸長した DNA に周期的に配置された電子スピニアレイ

第三章は、二次元上に広がる DNA ナノ構造(DNA tile)と NCD-TEMPO を利用して、二次元電子スピニアレイの構築に関する結果を示す。DNA tile は二種類の要素 A, B から成り、A-B-A-B と周期的な構造体を形成する設計となっている。DNA tileB 平面から Z 軸方向に突出した single-stranded DNA (ssDNA)は完全相補鎖配列な ssDNA を添加することで DNA 二本鎖を形成し、原子間力顕微鏡(AFM)では周期的な縞模様を観測された。G-G ミスマッチを含む ssDNA の添加では周期的な縞模様は観測されず、DNA 二本鎖の形成が見られなかった。一方、G-G ミスマッチを含む ssDNA 及び NCD-TEMPO の添加では、周期的な縞模様が観測された(Figure 3)。これは NCD-TEMPO は自発的に二本鎖を形成しない二本の ssDNAs を二本鎖構造へと誘起し、NCD-TEMPO による DNA tile 上の DNA 二本鎖形成を観察したことを意味する。この結果は、DNA tile 上で二次元電子スピニアレイが構築された結果を示している。

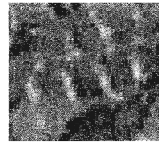


Figure 3. DNA tile 上で NCD-TEMPO が誘起した DNA 二本鎖の周期的な縞模様 (AFM 像)

第四章は、三次元構造を持つ DNA ナノ構造(DNA tetrahedron)を利用して、三次元空間中の特定のアドレスに電子スピンを配置した結果を示す。自発的には tetrahedron 構造を形成しない 5 本の ssDNAs を設計し、NCD 存在下において、DNA tetrahedron 構造が誘起されることをポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)及び AFM により観察した(Figure 4)。NCD の DNA に対する結合評価、結合化学量論比の結果も示す。また、NCD-TEMPO は DNA tetrahedron 構造に結合時、非結合時に比べて、非常に遅い( $10^3$  倍)回転相関時間が ESR 及びシミュレーション結果より明らかとなった。

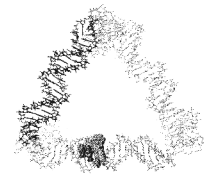


Figure 4. DNA tetrahedron 構造及び、その特定の位置に配置された NCD-TEMPO (赤)

第五章は、TEMPO ラジカルの酸化還元能によって、DNA ナノ構造上に規則的に整列した NCD-TEMPO が、銀イオンを還元し銀ナノ粒子を生成する化学反応場になると考えた (Figure 5)。初めに TEMPO ラジカルと硝酸銀を混合し、40 °C で激しく攪拌することで 24 時間後、銀ナノ粒子特有の表面プラズモン吸収が観測されることを確かめた。また、透過型電子顕微鏡(TEM)により銀ナノ粒子を観察した結果、10-40 nm の粒径であることが明らかとなった。DNA は直線上に伸長する設計を行い、NCD-TEMPO を添加することで一次元上に TEMPO ラジカルが整列する。DNA 上に規則的に整列した NCD-TEMPO へ硝酸銀を混合し、同様に調製した結果、銀ナノ粒子が線上に並んだ TEM 像が得られた。得られた結果は、設計された粒子径より大きいものだったが、より大きな銀ナノ粒子を形成しようと銀ナノ粒子同士が会合し、DNA 上で形成したものだと考えられる。

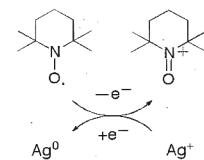


Figure 5. TEMPO ラジカルの酸化還元能を利用した銀イオンの還元スキーム

申請者は、DNA ナノ構造と核酸塩基に結合する小分子を利用し、多次元空間中の任意のアドレスに電子スピンを配置する分子技術を開発した。この分子が DNA 二本鎖中のミスマッチ塩基対選択的に結合することを明らかにするとともに、DNA 二本鎖上に導入したスピンの分光学的な挙動を明らかにした。

#### 1) 安定有機ラジカルを持つ核酸塩基結合性小分子の開発

安定有機ラジカルを持つ核酸塩基結合性小分子を開発し、この分子が DNA 二本鎖中のミスマッチ塩基対選択的に結合することを明らかにするとともに、DNA 二本鎖上に導入したスピンの分光学的な挙動を明らかにした。

#### 2) 一次元に伸長した DNA 上への異なる二種類の電子スピンの周期的な配置

異なる安定有機ラジカルを持つ核酸塩基結合性小分子を開発し、一次元上に伸長した DNA 構造体へ、異なる二種類の電子スピンを周期的に配置することに成功するとともに、異なるスピンの分光学的な挙動を精密に解析した。

#### 3) 二次元電子スピニアレイの構築

二次元上に伸長する DNA ナノ構造として知られる DNA タイルを利用して、電子スピン含有核酸塩基結合性小分子が周期的に配置された構造体の形成を、原子間力顕微鏡(AFM)で観察することに成功した。

#### 4) DNA ナノ構造上に集積された電子スピンの還元能を利用した銀ナノ粒子の集積

DNA ナノ構造上に集積された電子スピンの還元能を利用することで、銀ナノ粒子の生成を試みた。一次元上に伸長した DNA 構造体上に集積された電子スピンを用い、近接した位置に銀ナノ粒子が生成していることを、透過型電子顕微鏡(TEM)によって確認した。

上記の成果は、DNA の自己集合能により形成される一次元、二次元、三次元 DNA ナノ構造をテンプレートとして、電子スピン含有核酸塩基結合性小分子を多次元空間上の特定の空間へ規則的に配置することが可能である事を実証し、高く評価出来る。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値のあるものと認める。