

自己組織化共役ポリマーDNAの電子・光機能性発現と その電荷輸送ダイナミクス（平成17～20年度）

研究代表者：溝口憲治（首都大学東京・理工学研究科）

研究分担者：坂本浩一（平成17～20年度：首都大学東京・理工学研究科）

1. はじめに

生命体の遺伝情報を運ぶ DNA について生命科学ではその配列の解明が急速に進展し、医療への応用や固体識別など種々の応用研究が進められている。一方、A-T, G-C の組み合わせに代表される塩基対の相補性から来る高度な自己組織化力を備えた DNA のナノテクノロジー素材への応用の期待感から、その物性面の研究も活発に進められてきた。しかし、DNA 研究の特徴でもある強い学際性に関連して、これまでの多くの報告は必ずしも互いに整合性が取れていなかった。そこで、その矛盾点の原因を追及し、DNA を素材として更に応用・発展させていくためには DNA の真の物性の解明が必要とされている。

そこで本研究課題ではこのような状況を打破し、高度な階層性を持つ DNA の物性としての本性を明らかにすること、そして、ナノテクノロジーへの応用の可能性を追求することを目的とした^{1-5,9)}。一方、DNA の超階層構造の特徴を利用した 2 次電池への応用や、充放電機構の解明も進めてきた⁶⁻⁸⁾。最近の成果としては、金属イオンを導入した M-DNA の構造解明の目的で進めている、走査型トンネル顕微鏡 (STM) の STM 像から直接的に塩基配列の情報が得られる可能性を見いだしたことが上げられる。

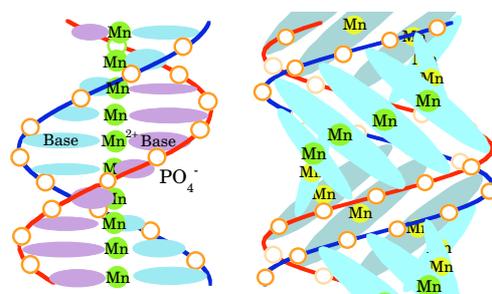


図1左：Mnを入れた B-form DNA の模式図。右：A-form DNA。

2. 研究成果

A) 天然の DNA

ナノマニピュレーション技術の発展に伴い、天然の DNA に直接電極を付け、その電流・電圧特性を測定する事が可能になってきた。その成果が、2000 年前後に Nature, Science, PRL といった評価の高い雑誌に数多く報告されてきた。しかし、その結論はまちまちであり、絶縁体から金属、超伝導の近接効果まで、幅広く分布していた。その原因の一つは、残留電解質や電子線照射効果、基盤の影響など、色々考えられるが、試料に直接接触する測定法からくる部分も大きいと考えられる。そこで、これまで、導電性高分子の研究に携わってきた事もあり、非接触の測定法である ESR や NMR などの磁気共鳴法を活用して、DNA の真の物性を明らかにしたい、と言うのが DNA の研究に手を染める当初の動機であった。

測定に用いた DNA は、和光純薬から、また、合成のオリゴ DNA は、北海道システムサイエンス社から購入した。和光純薬の試薬は、鮭の精巣由来の DNA で、精製度によって粉末状と繊維状の 2 種類がある。購入したままの DNA の ESR を測定すると、図 2 に示すように、

純度の低い粉末試料 (S-powder) は、塩基対数あたり約 2000 ppm の信号強度が観測された。この信号の由来を巡る議論には、長い歴史がある。一方、精製度の高い繊維状 DNA (S-fiber) は、たかだか 50 ppm 程度の信号しか与えない。DNA の精製の際に Fe 不純物が入りやすいことや、精製度に信号強度が強く依存すること、また、1 万塩基対に $S=1/2$ のスピンの一つという極微量のスピンのみしか観測されない点から、これらの ESR 信号が不純物由来で、本質的な性質としては非磁性であると結論される。複数の理論的考察からも、大きなエネルギーギャップを持つ半導体と結論されていることに加え、光学吸収からも $E_g \approx 5$ eV 程度の絶縁体と報告されており、非磁性であることと矛盾していない。結論として、DNA は半導体であり、「金属」、「超伝導の近接効果」とした幾つかの報告に関しては、注意深く検証される必要があることが明確になった。

B) M-DNA

さて、DNA は本質的に大きなエネルギーギャップを持つ半導体であると結論されたが、何らかの方法で電荷担体を注入することは出来ないだろうか。すなわち、DNA に伝導性を持たせ得るかどうかの可能性を調べるために、電荷担体を DNA に導入する試みを行った。その一つは 2 価金属イオンを DNA に導入する方法¹²⁾、Zn を入れた場合に電圧-電流特性に閾値が無くなり、導体になるとの報告¹³⁾から、一つの実現手段として検討を進めた。この時に、DNA 内の金属イオンの位置は重要な情報であるが、金属イオンの導入に伴い塩基対を結びつけている水素結合の NMR 信号が消滅することは、金属イオンが 2 重螺旋構造の中心に取り込まれていると結論する強い根拠となる。本研究でも Mn-DNA の磁性プローブによる解析など複数の証拠から、対をなす塩基の間の水素結合に置き換わって金属イオンが導入されると結論した。最近では、東北大の松井氏との共同研究による IR スペクトルの解析¹⁰⁾や阪大の萩原研との共同研究による高磁場 ESR の異方性の解析結果からも、このモデルを支持する結果が得られている。

C) M^{2+} -DNA の電子状態 I (木野モデル¹¹⁾)

図 3 に、2 価のイオンとして、Zn, Mg, Ca を導入した DNA の Q-band ESR 信号を示す。イオンの原料である、 MCl_2 中の Mn 不純物が両側の 2 本のピークを与えている。12,100 ガウス近辺には、イオン種に依存する一本の信号が見られるが、これが 2 価金属イオンに関連している可能性がある。オリゴ DNA の poly(dG)-poly(dC)ダイマーと金属イオンの相互作用を理論的に検討した木野等¹¹⁾によると、Ca-DNA で

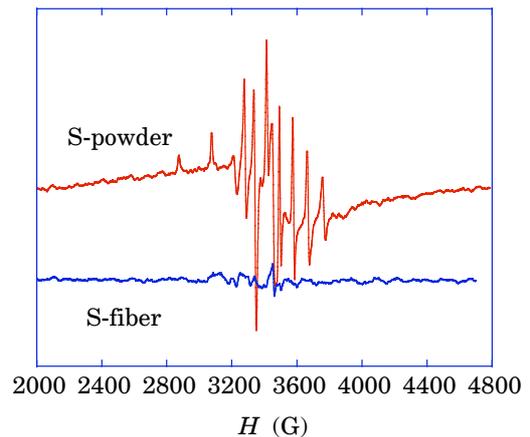


図 2 : 鮭の DNA の ESR 信号。S-fiber は S-powder より精製度が高い試料。

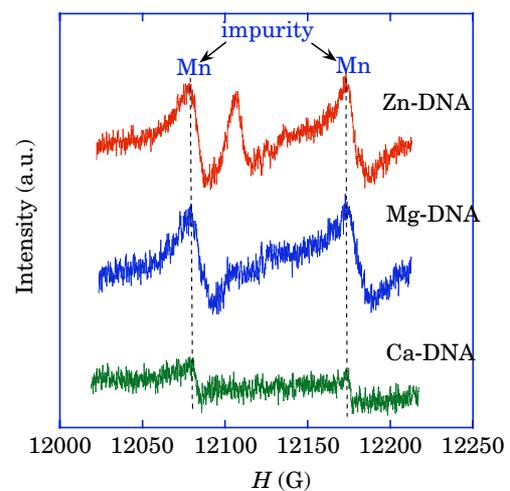


図 3 : 鮭の DNA に 2 価金属イオン、Zn, Mg, Ca を入れた M-DNA 膜の Q-band ESR 信号。

は Ca イオンは+ 2 価のまま、DNA とは電荷移動を生じないが、Zn-DNA, Mg-DNA では、GC 塩基対から電子を取り込み M^{2+} から M^+ になり、塩基対にホールを導入できる可能性を指摘している。この時に重要なパラメーターは水分の存在で、金属イオンが水和されていないことが必要になる。もう一つの点は、理論では、イオンの位置として DNA の高分子骨格の外を仮定しており、塩基対の塩基の間という実験的なアサインメントと異なっている。このモデルと図 3 の関係を検証するために、水蒸気圧の制御を行いながら ESR スペクトルの測定を行った。その結果、信号の様子が蒸気圧には依存しないことを見出した。結論として、図 3 に観測された信号は、信号強度が非常に弱いことと水蒸気圧に依存しないことから、何らかの金属不純物に起因していると考えられる。しかし、このような ESR 信号を与える 2 価金属イオン種の同定は未だ成功していない。

D) M^{2+} -DNA の電子状態 II

2 価イオンとして、Mg, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Zn 等を DNA に導入することに成功したが、Fe-DNA を除いて、全て金属イオンは 2 価のまま M^{2+} -DNA として DNA の塩基対間に導入される。2 価であることの明確な根拠としては、3d 遷移元素イオンでは M^{2+} に相当する 3d 電子スピンの ESR 信号のみが観測され、3d 遷移元素以外の 2 価イオンでは本質的な ESR 信号が観測されず反磁性体である点があげられる。仮に、2 価イオンと DNA の間に電子のやり取りによりそれぞれの価数が変化すれば、それに対応して現れる電子スピンの ESR 信号が観測されなければならない。イオンの価数が変化しないというこの事実は、元々 DNA は、 Na^+ と PO_4^- が塩を構成して中性になっているが、その中の 2 つの Na^+ カチオンが一つの 2 価カチオンで置き換わることを示唆している。従って、DNA 本体の電子状態には本質的な変更は生じることはなく、やはり大きなエネルギーギャップを持つ半導体であり、自由な電子スピンの起因する ESR 信号は観測されないことになる。

E) Mn-DNA

しかしながら、遷移金属イオンを導入すれば、3d 電子スピンを DNA の電子状態を探るイオンサイトのプローブとして利用できる。この目的には、スピン S が $5/2$ で軌道角運動量が無く、強い ESR 信号を与える Mn^{2+} が最適である。さて、2 価金属イオンが塩基対間に導入されると結論できる多くの実験的事実が観測されてきたが^{1,5,9)}、その中の一つに Mn-DNA の B-form と A-form 間の構造相転移がある。図 4 に Mn-DNA の ESR 信号を示す。図から一目で分かるとおり、Mn-DNA を水分の多い状態の Wet 状態にするか、或いは、乾燥した Dry 状態に置くかに依存して ESR 線形が顕著に変化する。この線形の変化は、導電性高分子などの低次元電子系で良く見られる振舞いである。図 5 に、これらの ESR 線幅の解析に適したプロットを示す。ローレンツ曲線の例で説明すると、ローレンツ曲線

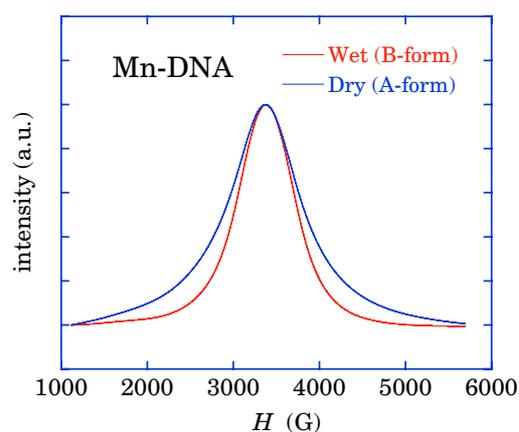


図 4 : Mn-DNA 膜の X-band ESR の吸収スペクトル。
赤 : B-form DNA in wet condition,
青 : A-form DNA in dry condition .

$$I_L(H) = \frac{I_L(0)}{1 + ((H - H_0)/\Delta H_{1/2})^2} \quad (1)$$

の逆数を取ると、

$$\frac{I_L(0)}{I_L(H)} = 1 + ((H - H_0)/\Delta H_{1/2})^2 = 1 + x,$$

$$x = ((H - H_0)/\Delta H_{1/2})^2 \quad (2)$$

と、図5のプロットにおいて直線となることが確認できる。ガウス曲線では、 e^x になることも容易に推測できる。A-form に相当する Dry 状態では ESR 線形がローレンツ曲線で良く再現されるが、B-form の Wet 状態では、ローレンツ曲線とガウス曲線のちょうど中間になっている。図中に破線で示したのは、1次元的な交換相互作用による信号の先鋭化の線形を示しており¹⁴⁾、Wet 状態の線形を良く再現する。すなわち、

Wet 状態の Mn スピン間には、この1次元相関をもつ相互作用が働いていると理解できる。

この実験事実は、Mn が DNA の塩基対の塩基間に挿入された図1の、2つの構造との比較から合理的に理解が可能である。Wet 状態の B-form Mn-DNA 中の Mn イオンは、直径 2 nm の DNA のほぼ中央に1次元鎖として配位しており、図4、5の示す1次元相関の要請に正に合致している。一方、Dry 状態の A-form Mn-DNA の場合には、Mn イオンがコイルのような螺旋構造を取る。その結果、隣接する Mn-DNA に属するコイル状の Mn イオン列と強く相互作用するため、Mn-DNA 結晶内の Mn 間相互作用が3次元的になり、ローレンツ曲線を与える。Mn イオンの3次元相関の帰結として、低温で長距離秩序が発生することが予想されるが、実際に、0.4 K で磁気比熱のピークが観測され、何らかの長距離秩序が発生していると結論された⁵⁾。

E) Fe³⁺-DNA

2 価金属の導入に伴う塩基対への電荷移動が、2 価の Fe イオンを入れた場合にだけ実現することが見出された⁵⁾。Fe²⁺ が DNA に挿入されて Fe-DNA となったときに Fe³⁺ に変化すると考えられる^{5,9)}。この点は、Fe²⁺ の薄緑色水溶液から Fe³⁺ のカーキ色の Fe-DNA 膜に変化することや、図6に示すように、Fe³⁺ でしか期待できない $g \approx 2$ の位置に ESR 信号が観測されることなどから、明確に結論される。しかしながらその物性は単純ではなく、2K における磁化曲線は、図7に示すように、Mn-DNA は $S=5/2$ のブリルアン関数で良く再現できるにも関わらず、Fe-DNA は 2 種類以上のブリルアン関数でなければ再現できない。また、ESR スペクトルは、全て $g \approx 2$ だが 3 種

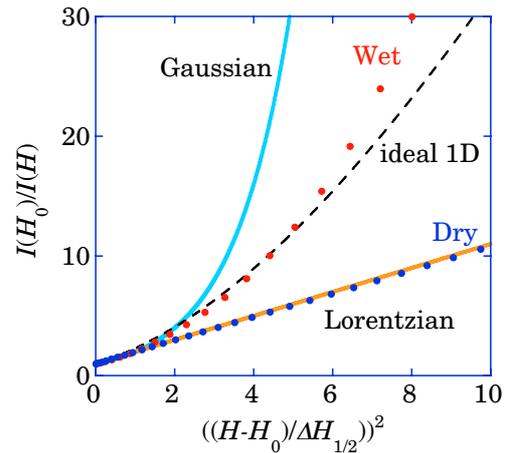


図5：Mn-DNA 膜の ESR 吸収線形解析⁵⁾。ESR 信号強度の逆数を、線幅で規格化した信号中心からの磁場の2乗でプロット。

ローレンツ曲線：直線。

ガウス曲線：指数関数。

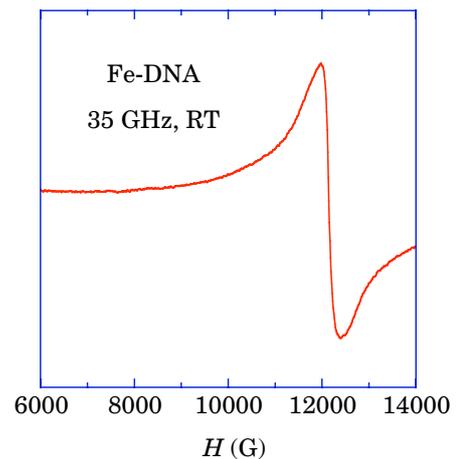


図6：Fe-DNA 膜の Q-band ESR 微分曲線⁵⁾。共鳴磁場の約 12,100 G は $g=2$ に対応。これは、Fe²⁺ では理解できず、軌道角運動量の消えた Fe³⁺であることを示す。

の異なる線幅のスペクトルの重ね合わせとして再現されることが明らかになった。複数のスピン状態のブリルアン関数によるフィッティングから、 Fe^{3+} の $S=5/2$ を持つ高スピン状態と $S=1/2$ の低スピン状態が混在していると解釈された。低スピン状態と高スピン状態の割合は約 1: 3.5 で、原料が鮭の DNA か、または合成のオリゴ DNA (6mer から 30mer の poly(dG)-poly(dC) 或いは poly(dA)-poly(dT)) には依存しない。更に興味深いことには、Ca イオンの導入により Fe 濃度を下げると、 Fe^{3+} の $S=1/2$ の低スピン状態の割合が減少し、高スピンの $S=5/2$ のみに変化していく。この濃度依存性は、Fe イオンの両側に Ca イオンが来ると Fe イオンが高スピンの $S=5/2$ を取るとの仮定により再現できることが分かった。これらの実験結果を説明し得るモデルとして、鉄から移動した塩基対上の電子が作る 1 次元 π 電子バンドのパイエルス不安定性が関わっている可能性が考えられる。すなわち、ネスティングによる電荷密度波の出現に伴う結晶場の変調が、鉄イオンの高スピンと低スピン状態を生み出していると考えられる。天然の鮭精巢由来の DNA の構造を考えると、その妥当性は自明ではないが、その検証のために鉄イオンのスピン配列をマイクロに調べることは重要と考えられる。

F) STM による DNA 観察

そこで手始めに、AFM と STM による HOPG (高配向焼成グラファイト) 上の DNA 構造の観察を始めた。半導体 DNA の 2 nm もある 2 重螺旋構造の直径を考えると、STM が有効に適用できて原子分解能を得られるとは容易には期待しにくい。AFM は、探針と試料面の原子との反発力を観測しているため、予想通り高さが約 2 nm の細線として実際に観測が可能であった。しかし、STM は基盤の HOPG のフェルミエネルギーにおける電子状態密度を観測するため、必ずしも 2 nm の変位としては観測されないことが知られている。しかし最近、DNA バンドルが枝分かれするときに、螺旋状の 2 つの枝に加えて、平面上に平に広げた縄梯子状になって HOPG に付着しているケースを数例見いだした。縄梯子の幅は DNA の塩基対のサイズで決まる間隔の約 2 nm で、且つ、梯子の踏み板の間隔は、2 重螺旋構造の DNA を梯子状に広げたときの周期間隔 0.59 nm になっている。塩基は平面分子で、HOPG 面に平行に付いており、塩基対構造の直接観察の可能性を与える最初の観測例と考えられる。このような構造が現れるメカニズムはよく分かっていないが、希薄水溶液中にある DNA の PO_4 イオンの負電荷が HOPG の導電面に誘起するイメージ電荷と引き合って HOPG 面に張り付くと理解できよう。半導体である塩基の STM 像は HOPG の電荷担体と相互作用することにより始めて観測が可能になる。したがって、HOPG の π 電子の波動関数と十分に重ならない限り明るい像を作らないため、未だ、分子構造を明確にアサインするほどに十分な精度のイメー

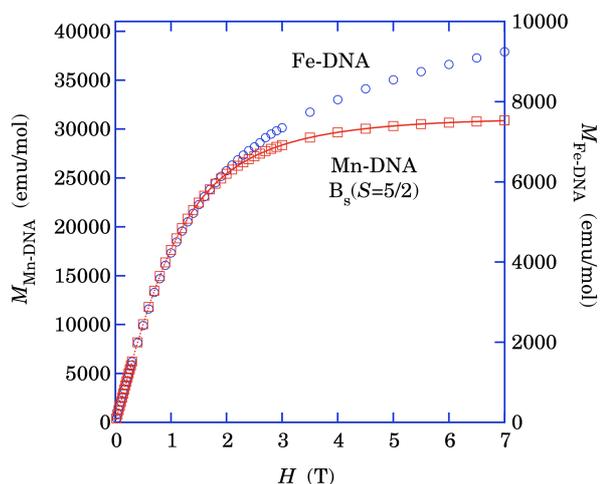


図 7 : Fe-DNA と Mn-DNA の 2K における磁化曲線の比較。Mn-DNA は、 $S=5/2$ のブリルアン関数 $B_s(S=5/2)$ で良く再現されるが、Fe-DNA は 2 種類以上の B_s が必要。

ジは得られていない。しかし、更に S/N 比の向上をはかる事により、塩基の直接観察による配列決定を始め、多様な応用が期待されている。

最後に、本研究を進める上で、ESR 物性研究室の歴代の大学院生・卒研究生の力がとても大きな寄与をしたことをここに記し、皆さんに感謝いたします。

3. 主要な業績

- 1) K. Mizoguchi, S. Tanaka, T. Ogawa, N. Shiobara, and H. Sakamoto, *Phys. Rev.* **B72**, 033106, (1-4) (2005).
- 2) K. Mizoguchi, S. Tanaka, M. Ojima, S. Sano, M. Nagatori, H. Sakamoto, Y. Yonezawa, Y. Aoki, H. Sato, K. Furukawa, and T. Nakamura *J. Phys. Soc. Jpn.* **76**, 043801-1-4 (2007).
- 3) J. Qu, R. Morita, M. Satoh, J. Wada, F. Terakura, K. Mizoguchi, N. Ogata, and T. Masuda *Chem. Eur. J.* **14**, 3250-9 (2008).

参考文献

- 1) K. Mizoguchi, S. Tanaka, T. Ogawa, N. Shiobara, and H. Sakamoto, *Phys. Rev.* **B72**, 033106, (1-4) (2005).
- 2) K. Mizoguchi, S. Tanaka, and H. Sakamoto, *Phys. Rev. Lett.* **96**, 089801 (2006).
- 3) K. Mizoguchi, S. Tanaka, and H. Sakamoto *J. Low Temp. Phys.*, **142**, 379-82 (2007).
- 4) K. Mizoguchi, *EPR study of the electronic states in natural and doped DNA in ELECTROACTIVE POLYMERS: MATERIALS & DEVICES*, edited by S. A. Hashmi (Allied Publishers, Dalhausie, India, 2007), Vol. **1**, p. 1-10.
- 5) K. Mizoguchi, S. Tanaka, M. Ojima, S. Sano, M. Nagatori, H. Sakamoto, Y. Yonezawa, Y. Aoki, H. Sato, K. Furukawa, and T. Nakamura *J. Phys. Soc. Jpn.* **76**, 043801-1-4 (2007).
- 6) J. Qu, R. Morita, M. Satoh, J. Wada, F. Terakura, K. Mizoguchi, N. Ogata, and T. Masuda *Chem. Eur. J.* **14**, 3250-9 (2008).
- 7) J. Qu, T. Katsumata, M. Satoh, J. Wada, J. Igarashi, K. Mizoguchi, and T. Masuda *Chemistry - A European Journal* **13**, 7965-73 (2007).
- 8) J. Qu, F. Z. Khan, M. Satoh, J. Wada, H. Hayashi, K. Mizoguchi, and T. Masuda *Polymer* **49**, 1490-6 (2008).
- 9) K. Mizoguchi, *Proc. SPIE* **7040**, 70400Q (1-9) (2008).
- 10) H. Matsui, N. Toyota, M. Nagatori, H. Sakamoto, and K. Mizoguchi, *Phys. Rev. B* **79**, 235201 (2009).
- 11) H. Kino, M. Tateno, M. Boero, J. A. Torres, T. Ohno, K. Terakura, and H. Fukuyama, *J. Phys. Soc. Jpn.* **73**, 2089-2092 (2004).
- 12) J. S. Lee, L. J. P. Latimer, and R. S. Reid, *Biochem. Cell Biol.* **71**, 162-68 (1993).
- 13) A. Rakitin, P. Aich, C. Papadopoulos, Y. Kobzar, A. S. Vedeneev, J. S. Lee, and J. M. Xu, *Phys. Rev. Lett.* **86**, 3670-73 (2001).
- 14) M. J. Hennessy, C. D. McElwee, and P. M. Richards, *Phys. Rev. B* **7**, 930-947 (1973).