

報告番号	甲 第 11886 号
------	-------------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 脂質分子をキャリアとした DNA 被覆ナノ粒子の 2 次元結晶化および構造制御
(Two-dimensional crystallization and structural control of DNA-functionalized nanoparticles using lipid molecules as carriers)

氏 名 磯貝 卓巳

論 文 内 容 の 要 旨

本研究では、流動性を持つ基板担持脂質二重膜(SLB)上における DNA 被覆ナノ粒子の 2 次元結晶化および 2 次元結晶の構造制御を行った。さらに、SLB 内の相が DNA 被覆ナノ粒子に与える影響についても調査した。

第 1 章では、ナノ粒子結晶とリガンドを用いたナノ粒子結晶の構造制御および本研究の目的について述べた。1~100 nm の大きさのナノ粒子は、触媒作用、表面プラズモン、量子サイズ効果など、バルクとは異なる特異な物性を有している。これらの特性を向上させ、デバイスとして応用するために、ナノ粒子を結晶のように配列させた「ナノ粒子結晶」に関する研究が行われている。ナノ粒子結晶の物性は、ナノ粒子の種類、サイズ、形状だけではなく、ナノ粒子間の距離や配列の周期性によっても変化する。そのため、ナノ粒子結晶のデバイス化を実現させるためには、ナノ粒子結晶の構造を制御する手法の開発が必要不可欠となる。ナノ粒子結晶の構造を制御するために、ナノ粒子間の結合に関与する「リガンド」と呼ばれる物質をナノ粒子に被覆し、結晶を作製する手法が報告されている。この方法では、リガンド同士の相互作用によってナノ粒子同士が結合しているため、リガンドの選択によってナノ粒子間相互作用を変化させることが可能である。これまでに、有機酸や炭化水素鎖を用いて様々な構造を持つナノ粒子の 3 次元結晶が作製されている。さらに、近年リガンドとして注目されているのが DNA である。DNA にはアデニン(A)、チミン(T)、シトシン(C)、グアニン(G)という 4 種類の塩基があり、A-T または C-G が選択的に水素結

合し、塩基対を形成することで DNA 二重螺旋構造を形成する特性を持つ。その特性を利用し、一本鎖 DNA を被覆したナノ粒子(DNA 被覆ナノ粒子)により、ナノ粒子間で DNA 二重螺旋を形成させることで、粒子同士を結合させナノ粒子結晶を作製している。DNA 被覆ナノ粒子を用いた研究においても、DNA の塩基配列を変化させることで、様々な結晶構造を実現している。さらに、DNA 被覆ナノ粒子を用いて、2 種類のナノ粒子を周期的に配列させることにも成功している。このように、DNA 被覆ナノ粒子を用いた結晶化は結晶構造だけでなく、結晶内の異なる粒子の配置も制御できるため、ナノ粒子結晶の構造制御という点で非常に有力な手法である。しかし、DNA 被覆ナノ粒子の結晶化のほとんどは、DNA 被覆ナノ粒子を溶液内に分散させ、それをアニールすることで 3 次元結晶を作製する手法しかない。この方法では、結晶成長時の成長方向の制御やデバイス化が難しい。そこで、我々は基板上における 2 次元の結晶成長過程に着目した、DNA 被覆ナノ粒子の 2 次元結晶化手法の開発を試みた。基板上における 2 次元結晶の成長過程には、基板上への原子の吸着、原子の表面拡散、原子同士の結合の 3 つの過程がある。この過程を DNA 被覆ナノ粒子で再現できれば、基板上にナノ粒子の結晶を作製することが可能となる。3 つの過程の内、粒子同士の結合は DNA 被覆ナノ粒子を用いれば可能となるため、重要となるのが基板への吸着と基板表面の表面拡散となる。そこで、DNA との親和性があり、かつ基板上を拡散する物質により DNA 被覆ナノ粒子を輸送することで、DNA 被覆ナノ粒子の吸着と表面拡散を実現しようと考えた。DNA 被覆ナノ粒子を輸送する物質として着目したのが、SLB である。SLB は脂質分子によって形成された膜で、DNA との親和性と流動性を併せ持つ。この SLB に DNA 被覆ナノ粒子を吸着させた後、SLB 内の脂質分子を運び手(キャリア)として DNA 被覆ナノ粒子を輸送することで、DNA 被覆ナノ粒子の表面拡散を実現し、ナノ粒子の 2 次元結晶が作製される。本手法は基板上に直接ナノ粒子の結晶を作製するため、デバイス化が容易となる。また、電子線リソグラフィなどの微細加工技術と併用することで、基板の特定の位置にナノ粒子結晶を作製させるなど、複雑な構造を作製させることも可能になる。さらに、基礎研究の観点からも、ナノ粒子によって 2 次元結晶化過程を直接観察できるという利点もある。そこで、本研究では、SLB 上における DNA 被覆ナノ粒子の 2 次元結晶化方法を確立し、結晶構造を制御することを目的とした。

第 2 章では、DNA と脂質二重膜の特性について述べた。DNA は A-T または C-G が選択的に水素結合する、ワトソン-クリック塩基対と呼ばれる結合により二重螺旋構造を形成する。この性質のために、1 つの DNA 塩基配列が決まれば、それと二重螺旋構造を形成するもう 1 種類の DNA 塩基配列も決定される。この性質を利用し、DNA オリガミなどのナノスケールの構造体を作製する工学的な応用がなされている。脂質二重膜は親水部と疎水部を併せ持った脂質分子によって構成された膜である。脂質二重膜内の脂質分子は膜内を拡散することができるため、DNA などの生体分子を拡散させる”場”としての利用がなされている。第 3 章では、SLB や DNA 被覆ナノ粒子の作製方法および SLB 上の DNA 被覆ナノ粒子の結晶化方法について述べた。さらに、SLB や DNA 被覆ナノ粒子を観察する手法として、

原子間力顕微鏡(AFM)や蛍光顕微鏡による観察手法についても述べた。

第4章では、カチオン性の脂質の一つ Dimethyl dioctadecyl ammonium bromide (DDAB) を用いて作製した SLB 上における DNA 被覆ナノ粒子の2次元結晶化を試みた。まず、基板に SLB が島状に点在した「パッチ状の脂質二重膜」を用いた実験では、DNA 被覆ナノ粒子が SLB に選択的に吸着することを確認した。その後、結晶化のために高温保持・徐冷を行うと、3次元的な凝集は抑制され、DNA 被覆ナノ粒子が2次元的に配列した2次元構造体を得られた。このことから、DNA 被覆ナノ粒子が SLB 上を2次元的に拡散したことが示唆される。しかし、2次元構造体には周期的な配列はみられなかった。この理由としては、パッチ状の脂質二重膜が温度変化により熱膨張・熱収縮を起こしたためだと考えられる。そこで、基板全面を SLB が覆うような均一な SLB の作製を試みた。このとき、製膜時の脂質濃度を増加させることで基板上の SLB の面積も増加していき、均一な SLB を作製することに成功した。均一な SLB を用いて、DNA 被覆ナノ粒子の2次元結晶化を試みたところ、三角格子構造をもつ DNA 被覆ナノ粒子の2次元結晶を作製することに成功した。しかし、得られた2次元結晶には粒界のような欠陥が観察された。今後、DNA 被覆ナノ粒子の濃度や DNA 被覆ナノ粒子の融解温度付近を非常にゆっくり通過するような温度シーケンスにより2次元核形成頻度を下げる、または、再アニールにより結晶サイズの大きい、配向の揃った2次元単結晶の作製が期待される。また、粒径の異なる粒子の周辺で欠陥が形成している様子も観察された。よって、粒子径を揃えることも欠陥低減に必要となることがわかった。

第5章では、マグネシウムイオンおよび DNA による DNA 被覆ナノ粒子の2次元結晶の構造制御を試みた。DNA はリン酸、糖、塩基により構成されており、リン酸が負に帯電しているため DNA も負電荷を持つ。マグネシウムイオンはリン酸に選択的に結合する性質を持つ。このマグネシウムイオンによって DNA の立体構造が変化することが報告されている。一本鎖 DNA において、マグネシウムイオンを添加していくと、一本鎖 DNA が折れ曲がったような構造になる。また、DNA 二重螺旋においてもマグネシウムイオンを添加することで、DNA 間の静電反発が緩和され、DNA 二重螺旋が束になる「バンドル化」と呼ばれる現象も報告されている。このように、マグネシウムイオンによって DNA の立体構造が変化するならば、DNA を介して結合している DNA 被覆ナノ粒子の配列にも影響を与えることが考えられる。そこで、SLB 上における DNA 被覆ナノ粒子の2次元結晶の構造に対するマグネシウムイオンの効果を調査した。さらに、ナノ粒子に被覆する DNA の塩基配列を変化させ、塩基配列が2次元結晶の構造に与える影響も調査した。マグネシウムイオンに関しては、マグネシウムイオンにより粒子間距離が減少することがわかった。これは一本鎖 DNA が収縮するためである。また、マグネシウムイオン濃度を変化させることで正方格子と三角格子構造を持つ DNA 被覆ナノ粒子の2次元結晶を得た。この結晶構造の変化は、マグネシウムイオンによる DNA のバンドル化と粒子間相互作用の変化によるものだと考えられる。さらに、ナノ粒子に被覆する DNA の塩基数を増やすことで、粒子間距離を増加さ

せ、正方格子構造を持つ DNA 被覆ナノ粒子の 2 次元結晶を作製することにも成功した。第 6 章では、DDAB SLB の相分離を利用した DNA 被覆ナノ粒子の 2 次元結晶の核形成制御に向けた、DDAB SLB の相転移過程の観察および DDAB SLB 内の相が DNA 被覆ナノ粒子に与える影響を調査した。分子動力学シミュレーションにおいて、DDAB SLB にはゲル相と指組みゲル相という 2 種類の相が形成することが報告されている。このような相分離が起こることで、DDAB SLB に吸着する割合が相によって異なる可能性がある。そのような違いが発生すると、DDAB SLB 内の相によって DNA 被覆ナノ粒子の密度が変化し、結晶成長の起点となる核形成を制御できると考えられる。しかし、実際に DDAB SLB 内どのような相が形成するのか、また、その形成過程は明らかになっていなかった。そこで、蛍光顕微鏡により DDAB SLB の相転移過程を観察したところ、高温で安定な液晶相から、冷却過程で 2 種類の相が形成した。これらの相を AFM で観察し、分子動力学シミュレーションの結果と比較したところ、ゲル相と指組みゲル相が形成していることがわかった。このことから、冷却過程における DDAB SLB の相転移過程では、液晶相-ゲル相および液晶相-指組みゲル相の 2 つの相転移が起こることがわかった。また、AFM 観察により、DNA 被覆ナノ粒子が指組みゲル相に選択的に吸着するという現象が観察された。この理由としては、DNA 被覆ナノ粒子が SLB に吸着した際に DNA の疎水部が SLB 内に入り込み、脂質分子の配列を乱すことで、脂質分子が密に配列したゲル相の形成を抑制し、指組みゲル相の形成が促進されたためだと考えられる。このように、DDAB SLB 内の相によって DNA 被覆ナノ粒子の吸着密度が変化するため、これを利用することで DDAB SLB の相分離を利用した DNA 被覆ナノ粒子の 2 次元結晶の核形成制御が期待される。第 7 章では、結論として本論文の総括を示した。