

バイオインスパイアードなテンプレートを用いた分子組織のプログラミング

Programmable Molecular Assembly on Bio-inspired Templates

(高分子学会推薦)

代表研究者 名古屋大学 田中健太郎 Nagoya University Kentaro TANAKA

協同研究者 名古屋大学 山田 泰之 Nagoya University Yasuyuki YAMADA

The ultimate “bottom-up” approach is to arrange atoms and/or molecules precisely in space and to make it operate efficiently. Molecular hierarchies seen in biological systems inspire us how to make complex and highly functionalized molecular systems. Besides the biological importance of DNA as storage of genetic information, DNA acts as a smart molecule for programmable self-assembly since it is possible to encode molecular assembled systems using sequences of nucleobases in a designable fashion. We have recently reported a novel metal-mediated base-pairing motif in DNA duplex as an approach based on the replacement of hydrogen-bonded base pairs by metal-mediated ones. Herein, we describe discrete metal arrays under the precise programming of “element”, “number”, “composition”, “direction” and “sequence” via self-assembly into artificial DNAs.

研究目的

多種類、多数の分子の3次元的空间配置をあらかじめプログラムし、分子機能を自在に精密組織化することが、高次のナノ化学システムの構築に必須である。結晶化や高分子的な自己組織化など、多数の分子コンポーネントを集積する方法は、集積する分子の数や配列などに分布を持ち、一義的な構造を与えない。一方、核酸やタンパク質などの生体高分子は、コンポーネントとなるヌクレオチドやアミノ酸の並び方において、「数」、「組成」、「配列」、「方向」に分布を持たない精密分子である。生体高分子の合成方法は、天然のビルディングブロックに限らず適用することが可能であることから、金属配位子や金属錯体、色素分子などの精密な配列化にも有効である。また、らせん、シート構造、環状構造など、このような生体高分子が形成する、特異な折りたたみ構造をモチーフとして、金属錯体の空間配置をデザインすることができる。DNAなどの生体高分子の合成方法は、ビルディングブロックであるヌクレオシドを逐次、縮合反応により連結していくため、「長さ」、「配列」をデザインしたとおりに合成することができる。この方法論は天然のビルディングブロックに限らず適用することが可能であることから、金属配位子や金属錯体の精密な配列化にも有効である。また、このような生体高分子が形成する特異な折りたたみ構造をモチーフとして、機能性官能基の空間配置をデザインすることができる。よって、機能性ビルディングブロックの精密集積場としてこれら生体高分子の化学構造は魅力的である。我々は今まで、DNA 二重鎖間の分

子認識や会合力を担う核酸塩基間の水素結合を金属配位結合に置き換えた、金属錯体型人工 DNA を構築してきた (Fig. 1)。人工 DNA が金属イオンをトリガーとして塩基対を形成することを利用し、(1) DNA の高次構造制御や、(2) DNA 内での定量的な金属錯体集積を行ってきた。本研究では、人工 DNA をテンプレートとし、数、配列、空間配置をプログラムする金属イオンの集積化の方法論の確立を行った。

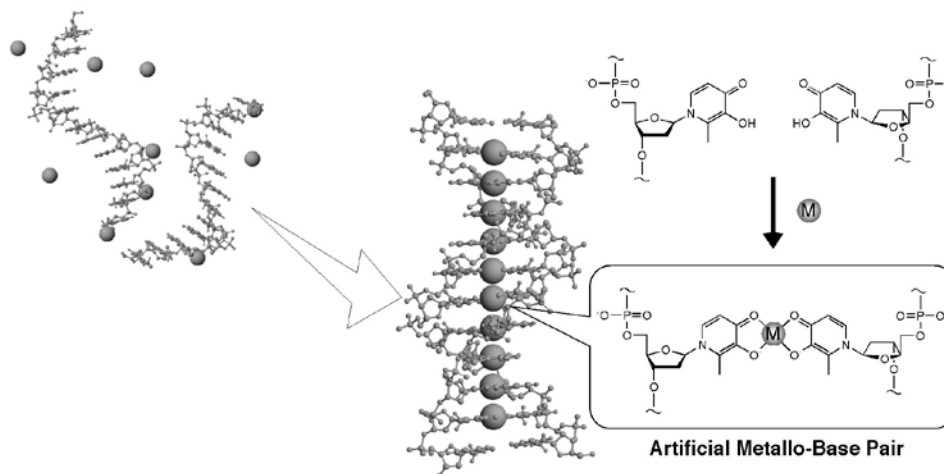


Fig. 1 Precise metal assembly on DNA template

DNA はアデニン(A)とチミン(T)、グアニン(G)とシトシン(C)間に生じる、核酸塩基間の相補的水素結合により塩基対を形成し、二重らせん構造を作る。これら 4 つの核酸塩基の並び方だけで、生命の設計図が全て表現されているのは驚くべきことだが、個々の核酸塩基には分子認識以外の機能は備わっていない。遺伝子のアルファベットたる核酸塩基を拡張し、新たな機能性分子で置き換えることにより、DNA 自体に新しい機能を付与することができる。我々は、人工 DNA を作る方法として、新たなアルファベットとして金属配位子を導入することを考えた。このような人工 DNA は、水素結合の代わりに、金属イオンの存在下、配位結合によって塩基対を作り、二重鎖を形成すると考えられる。金属イオンは DNA 二重鎖の中心に位置し、また複数の金属イオンをらせん軸に沿って配列化することも可能である。金属錯体は、金属配位子と金属イオンの組み合わせにより、その結合の特性や物性をファインチューニングすることが可能である。例えば、(1)結合、解離の熱力学や速度論を調節することができる、(2)二配位直線型、四面体型、平面四角型、六配位八面体型など様々な構造をとることができる、(3)酸化還元性、磁性、光応答・反応性、放射活性、Lewis酸性など多彩な物性を示す、といった通常の有機化合物とは異なるキャラクターを持つ。よって、DNA を金属錯体型人工 DNA とすることにより、金属錯体をコンポーネントとして持つ新しい機能性分子として生まれ変わることができる。金属配位結合の結合エネルギーは、共有結合エネルギーと、水素結合のような非共有結合エネルギーの中間に相当する。また、結合—解離の速度論は金属イオンと配位子の組み合わせにより大きく異なる。よって、金属錯体型塩基対を用いることにより、DNA 二重鎖の熱力学的安定性や会合速度論を目的に合わせてコントロールすることが可能である。

研究経過・考察

今までの金属イオンの一次元集積化の方法は、ほとんどが結晶化を基本とするため、一次元鎖上の金属イオンの数や、複雑な配列構造をデザインすることは困難であった。DNA を機能性分子構築のための骨格として用いる利点は、「数」と「配列」を制御して機能性ユニットを配列化できるところにある。そこで、有機化学的に合成したヒドロキシピリドン(**H**)型ヌクレオシドを系統的に1から5個配列したシーケンス $d(5'-\text{GH}_n\text{C}-3')$ ($n=1-5$) を合成し、 Cu^{2+} イオンの集積を行った。**H-H** 塩基対に対して1当量の Cu^{2+} を加えることにより平面構造を持つ **H-Cu²⁺-H** 塩基対が誘起される。 $d(5'-\text{GH}_n\text{C}-3')$ ($n=1-5$) に対する Cu^{2+} イオンの滴定実験やマスペクトル、CD スペクトルから Cu^{2+} イオンの添加によって $d(5'-\text{GH}_n\text{C}-3')$ ₂· Cu^{2+} 右巻き二重らせん構造を形成し、**H-H** 塩基対の数 n に応じた Cu^{2+} イオンを定量的に二重鎖中へ集積できることが明らかとなった(Fig. 2a)。さらに、配列化した Cu^{2+} イオン間のスピン-スピン相互作用を EPR スペクトルにより検討した結果、二重らせん構造の中で Cu^{2+} イオンは平面四配位型をとり、 Cu^{2+} - Cu^{2+} 間約 3.7 Å の距離でスタッキングしていることが明らかとなった。また、 Cu^{2+} イオン間には強磁性的な相互作用がみられ、 Cu^{2+} イオンの数に応じてスピン量子数が系統的に変化した(Fig. 2b)。よって、金属錯体型人工 DNA を用いれば、あらかじめ決められた「数」の金属イオンを規則正しい空間配置で集積できること、さらに、その構造がスピンの配向集積場として機能することが示された。原理的には鎖長を延ばすことは可能であり、高分子磁性体のモチーフとして興味を持たれる。

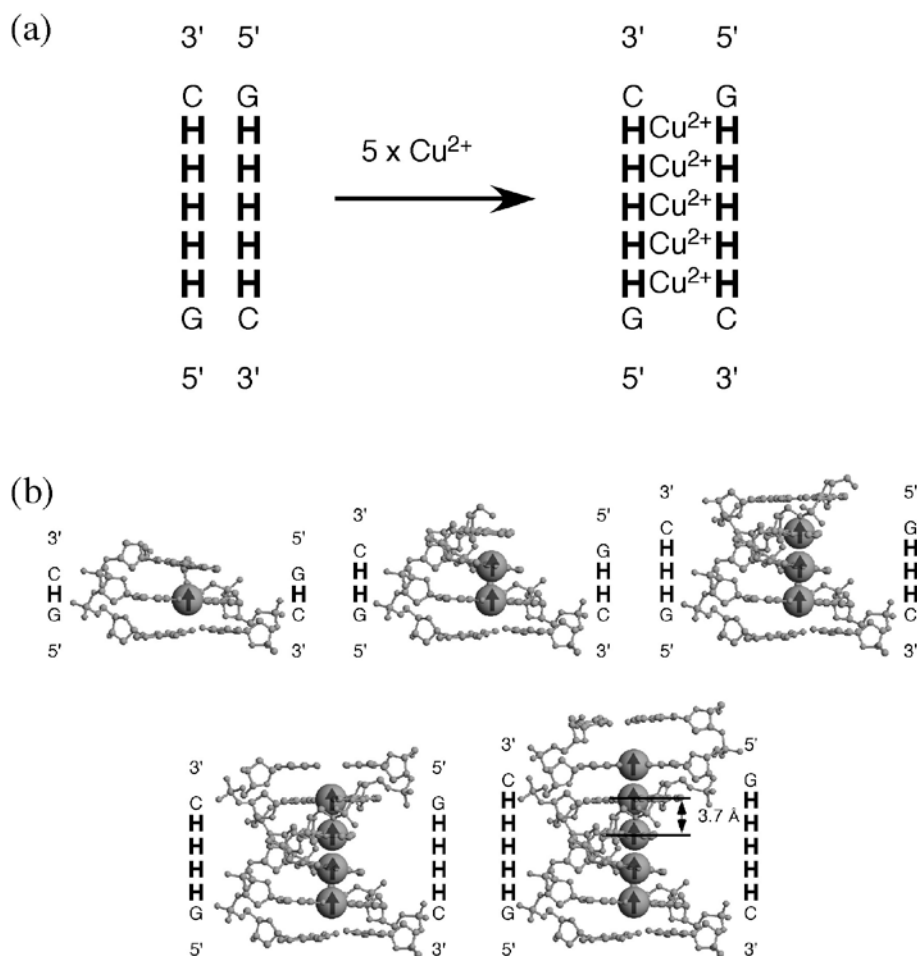


Fig. 2 Quantitative Cu^{2+} assembly into the artificial DNAs

H-Cu²⁺-H 金属錯体型塩基対を導入した人工 DNA は、天然型 DNA と同様の二重らせん構造を形成するが、中心金属イオンとして八面体 6 配位構造をとる Fe³⁺イオンを用いることにより、3つの **H** が1つの Fe³⁺イオンに配位し、人工 DNA は三重らせん構造を形成した(Fig. 3)。金属配位子が DNA 鎖の中に複数あることから、ボタンの掛け違いのように他の鎖との結合を繰り返し、ポリマーを形成することも考えられるが、一義的に **H** 塩基の数に応じた **H₃-Fe³⁺** ベーストリプレットを形成し、コントロールされた数の Fe³⁺錯体を集積するための極めて精密な方法論となりうることがわかった。平面 4 配位型の金属イオンに比べ、八面体 6 配位構造をとりやすい金属イオンの種類は多く、人工 DNA をテンプレートとした金属イオンの精密集積化が、多くの金属イオンに適応可能であることがわかった。

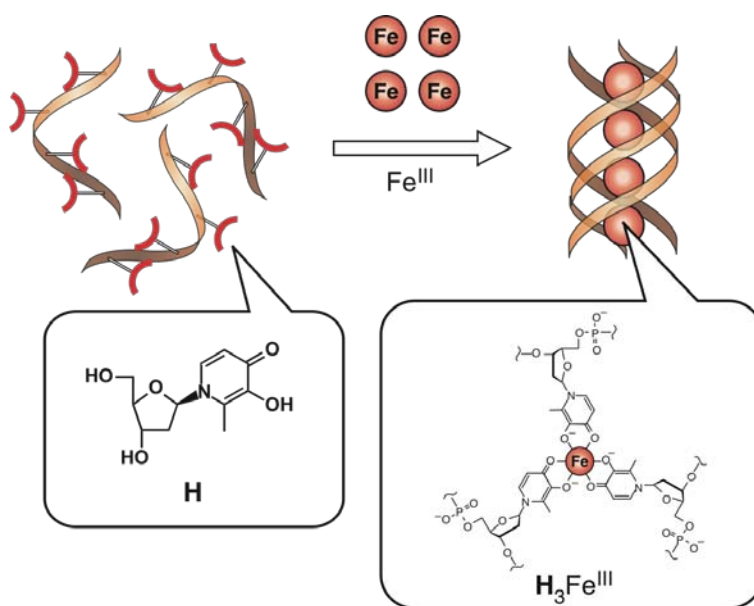


Fig. 3 Quantitative Fe³⁺ assembly into the artificial DNA triplex

DNA が分子集積化のテンプレートとして優れている点は、ビルディングブロックの配列を思い通りに合成できる点である。金属イオンのハード・ソフト、配位数、配位構造、電荷の違いを利用し、人工ヌクレオシドと金属イオンの結合特性を選択することができる。よって、金属イオンの選択性が異なる人工ヌクレオシドを DNA 鎖中に配列することにより、DNA 二重鎖内で、異種の金属イオンの配列をプログラムすることができると考えられる。Cu²⁺イオンに親和性の高いヒドロキシピリドン型ヌクレオシド (**H**) と、Hg²⁺イオンと親和性の高いピリジン型ヌクレオシド (**P**) を配列化した人工 DNA 二重鎖、d(GHPHC)₂ を合成し、金属イオンの集積化を行った(Fig. 4a)。

吸収スペクトルや CD スペクトルによる滴定実験、マスマスペクトル測定によって、**H** が Cu²⁺イオンと平面四配位型錯体 **H-Cu²⁺-H** 塩基対を、また **P** が Hg²⁺イオンと直線二配位構造 **P-Hg²⁺-P** 塩基対を形成し、定量的かつ位置選択的に金属イオンアレイ(Cu²⁺-Hg²⁺-Cu²⁺)を形成できることが明らかとなった(Fig. 4b)。同様に、金属配位子型ヌクレオシドのシーケンスを拡張した DNA、d(GHHPHC)₂ を用いると、Cu²⁺-Cu²⁺-Hg²⁺-Cu²⁺-Cu²⁺配列が得られた。さらに、サレン型ヌクレオ

シドとデオキシチミジンを配列した DNA 鎖をテンプレートとして用いても、 $\mathbf{S-Cu^{2+}(en)-S}$ および $\mathbf{T-Hg^{2+}-T}$ を形成しながら、5-10 個の金属イオンの配列を自在に構築することにも成功している。原理的には DNA 鎖を長く伸張し、多種・多数の金属錯体を定量的かつ一義的に配列化することもできると考えられ、人工 DNA で分子レベルの素子構築を行い、分子電線、分子磁石、テーラーメイドの触媒などへ応用することに夢がふくらむ。

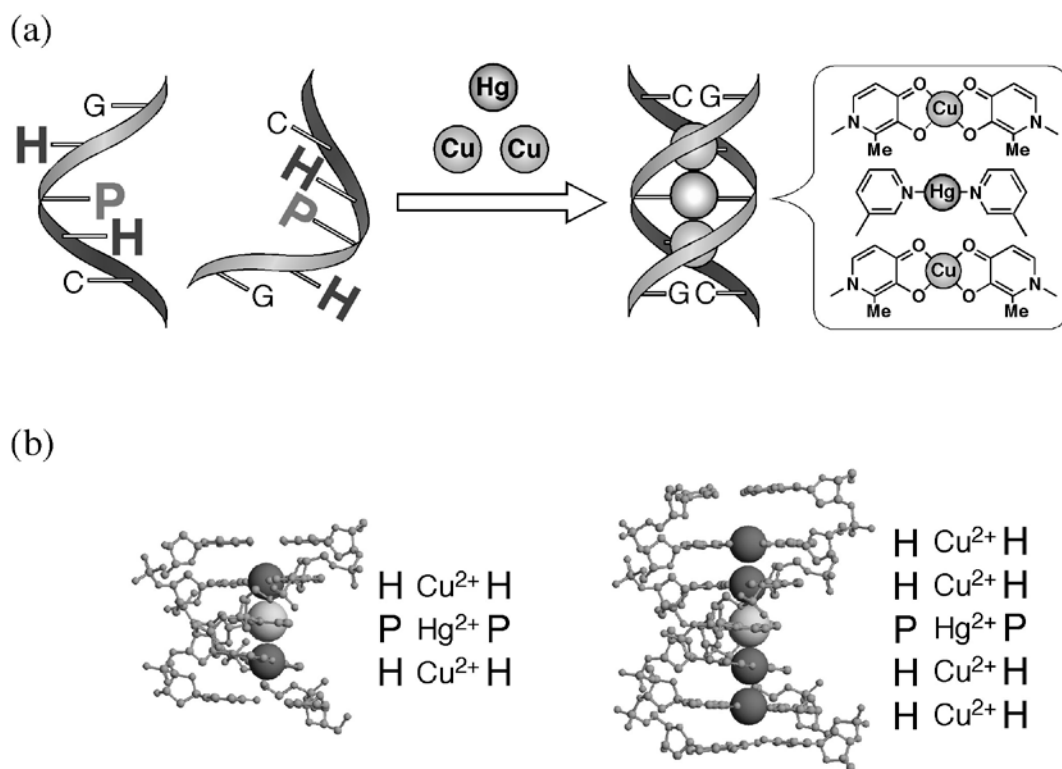


Fig. 4 Programmable metal assembly in the artificial DNAs

まとめ

以上のように、生体高分子のモチーフをテンプレートとして階層的な分子構築を行うことにより、金属錯体の緻密な組織化をプログラムすることができるようになった。この方法は人工DNA鎖と金属イオンを水溶液中で混合するだけで、分子量、配列に分布を持たない、ディスクリートの集積型金属錯体を構築することが特徴であるので、金属錯体間の機能コミュニケーションを制御する場として、将来的な応用に興味を持たれる。この方法論は、ペプチド鎖にも適用することができ、シーケンスプログラムしたハロゲン架橋白金錯体などの合成に成功した。今後、これらのディスクリートな分子構築法を、液晶などのポリメリックな自己組織化と組み合わせることにより、マクロスコピックな動的物性と分子機能の相互制御への展開を目指す。

研究発表

口頭発表

1. 田中健太郎 ; 「バイオインスパイアード精密分子組織の構築」、電気学会バイオマイクロシステム研究会「分子ナノテクノロジーと生体分子・細胞の極限計測・操作」、(名古屋、2008)
2. 田中健太郎 ; 「金属錯体の階層的集積プログラミング」、日本化学会第 88 春季年会、(東京、2008)
3. 田中健太郎 ; 「生体分子にヒントをもらう「ものづくり」」、日本化学会第 88 春季年会、(東京、2008)
4. 田中健太郎 ; 「プログラムに基づく金属錯体の階層的組織化」、第 58 回錯体化学討論会、(金沢、2008)
5. K. Tanaka, “*Hierarchical Organization of Metal Complexes*” 7th Japan-China Joint Symposium on Metal Cluster Compounds (JCSMCC 2008), October 20-23, 2008, Sapporo, Japan.
6. 田中健太郎 ; 「金属錯体集積化のプログラミング」、生物物質化学フォーラム第 3 回講演会、(福井、2009)
7. 田中健太郎 ; 「階層的な組織化による化学ナノ空間の創成」、第 12 回生命化学研究会、(福井、2009)

誌上発表

1. Y. Takezawa, W. Maeda, K. Tanaka, M. Shionoya; “Discrete Self-Assembly of Iron(III) Ions inside Triple-Stranded Artificial DNA”, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **48**, 1081–1084 (2009).