

「海洋生物由来DNAの新機能材料化に関する研究」

(平成11年度～平成13年度)

研究代表者：緒方直哉（千歳科学技術大学）他7機関

研究の概要・目標

1 何を目指している

鮭の白子など海洋生物由来DNAを出発材料とし、光学素子など新機能材料の開発を行う。

3年後の目標：

- ・DNA高純度大量精製技術の確立（純度10%アップを目標）
- ・DNA-脂質フィルムの非線形光学素子の作製
- ・フィルムの電子コピー機への応用技術の確立

2 何を研究している

DNAを材料とした高純度透明フィルムの作製技術、光学素子の挿入反応・性能評価を行い、新機能材料化の研究を行っている。

3 何が新しいか

海洋生物由来DNAを出発材料として、光学素子としての高純度利用を目指し、異分野の研究者が結集して新機能材料開発を行うもので、海洋生物由来DNAを光学素子に応用する本格的研究は初めてである。

諸外国等の現状

1 現状

DNAに関する研究は、遺伝子工学や発ガン機構などの生物的応用がこれまでの中心であり、DNAを光電材料に応用する研究は、本研究メンバーの北大・東工大等で試験的に取り組まれているにすぎず、世界に類を見ない研究である。

2 我が国の水準

我が国の光学素子に関する研究は世界的水準にあり、特に材料分野の研究者で先端的研究が進められている。

現在の光学素子は、有機または無機の単結晶により製造されているため薄膜化が限界に近づきつつあり、光導波路の形成が困難となっている。

また、本研究の素材開発としての鮭、ホタテ等の海産物由来DNAの分離精製については、我が国は水産国であり高度な技術の蓄積を有している。

研究進展・成果がもたらす利点

1 世界との水準の関係

薄膜化が容易で、光学特性を有する新機能材料を開発することは、光コンピュータの実現には、なくてはならない技術である。

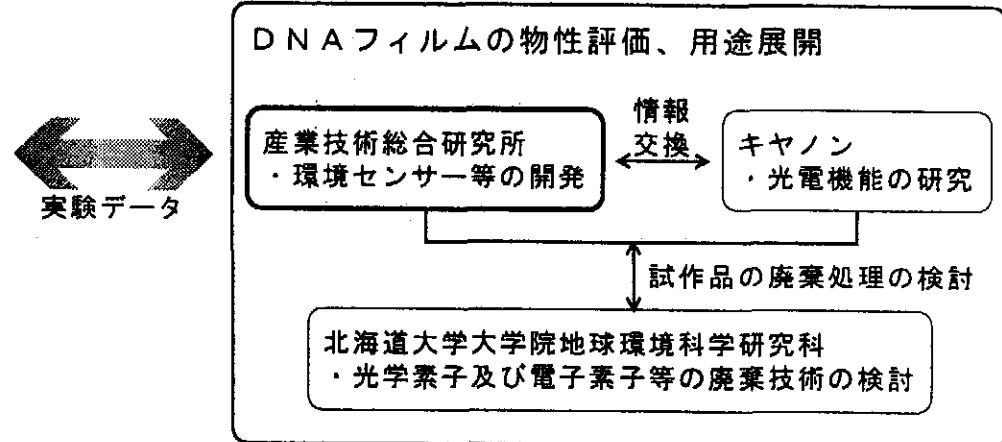
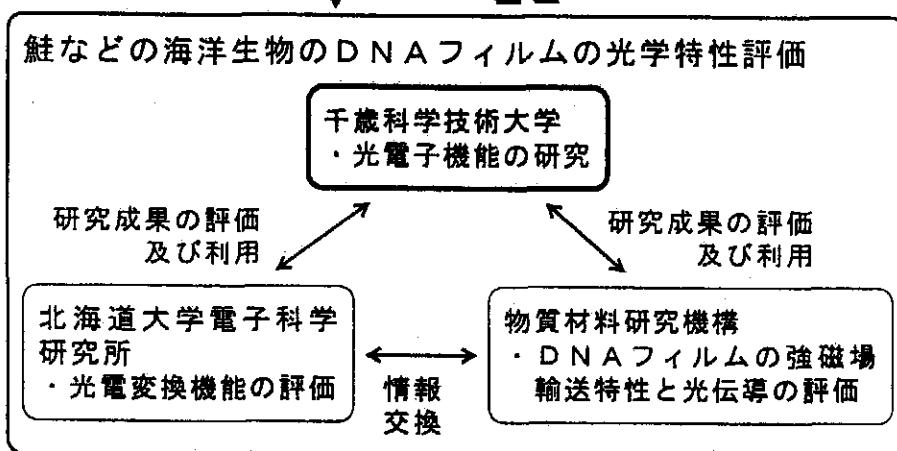
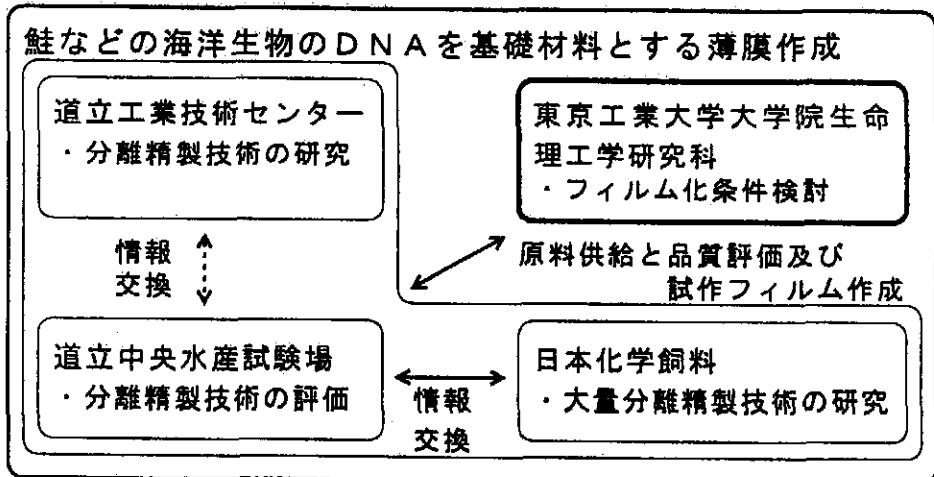
本研究チームは、光コンピューターの基盤となるDNAフィルム技術で世界をリードしている。

2 波及効果

高純度透明フィルムは、光電変換素子など光学素子への応用のほか、イオン伝導性膜、分離膜、難燃剤、エレクトロニクス素子などへの利用が期待される。

全国の海面漁業生産量の25%を占める北海道の鮭の白子が有効活用されれば環境問題が解決されるうえに、新たな産業創出が期待できる。

「海洋生物由来DNAの新機能材料化に関する研究」研究体制



所用経費一覧

課題名：海洋生物由来DNAの新機能材料化に関する研究（平成11～13年度）
 地域中核「かがやけ」：緒方直哉 千歳科学技術大学 名誉教授

研究項目	研究担当機関	研究担当者	所用経費 (千円)
(1) 海洋生物由来DNAを基礎材料とする薄膜作成			
① 鮭白子から分離精製したDNAの品質評価	北海道立工業技術センター	澤谷拓治、宮崎俊一	5,456
② 海洋生物由来DNAの抽出・分離技術に関する研究	北海道立中央水産試験場	西紘平、野俣洋、北川雅彦、麻生真悟、姥谷幸司、三上加奈子	16,203
③ 鮭のDNAの大量分離精製技術の研究開発	日本化学飼料株式会社	穂苅勝利、長谷川栄治、梅原泰男、関陽平	26,807
④ 鮭を中心としたDNAのフィルム化の条件検討	東京工業大学大学院生命理工学研究科	岡畑恵雄、森俊明、川崎剛美、吉澤宏幸	33,343
(2) 鮭を中心としたDNAフィルムの光学特性の評価			
① 鮭を中心としたDNAフィルムの光学素子及び電子素子の挿入反応の研究及びオプトエレクトロニクス機能の評価	千歳科学技術大学	緒方直哉、芦高英知、王麗莉、川辺豊、堀ノ内英	65,149
② 鮭を中心としたDNAフィルムの光電変換機能の評価	北海道大学電子科学研究所	下村政嗣、居城邦治	31,664

研究項目	研究担当機関	研究担当者	所用経費 (千円)
③鮑を中心としたDNAフィルムの強磁場輸送特性と光伝導の評価 (3)鮑を中心としたDNAフィルムの物性評価、用途展開	独立行政法人物質・材料研究機構	木戸義勇、森井奈保子、品川秀行、北澤英明	16,975
①鮑を中心としたDNAフィルムからの有機EL素子、太陽電池、環境センサーの研究開発	独立行政法人産業技術総合研究所	本間格、周豪慎	21,876
②鮑を中心としたDNAフィルムの光電機能の応用	キヤノン(株)	藤村直人、酒井清志、榎原悌互、土志田嘉、三浦大祐	17,585
③DNAフィルムを原料とした光学素子及び電子素子等の廃棄技術の検討	北海道大学大学院 地球環境科学研究所	西則雄、野水基義	6,660
(4)研究推進	(財)北海道科学技術総合振興センター		17,615
合 計			259,333

研究成果の概要

課題名：海洋生物由来DNAの新機能材料化に関する研究（平成11～13年度）
地域中核オガナイザー 緒方直哉 千歳科学技術大学 名誉教授

（1）海洋生物由来のDNAを基礎材料とする薄膜作成

①鮭白子から分離精製したDNAの品質評価

DNAの品質評価のために必要な純度等の分析技術を確立した。これらの技術を用いて鮭白子由来DNAを分析し、DNAの品質評価を行うことができた。この結果を基に共同研究者である日本化学飼料㈱が鮭白子からのDNA製造工程の改善を行うことができた。

②海洋生物由来DNAの抽出・分離技術に関する研究

ホタテガイ生殖腺から、高分子でタンパク質含量が低いDNAを抽出するSDS-MeEtOH-Cl法を見いだした。しかし、この抽出工程には中性フェノール処理が必要であり、抽出コストを圧迫する要因の一つであった。そこで、中性フェノール処理などを用いず、酵素・試薬処理と遠心分離操作により、ホタテガイ生殖腺およびニシン白子から光学素子材料に適したDNAを安価に回収する技術を確立した。

③鮭のDNAの大量分離精製技術の研究開発

鮭の白子を工業的に有利と考えられる酵素処理法を用いる事によって高分子のDNAを抽出することができた。また、酸やアルカリを使用せずにアミノ酸等の不純物を除去する精製法を見出すとともに、得られたDNAは、共同研究者より機能性材料として適合しているとの高い評価を得た。さらに、パイロットスケールで精製の検討を行ったところ、ビーカースケールやベンチスケールで得られたものとほぼ同等の品質のものを得ることができ、実生産レベル技術は、ほぼ達成されたと考える。

④鮭を中心としたDNAのフィルム化の条件検討

鮭由来のDNAとカチオン性脂質を混合し、DNA-脂質複合体溶液を調製する最適条件を得た。円偏光二色性スペクトルの測定から、DNA-脂質複合体は有機溶媒中でも天然のDNAと同じような二重らせん構造をとっていることがわかった。DNA-脂質複合体を有機溶媒からキャストしたり、粉末を直接ホットプレスすることにより透明で弾力性のあるフィルムが得られることがわかった。このフィルムを延伸すると延伸方向にDNA二重らせん鎖が配向し、このフィルムは、異方的な電導性材料、偏光フィルム、液晶フィルム、発ガン物質の吸着剤などに利用できることがわかった。

（2）鮭を中心としたDNAフィルムの光学特性の評価

①鮭を中心としたDNAフィルムの光学素子及び電子素子の挿入反応の研究 及びオプトエレクトロニクス機能の評価

1. 有機非線形光学色素をDNA-脂質複合体中にインターラートさせた膜の蛍光強度は色素

単独の場合に比べて100～150倍も大きく増大することを見出した。X線解析及びCDスペクトル解析の結果、DNAは二重らせん構造を保ち、色素とDNAの核酸塩基との間に強い電子的相互作用を有することを明らかにした。

2. 非線形光学色素であるスチルバゾニウム系色素をインターハレートすることによって約150倍の蛍光增幅が起り、二次及び三次非線形光学効果を示すことを確認した。
3. ローダミン色素をインターハレートしたDNA膜はYAGレーザーの照射によってレーザー発振することを確認した。
4. スピロビラン色素をインターハレートしたDNA-脂質複合体は紫外一可視光の繰り返し照射で色変化を示し、光記憶膜となることを確認した。
5. DNA-脂質複合体にローダミン、フルオレイン色素をインターハレートさせて薄膜とし、両面に電極を付与して電場をかけると発光してEL素子となることを確認した。
6. DNA-脂質複合体の中にインターハレートされる有機色素は専ら核酸塩基層の中でA-T層に入り、C-G層には入りにくいことを合成DNAを用いて明らかにした。DR-13色素をインターハレートしたDNA-脂質複合体膜の三次非線形光学効果を測定して 10^{-8} esuの大きな非線形定数を示すことを明らかにした。また、鮭の白子、ホタテ貝の生殖腺及び鯉の白子からそれぞれ得られるDNAは基本的に光学機能に相違がないことを確認した。

DMASDB色素をインターハレートしたDNA-脂質膜のレーザー発振機能を評価して膜の断面方向から強いレーザー発振が起り、新しいフィルムレーザーとなることを見出した。さらに、スピロビラン色素をインターハレートしたDNA-脂質複合体は紫外一可視光の繰り返し試験で300回以上の再現性があることを確認して、新しい光記憶膜となることを見出した。DNAとポリ(アニリン)などの導電性高分子とは任意の比率で混合して均一な薄膜を形成して、新しい導電性材料となることを見出した。

②鮭を中心としたDNAフィルムの光電変換機能の評価

- 1.DNA一分子を伸長かつ孤立化させて固定化する方法とその評価法を確立した。その結果、基板引き上げ方向に配列することを見出すとともに、電気泳動で展開しにくい高分子量のDNAの分子量でも、蛍光像の長さを測定することで簡単に求めることが可能となった。
2. 単一分子や超薄膜の光導電性を測定するためには、微小領域の微弱電流を感度良く測定する手法を開発する必要があり、AFM探針を電極とした光電流測定装置を作製しその測定法を確立した。
3. DNA超薄膜の光電変換機能評価方法を確立するとともに、poly(G)poly(C)LB膜が低い電圧で最も高い電流を流すことが明らかになった。

③鮭を中心としたDNAフィルムの強磁場輸送特性と光伝導の評価

DNA脂質膜の磁場異方性を評価するため、マグネット内(10T)にフィルムを挿入したときの回転の様子を硬性鏡で撮影した。その結果、延伸歪みを除去したDNA脂質膜ではDNAの纖維が磁場中で垂直方向に回転することが初めて明らかにされた。更に、スクイッド磁束計を用いた測定で、延伸脂質膜に磁気異方性が数%あることを確認した。

一方、DNA脂質膜の遠赤外特性研究では、鮭DNAードデシル・トリメチルアンモニウムプロミドの遠赤外特性をフーリエ分光器で測定した。その結果、同フィルムは遠赤外領域の広範に渡って透明で屈折率の高いことが分り、赤外素子として幅広い応用が可能であることを見出した。

(3) 鮎を中心としたDNAフィルムの物性評価、用途展開

① 鮎を中心としたDNAのフィルムからの有機EL素子、太陽電池、環境センサーの研究開発

1. ポルフィリン／DNA－脂質膜を作成し、ppbレベルのNO_x検出機能の基本的動作を確認した。このことにより、従来よりも低濃度での光学的ガスセンシングデバイスが作成可能であることが判明した。また、酸化窒素NO_xの暴露により電気伝導率が著しく低下することが判明し、NO_x検知機能を示すとともに、電気抵抗型ガスセンシング機能を有することを確認した。
2. シリコン基板上にDNA膜をキャスト成膜し表面電位検出型センサーを作成し、極低濃度のNO_xの吸着により色素インターラートしたDNA膜の表面電位が変化し、これを光交流電流の変化としてモニターすることによりppbオーダーの有害ガス検出デバイスを開発した。
3. ポルフィリン／DNA－脂質膜は酸化窒素NO_x暴露により電気伝導率が著しく低下することが判明し、NO_x検知機能を示した。また、微量なNO或いはNO₂ガス雰囲気の中に置き、水素振動子法と表面光電圧(SPV)法により周波数応答変化、インピーダンス応答変化を評価した結果、これらの微量なガスに対して有為な応答変化を示した。

② 鮎を中心としたDNAフィルムの光電機能の応用

ピリリウム化合物をDNA-脂質複合体と混合して電荷発生層(CGL層)とし、CG/CT積層型のOPCを塗工作製して帯電-露光特性を評価したところ、ピリリウム/DNA-脂質複合体混合系はCG機能を有することを確認した。色素濃度を50wt%とすることで現行のCG材系に機能評価レベルにおいて近付いた。(特に、チアピリリウム化合物の感度が良いことが分かった。)

DNA-チアピリリウムを電荷発生層として用いた電子写真感光体の特性変動、繰り返し特性評価、長期保存による特性変化を評価したところ、低温低湿条件下や長期の室温保存(6ヶ月)により感度が劣化し、この対策が課題となった。

③ DNAフィルムを原料とした光学素子及び電子素子等の廃棄技術の検討

インターラートのモデルとして臭化エチジウムを扱い、飽和量の臭化エチジウムをインターラートさせた水不溶性DNAに対し種々の物質、溶媒等を接触させる処理により、DNA担体から溶液側へ移動した臭化エチジウム量を評価した。

有機溶媒による分離操作では、当初予想していた高い排出効果を得られなかった。その原因として、DNA固定化粒子を用いた場合、含水量の高いハイドロゲル層が疎水性有機溶媒との接触、浸透を阻害した可能性が考えられる。そこで水系で可能な処理法として、静電的相互作用によるDNAを凝縮効果が知られるポリカチオン類の添加を試みた。各々塩基性度の異なる物質、キトサン(Dac62)、ポリシン、ポリアルギニンの他、DNA結合作用の強い核内タンパク質プロタミンを用いて処理したところ、プロタミンとポリアルギニンが共に90%以上と、優れた排出効果を与えた。比較的分子量の低いプロタミン(Mw:4～5×10³)は、塩の濃厚溶液への浸漬によって容易にDNAから再分離できるため、この処理法においてはDNA固定化粒子はの再生及び再利用が可能であった。再生後のDNA固定化粒子による臭化エチジウムの集積量は90%前後を保持した。

研究成果公表等の状況

課題名：海洋生物由来DNAの新機能材料化に関する研究（平成11～13年度）
 地域中核オガナイザー（氏名・所属）：緒方 直哉 千歳科学技術大学

【研究成果発表等】

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合 計
国内	0件	15件	107件	122件
国外	40件	4件	32件	76件
合計	40件	19件	139件	198件

(注：既発表論文について記載し、投稿中の論文については括弧書きで記載のこと)

【特許出願等】 3件（国内 3件）

その他：関連特許2件、出願予定1件

【受賞等】 1件（国内 1件）

日本化学会第18回学術賞「自己組織化を用いた分子集合の階層的構造化」
 （平成13年3月） 北海道大学電子科学研究所 教授 下村 政嗣

【主要雑誌への研究成果発表】

Journal	Impact Factor	サブテーマ 1	サブテーマ 2	サブテーマ 3	合計
<i>Nucleic Acids Res.</i>	6.373	1		1	2
<i>Advanced Materials</i>	5.579		1		1
<i>Chemistry of Materials</i>	3.690		1		1
<i>J. Dental Res.</i>	3.350	1			1
<i>Langmuir</i>	2.963	1	1		2
<i>Biomaterials</i>	2.489			1	1
<i>Nonlinear Optics</i>	0.945		1		1
<i>Polym. j.</i>	0.941	1	1		2
<i>Analytical Sciences</i>	0.916	1			1
主要雑誌小計		5	5	2	12
発表論文合計		11	20	9	40