

有機光電変換における
正のデンドリマー効果に関する研究

小笠原 伸

2007年3月

奈良先端科学技術大学院大学

目次

第1章 緒言

1-1.	デンドリマーの発見とその特徴	1
1-2.	これまでのデンドリマーの応用展開とデンドリマー効果	3
1-2-1.	バイオマテリアルとしてのデンドリマー	4
1-2-2.	光補修部位としてのデンドリマーの応用例	6
1-2-3.	宿主分子としてのデンドリマー	7
1-2-4.	触媒としてのデンドリマー	9
1-2-5.	その他のデンドリマーの応用例	10
1-3.	問題提起	11
1-4.	本論文の構成	13
1-5.	参考文献	14

第2章 光電変換素子への利用を目的とした ITO 基板上への TMPyP-ctDNA 薄膜調製法の検討

2-1.	序	16
2-2.	実験方法及び測定機器	
2-2-1.	SAM を固定相とする 1 -ctDNA 薄膜の調製	19
2-2-2.	PAMAM デンドリマーを固定相とする 1 -ctDNA 薄膜の調製	19
2-2-3.	紫外 - 可視吸収スペクトル測定による DNA 薄膜の評価	22
2-2-4.	水晶発振子 (Quartz Crystal Microbalance ; QCM) 測定による各層の表面被覆量の定量	22
2-2-5.	原子間力顕微鏡 (AFM) による基板の表面状態の形態学的評価	23
2-3.	結果と考察	
2-3-1.	PAMAM デンドリマーの表面吸着量についての評価	24
2-3-2.	PAMAM デンドリマーを固定相とする ctDNA の表面吸着量についての評価	29
2-3-3.	PAMAM デンドリマーを固定相とする 1 -ctDNA 薄膜調製についての評価	31
2-3-4.	SAM を固定相とする TMPyP-ctDNA 薄膜調製についての評価	35
2-3-5.	アニオン性ポリマー上における 1 の微視的状态の評価	37
2-3-6.	PAMAM デンドリマーを固定相とした ctDNA 膜の表面状態	

の評価	39
2-4. 結論	41
2-5. 参考文献	42
第3章 PAMAM デンドリマーを固定相とする TMPyP - DNA 系光電変換素子の調製と評価	
3-1. 序	43
3-2. 実験方法及び測定機器	
3-2-1. 電位依存性光電流測定	46
3-2-2. アクションスペクトル	47
3-3. 結果と考察	
3-3-1. PAMAM デンドリマー (G4) とポリアリルアミン塩酸塩 (PAH) を固定相に用いた光電変換素子の比較	49
3-3-2. PAMAM デンドリマーを固定相とする光電変換素子における PAMAM デンドリマーの世代の影響についての評価	52
3-3-3. ctDNA の光電流に及ぼす影響についての評価	67
3-4. 結論	72
3-5. 参考文献	74
第4章 結言	75
謝辞	78
論文目録	79

第1章 緒言

1-1. デンドリマーの発見とその特徴

1978年に Vögtle らによって、カスケードポリマーの概念が提唱され¹⁾、1985年に Tomalia らによって、中心コアから段階的にビルディングブロックとなる分子を結合させて規則的な構造を伸長した高分子が報告された²⁾。この高分子は中心から樹状に伸びた構造をしていることから、ギリシャ語の樹木を意味するデンドロンより、デンドリマーと命名された。通常の鎖状高分子は重合度を制御することが難しく、分子量分布が存在するが、デンドリマーは段階的に合成を進めて枝分かれを増やしていくため、分子量が数万に至るものでも単分散で得られるという利点がある。この枝分かれの回数は、一般的に「世代 (generation)」と表現され、第1世代、第2世代、第3世代・・・もしくは、G1、G2、G3・・・と表記される。

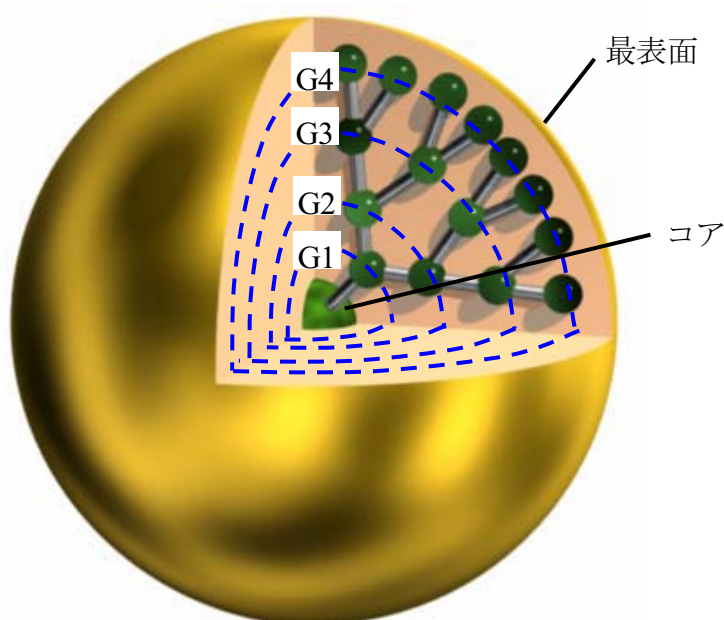
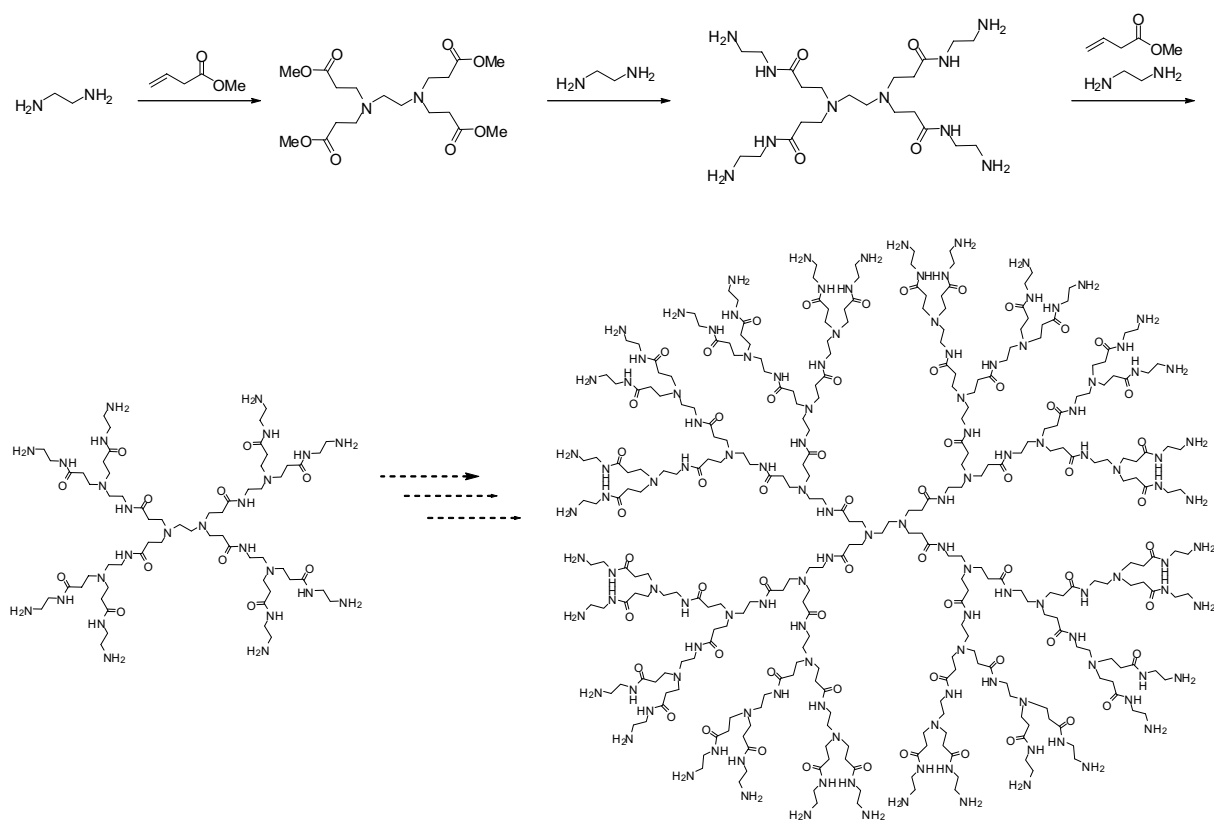


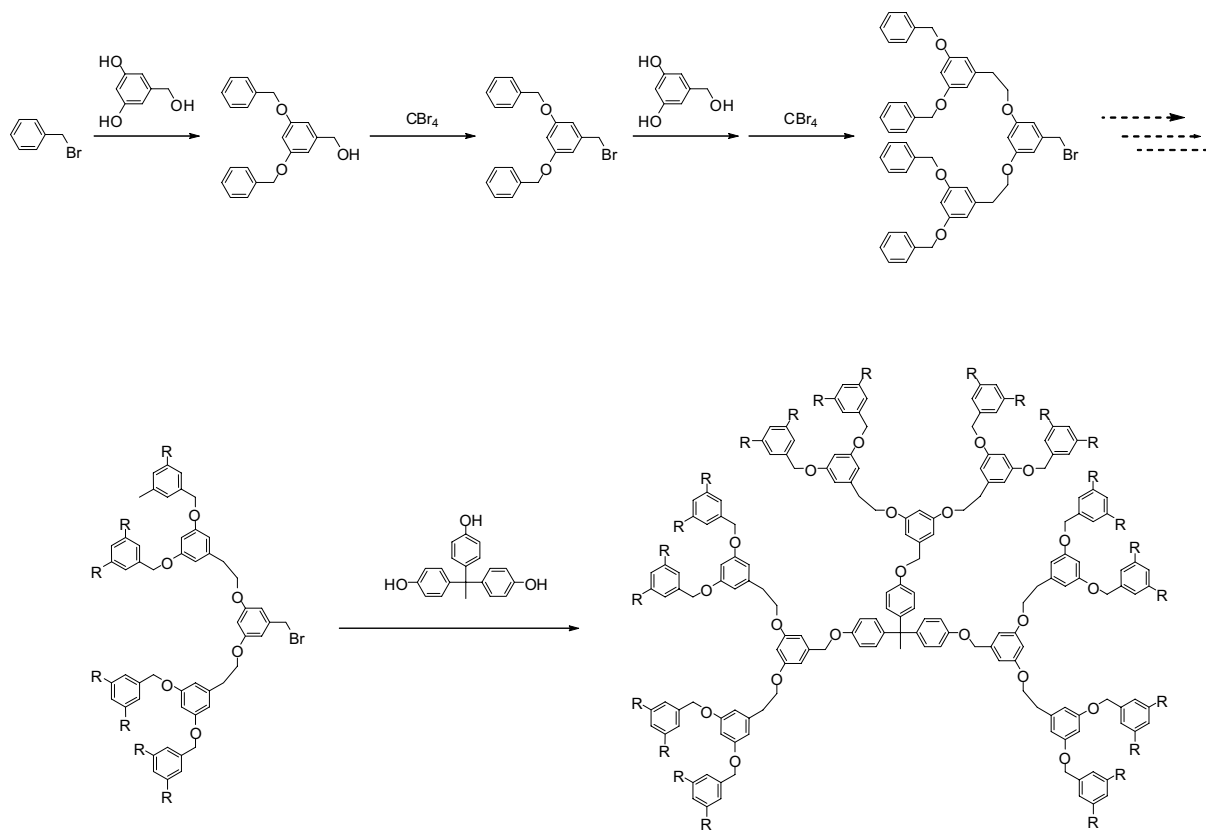
図 1-1. デンドリマーの構造の模式図.

Tomalia らの報告したデンドリマーは、中心からの段階的な合成を進めていく発散法 (スキーム 1-1) を利用したもので、工業的に合成できるほどスケールアップが可能であるが、高い世代になるにつれて枝分かれの欠損部分が見られるようになるという問題点がある。一方、Fréchet らは外殻から逆に段階的な合成を進めてデンドロンを合成し、最後にコア分子に複数のデンドロンを結合させる収束法 (スキーム 1-2) を提案している³⁾。収束法は、発散法に比べて高世代のデンドリマーで単一分子量のものが得られやすいが、工業的なスケールに拡張することは困難である。どちらの合成法も一長一短であるが、現在デンドリマーの合成には、この発散法か収束法のどちらかが用いられている。

スキーム 1-1



スキーム 1-2



以下に、デンドリマーの主な特徴を挙げた。

- (1) 分子量はビルディングブロックと世代によって決まり、分子量分布を持たない。
- (2) 分子の密度は、デンドリマーの中心から表面に向かって飛躍的に高くなる。つまり、中心はある程度の運動性を持っていて柔軟であるが、表面は分子の運動性が低く、比較的固い。
- (3) 枝分かれ構造から、低世代のデンドリマーでは円盤状であるが、高世代のデンドリマーは球状の分子形態を持つと見なせる。
- (4) 世代によって分子量が段階的に変わるので、分子サイズを比較的容易に制御できる。
- (5) 様々な官能基が部位特異的（コア，ビルディングブロック，最表面）に導入可能である。

上記のような特徴を活かし、これまでに化学のみならず様々な分野にわたって精力的な応用研究が行われてきた。ここで、生体中に目を移すと、高分子量かつ単一分子量のポリペプチド（＝タンパク質）が、これまで人工的に合成された高分子にはない様々な機能を発現している。この事実から、高分子量で単分散、なおかつ部位特異的に修飾可能なデンドリマーは、生体に匹敵する機能性分子を創り出すことができる可能性を秘めた非常に有用な高分子化合物であると言える。

1-2. これまでのデンドリマーの応用展開とデンドリマー効果

生体は、様々な構成単位の階層的な組織体によって成り立っている。階層構造によって、構成単位独立では不可能である機能が発現されるのが、生物機能の大きな特徴である。例えば、細胞膜は両親媒性の脂質分子が組織化することによって形成されおり、内部に反応場を形成し、複雑な生体反応を可能にしている。このような事実のもと、多数の弱い結合を利用して人工的に階層構造を創り出し、新たな機能性材料を開発する超分子科学の研究が活発に行われている。しかし、超分子的な階層構造を構築しようとした場合、その構造が大きくなればなるほど、目的通りの構造に制御することが困難となる⁴⁾。例えば、人工脂質二分子膜（リポソーム）を調製する際、そのサイズや形状を制御するには分子設計だけでなく技術的な問題が関わってくる。さらに、リポソームを構成単位として階層構造をつくり出す研究も数多く報告されているが、形状の変化やリポソーム間の反応制御といった問題がある。こうした階層構造を制御する有効な手法の一つとして、階層構造の構成単位にデンドリマーを用いることが挙げられる。デンドリマーはそれ自身、ビルディングブロックとなる分子が寄り集まった階層構造を持つミセル状の分子集合体である。また 1-1 で述べたように、合成的手法によってそのサイズや形状、化学的性質を比較的容易に操作できる。このような性質を利用したデンドリマーの超分子科学的な応用研究は、刺激応答性のスマートマテリアル^{5),6)}や触媒の固定化担体⁷⁾、薬

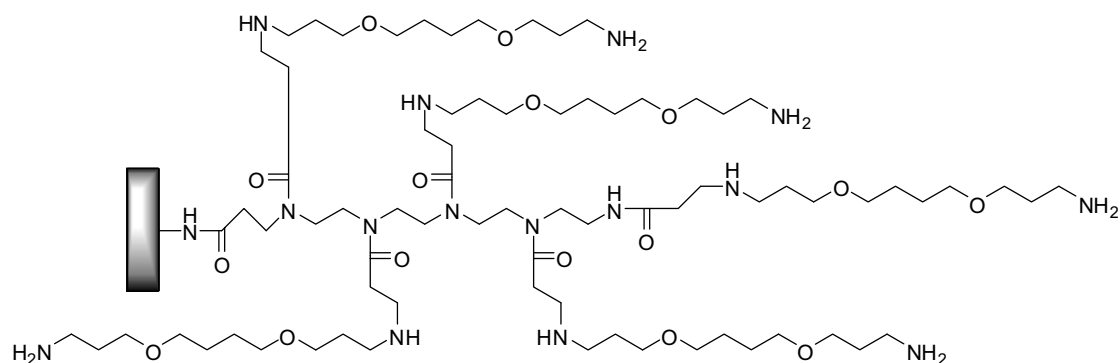
物輸送システム (DDS)⁸⁾、遺伝子導入キャリアー⁹⁾、光機能材料^{10),11)}、内部空間の反応場としての活用¹²⁾など、幅広い応用展開がなされている。また、デンドリマーを使うことで、通常の小サイズの分子を用いた時には期待できなかった効果 (デンドリマー効果) がいくつかの研究で報告されている。このデンドリマー効果は、(i) デンドリマー最表面の官能基の数が、世代と共に飛躍的に増加すること、(ii) 通常の鎖状ポリマーや分子集合体と違い、その表面官能基の配置は規則性が高いことなどが原因となり生じる。その効果には反応活性の増減、電子移動効率の増減、分子認識能の増減などの様々な例があり、一般にデンドリマーの世代の上昇とともに目的とする現象が促進される効果を「正のデンドリマー効果」と言い、逆に目的とする現象が阻害される効果を「負のデンドリマー効果」と呼ぶ。

以下に、デンドリマーの応用研究について述べる。

1-2-1. バイオマテリアルとしてのデンドリマー

バイオマテリアルは、医療やバイオテクノロジーの分野において用いられる材料の総称である¹³⁾。その用途は DDS や遺伝子導入、再生医療などと様々である。バイオマテリアルの研究は、急速に進歩する医療分野の根幹を担う、非常に重要な研究分野である。しかし、生体分子との特異的な相互作用を標的にする場合、人工的な鎖状高分子ではその相互作用点を制御することが難しい。鎖状高分子の側鎖に生体分子と相互作用可能な官能基を導入しても、溶媒中における高分子の運動や形態を制御できなければ、効果的な相互作用は望めないからである。そこで、球状高分子であるデンドリマーを用いることによって、生体分子に対する相互作用点の制御が試みられている。例えば、生体親和性に優れたデンドリマーの開発によって、ドラッグキャリアーや遺伝子導入キャリアーへの応用が、一部では実用化段階にまで到達しているものがある⁹⁾。その一つに、ポリ(アミドアミン) デンドリマー (PAMAM デンドリマー) を用いた研究がある。PAMAM デンドリマーの最表面のアミノ基は中性条件下においてほぼ 100%プロトン化されてカチオン性となっており、DNA のリン酸基アニオンとの静電相互作用によって容易に複合体を形成する。このような特性に加えて PAMAM デンドリマーは細胞毒性が低く、遺伝子導入効率も高いため、生化学実験用の遺伝子導入剤 [Superfect[®], キアゲン (株)] として市販されている⁹⁾。この他にも PAMAM デンドリマーの生体適合性の高さに着目し、アミドアミンを繰り返し単位とするデンドロンを基板上に固定化し、さらにそのデンドロンの末端アミンに DNA を共有結合的に固定化することで、DNA チップとしての利用が報告されている (スキーム 1-3)¹⁴⁾。このとき、基板上に樹状構造の分子を固定化することで、DNA の固定化密度を上げられることが可能となっている。

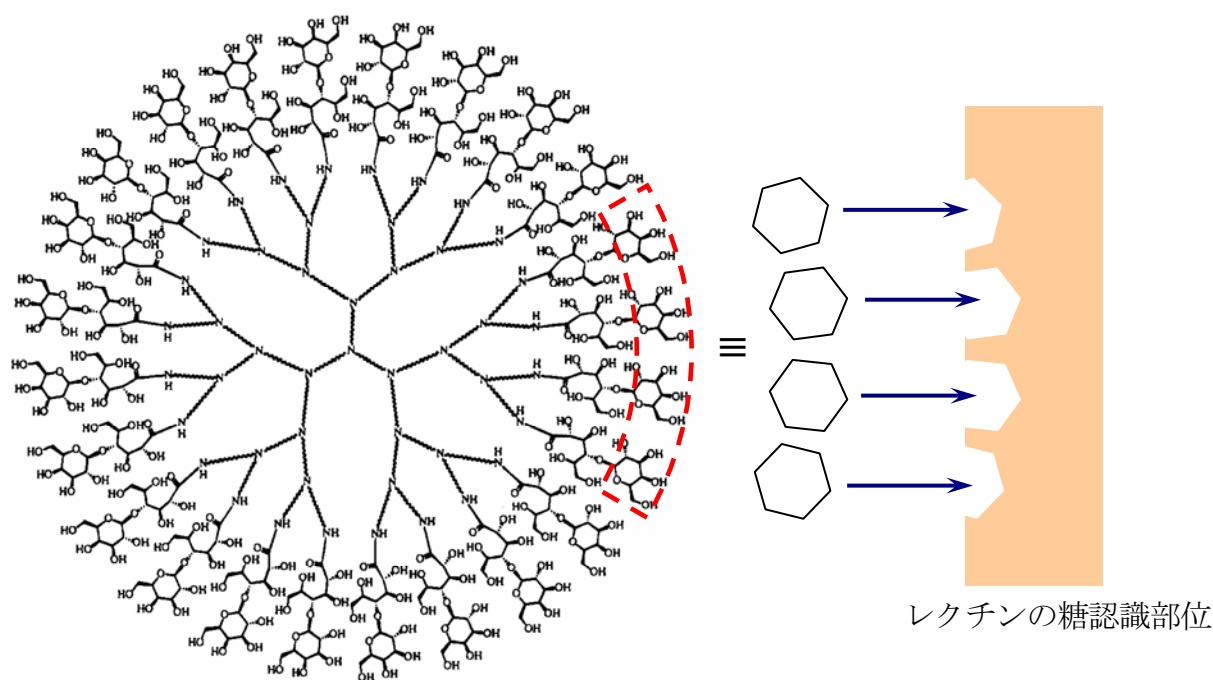
スキーム 1-3



官能基を dendrimer の末端に導入することで、表面に様々な官能基を導入することが、比較的容易に行える。もし、生体適合性の高い PAMAM dendrimer の表面に生体分子に特異的に相互作用する官能基を修飾することができれば、さらなる応用展開が期待できる。また、dendrimer の球状形態を利用し、生体分子との相互作用点の制御も可能である。そのような研究の代表的な例として、青井らによる「シュガーボール」が挙げられる (スキーム 1-4)。青井らは、PAMAM dendrimer の最表面に糖鎖を導入し、「シュガーボール」と呼ばれる dendrimer 化合物を合成した。このシュガーボール表面に導入する糖鎖として、マルトースやラクトース誘導体を使用すると、血液凝固に関与するレクチンと優先的に結合して血液凝固を阻害することを報告している¹²⁾。シュガーボールには、dendrimer の世代を変えることで、標的のレセプターにあった最適な糖鎖間距離を実現できるという利点がある。細胞の糖鎖受容体の形によってシュガーボールのサイズを変えれば、目的にあった細胞認識を効果的に行うことができると予想される。また、dendrimer の内部空間に薬剤を保持させれば、有効なドラッグキャリアーとして利用できるであろう。

生体分子と相互作用する官能基はこれ以外にもたくさん知られており、dendrimer を用いた相互作用の制御という点において、その応用展開は今後も広がっていくと予想される。

スキーム 1-4

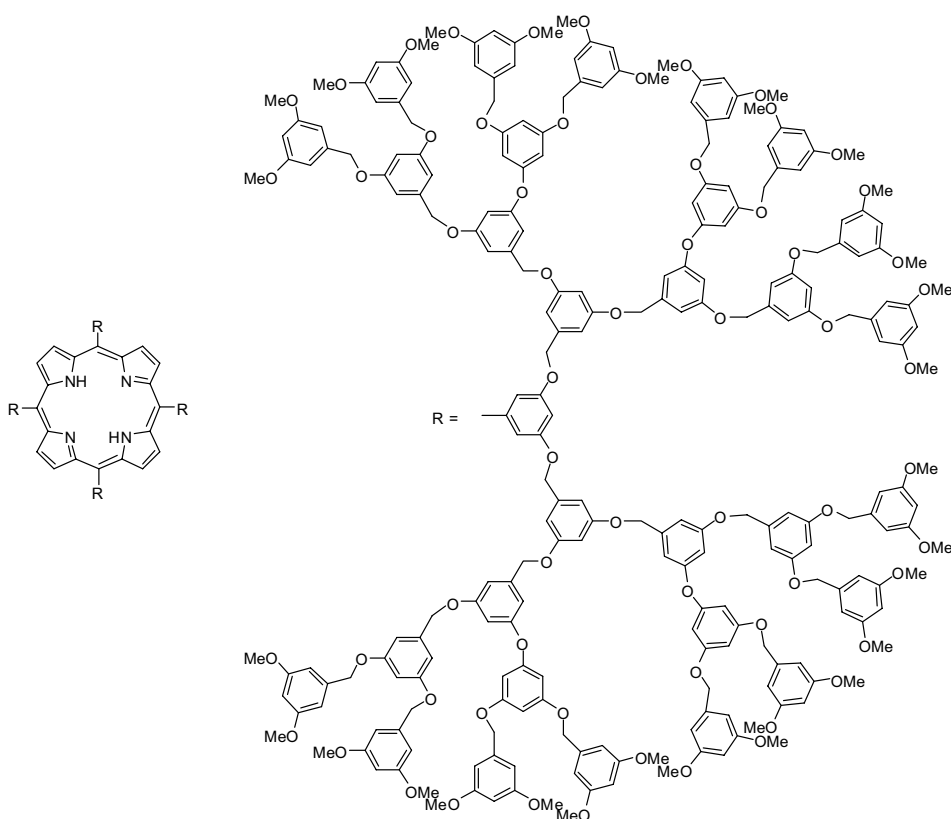


1-2-2. 光捕集部位としてのデンドリマーの応用例

デンドリマーの合成法において、Fréchet らの開発した収束法によって、デンドリマーへの位置選択的な官能基の導入が容易になった。そこで、これまでに様々な機能性官能基を導入したデンドリマーが合成された。そのいくつかの例を、ここで紹介する。

デンドリマーの機能をひき出した最も興味深い例の一つとして、光機能性デンドリマーが挙げられる。相田らは、ポルフィリンをコアとしてベンジルエーテルを周辺官能基としたデンドリマーについて報告している¹⁰⁾。デンドリマーであるベンジルエーテル部分を 280 nm の光で励起すると、310 nm におけるベンジルエーテル部分の蛍光が消光し、600~750 nm においてポルフィリン由来の蛍光発光が観測された。これは、周辺のベンジルエーテルからポルフィリンコアに向かって Förster 型一重項エネルギー移動が起こったことを示している。また、このエネルギー移動効率が世代の上昇とともに高くなることから、「正のデンドリマー効果」が確認された。さらに、低温においてもエネルギー移動効率が上昇することから、この原因はデンドリマーのベンゼン部位が立体的な混み合いによって振動が抑制され、エネルギー移動がより高効率で起こったためと考えられる。相田らはさらに、ポルフィリンを基本骨格としたポルフィリンデンドリマーを合成し、その光補修アンテナとしての性能について、天然の葉緑体や光合成細菌に見られる光補修アンテナ系と類似したエネルギー移動を実現し、この場合においても「正のデンドリマー効果」が確認されたことを報告している¹¹⁾。

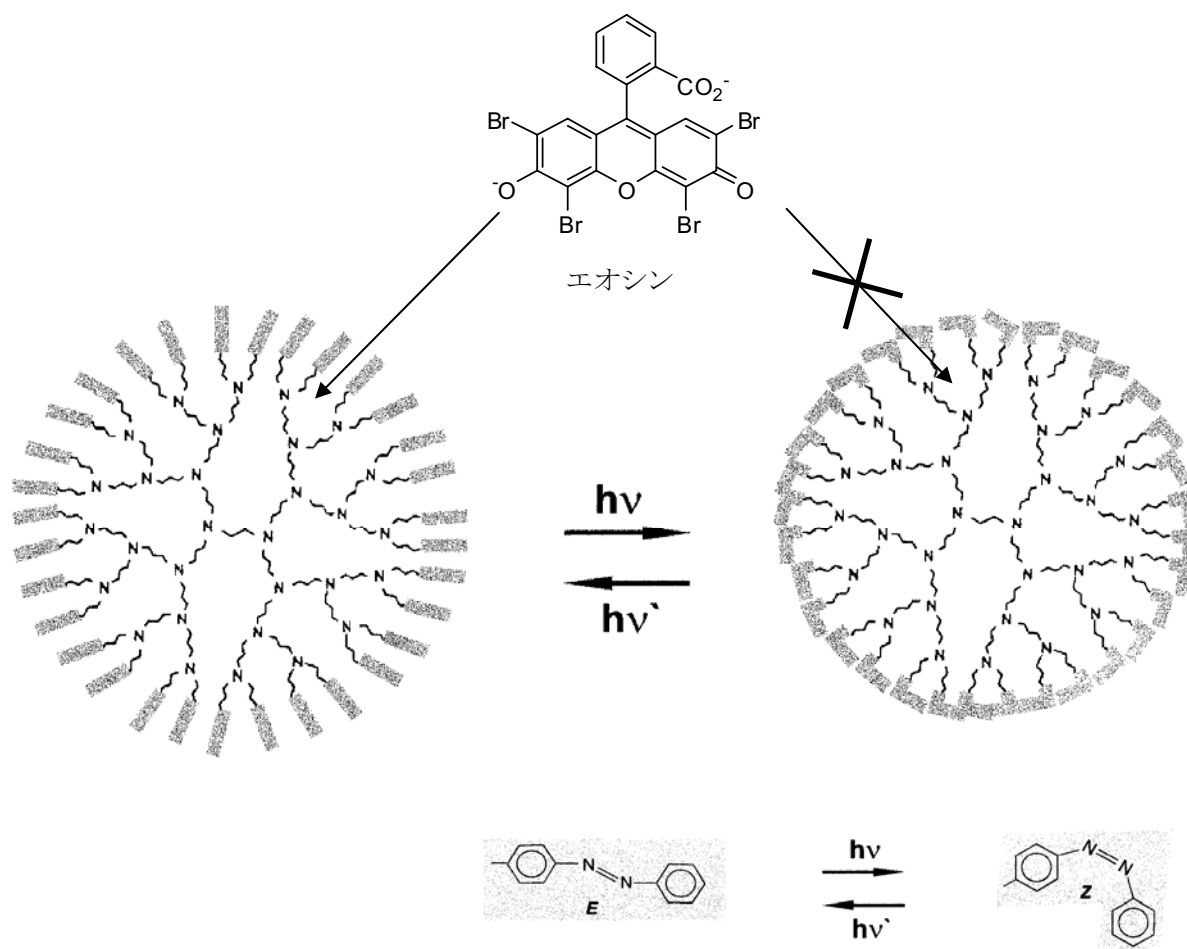
スキーム 1-5



1-2-3. ホスト分子としてのデンドリマー

光機能性官能基の導入によって、デンドリマーの特性をひき出した他の例としては、Vögtle らによるアゾベンゼンをデンドリマー表面に導入した系がある⁵⁾。これは、デンドリマーに光機能性を付与することで、デンドリマーの内部空間のゲスト分子取り込み能を制御した研究である。具体的には、スキーム 1-6 に示したように、ポリ（プロピレンイミン）デンドリマー表面にアゾベンゼン部位を導入し、アゾベンゼンの光異性化によってエオシンの取り込みを制御した。この場合、アゾベンゼン部位がトランスであるときの方が、シスであるときよりもエオシンを取り込みやすいことが分かっている。

スキーム 1-6



刺激応答性の dendrimer の系について、上記のような光応答性ではなく、pH に応答して内部空間に保持したゲスト分子を放出する例も報告されている。刺激応答性の dendrimer は、環境に応じて内包した薬剤を放出することが出来るドラッグキャリアーとしての期待から、研究が進められている。Paleos らは、PAMAM dendrimer にピレンが内包することを見出しており¹²⁾、その応用展開としてジアミノブタン誘導体を修飾した PPI dendrimer を用いて、pH が減少すると共に内包ピレンが放出される刺激応答性 dendrimer を構築したことを報告している⁷⁾。

上記のような刺激応答性 dendrimer は環境応答性のドラッグキャリアーとしてだけでなく、センサーとしての応用も試みられている。

Tabacco らは、通常は死細胞のみを染色する SYTOX-Green が、PAMAM-OH dendrimer 存在下においては生細胞に浸透・染色することを利用し、グラム陰性細菌の一種である *Pseudomonas aeruginosa* を生きたまま検出することができるセンサーについて報告している¹⁵⁾。この他にも、PAMAM dendrimer を利用した DNA の電気化学センサーや¹⁷⁾、ナフタルイミド部位を最表面に持つ dendrimer の蛍光消光を利用した希土類金

属イオンセンサーなどが報告されている¹⁷⁾。

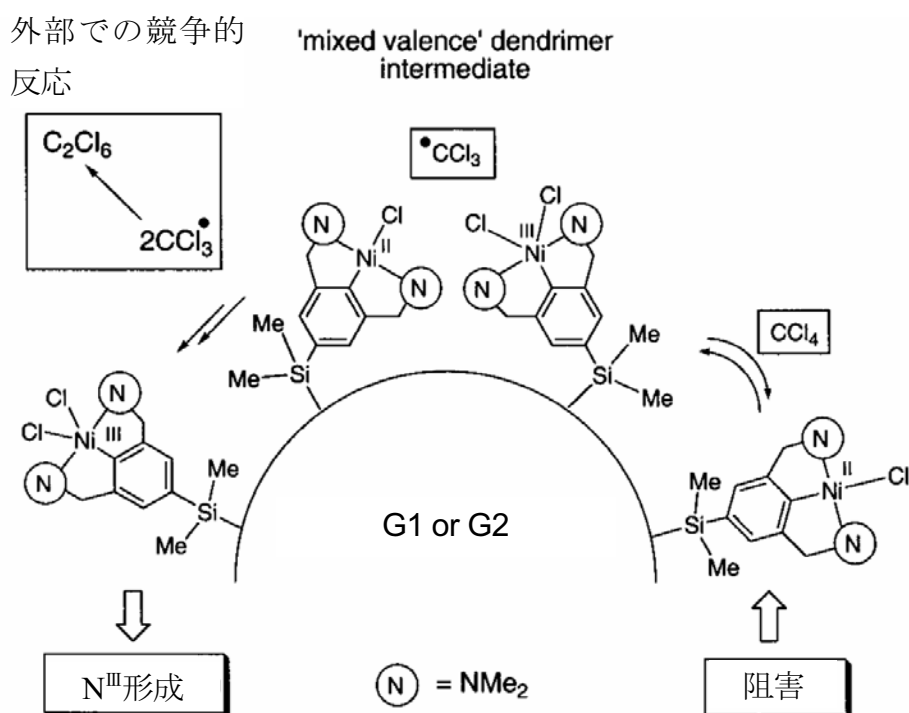
これまで述べた報告例は、主に dendrimer 最表面の官能基を改変することで目的とする機能を付与した系であったが、dendrimer 特有の樹状分子鎖の間に存在する内部空間の利用を主眼とした研究も数多く報告されている。分子内部に空間を持つ巨大分子である dendrimer は、タンパク質のモデル化合物として捉えられ、コアに酸化還元能を有する鉄ポルフィリンコアを持つような機能性 dendrimer の研究が進められてきた¹⁸⁾。鉄ポルフィリン dendrimer は、第 1 世代のものにおいては酸素補足に伴って μ オキソダイマーを形成し、可逆な吸脱着が起きない。しかしながら第 3 世代以上で、生体におけるヘムタンパクと同様に酸素と可逆的な吸脱着を示すことが相田らによって報告されている。これはコア周辺の樹状分子鎖が障壁の役割を果たしており、分子間の相互作用を阻害しているからである。また、樹状高分子鎖が壁の役割を果たす例として、dendrimer 内部空間を反応場とした有機 - 無機ハイブリッド材料としての応用についてもいくつか報告がなされている。この大きさが限られた空間を利用することで、大きさの揃った金属ナノ粒子¹⁹⁾や炭酸カルシウム結晶²⁰⁾、多孔質シリカなどの調製²¹⁾が報告されている。

1-2-4. 触媒としての dendrimer

dendrimer 効果について述べた研究において、中でも比較的報告件数の多いものは、dendrimer を触媒として用いた系における dendrimer 効果である⁷⁾。

van Koten らは、触媒活性が dendrimer の世代によって減少する、負の dendrimer 効果について報告している。 $\text{NiCl}_2(\text{Pet})_2$ の配位した三座配位子 $[\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_2\text{NMe}_2)_2\text{-}2,6\text{-R-}4]$ を持つカルボシラン dendrimer の、メチルメタクリレートへの四臭化炭素の付加反応に対する触媒活性について調べたところ、世代の増加と共に触媒活性が増加することを見出した。その原因は、G0 より高い世代の dendrimer (G1, G2) では dendrimer 表面の Ni 部位が近接していることにより、不活性化した Ni(III) と反応し、ラジカル中間体や電子移動過程を失活させるためであると結論付けられている (スキーム 1-7)。

スキーム 1-7



上記の負のデンドリマー効果とは逆に、触媒反応における正のデンドリマー効果についても報告されている。Portnoyらは、オレフィンアリル化反応の一つである Heck 反応において、末端にホスフィン-パラジウム錯体を持つポリ（アシルベンジルエーテル）デンドロンを固定化したポリスチレン樹脂を用いて触媒活性を検討した。その結果、デンドロンの世代が増加すると共に、触媒活性は飛躍的に増加したことを報告している。また、Reymondらは、ヒスチジン残基を表面に有したペプチドデンドリマーによるエステルの加水分解反応においても、世代の増加と共に触媒活性が増加することを報告している。

1-2-5. その他のデンドリマーの応用例

その他にも、表面にフェロセンを持つデンドリマーの標準酸化還元電位が、デンドリマーと特定のアニオンとの相互作用の結果、正方向にシフトし、そのシフトする大きさがデンドリマーの世代に伴って増加することが Astruc らによって報告されている²²⁾。また、リジンデンドリマーをゲル化剤として用いた場合、デンドリマー世代に依存してゲルの形態や性質が変化することも報告されている²³⁾。

1-3. 問題提起

1-2 で述べたように、デンドリマーの世代に依存して、デンドリマー自身あるいはその複合体の性質に、小サイズの分子や直鎖状ポリマーでは見られなかった特殊な影響を与えることは非常に興味深い。しかし正のデンドリマー効果に限ると、その例はまだ少なく、例えば触媒活性や光補修機能の向上などの限られた分野で報告されているのみである。強い相互作用だけでなく、比較的弱い相互作用を強化する役割を果たしており、このことは生命現象を理解・模倣する上でも重要だと考えられる。

一方で、水溶性の直鎖状ポリマーを利用した交互積層法が、機能性分子デバイスを構築する手法の一つとして広く用いられている。交互積層法は、カチオン性高分子とアニオン性高分子の水溶液に交互に基板を浸漬・洗浄することを繰り返すだけで基板上に薄膜を形成させることができる、非常に簡便な調製法である。しかし、直鎖状ポリマーを基板上に固定化する際、分子内の静電反発によって一定密度以上に電荷部位を基板上に集積することができない。そのため、ポリマー膜状に固定化される分子と多点で相互作用しにくくなり、膜の耐久性が低下してしまうという問題点がある [図 1-2 (a)]。そこで本研究では、基板上における表面電荷の集積化を目的に、PAMAM デンドリマーを交互積層膜の固定相として用いることを提案した。PAMAM デンドリマーは中性条件下で末端アミン部位が 100%プロトン化されており²⁴⁾、そのアミン部位の密度は世代の増加とともに飛躍的に高くなる。つまり、PAMAM デンドリマーは世代の増加に伴って表面電荷密度が高くなることから、基板上での表面電荷の集積化が期待される [図 1-2 (b)]。本研究では、カチオン性ポルフィリン (スキーム 1-8, 1) がインターカレートした仔牛胸腺 DNA (ctDNA) に対する固定相として PAMAM デンドリマーを用いた交互積層膜の調製を行った。固定相に用いる PAMAM デンドリマーの世代によって交互積層膜の特性がどのように変化するかについて、主として光電変換反応を観測することで評価した。光電変換反応は、外部刺激によって出力される光電流が鋭敏に変化し、センサーデバイスとして応用可能な性質を有している。加えて、交互積層膜を利用した光電変換素子について、当研究室ではこれまでにいくつか報告しており、その知見を本研究においていかすことができると考えた。また、交互積層膜における固定相としての PAMAM デンドリマーの優位性を示すために、直鎖状のポリマーを用いて調製した **1** - ctDNA 交互積層膜との比較検討も行った。**1** と ctDNA は静電相互作用と疎水性相互作用によって、安定な錯体を形成することができることが知られていることから²⁵⁾、ctDNA による **1** の孤立化の効果についても検討した。

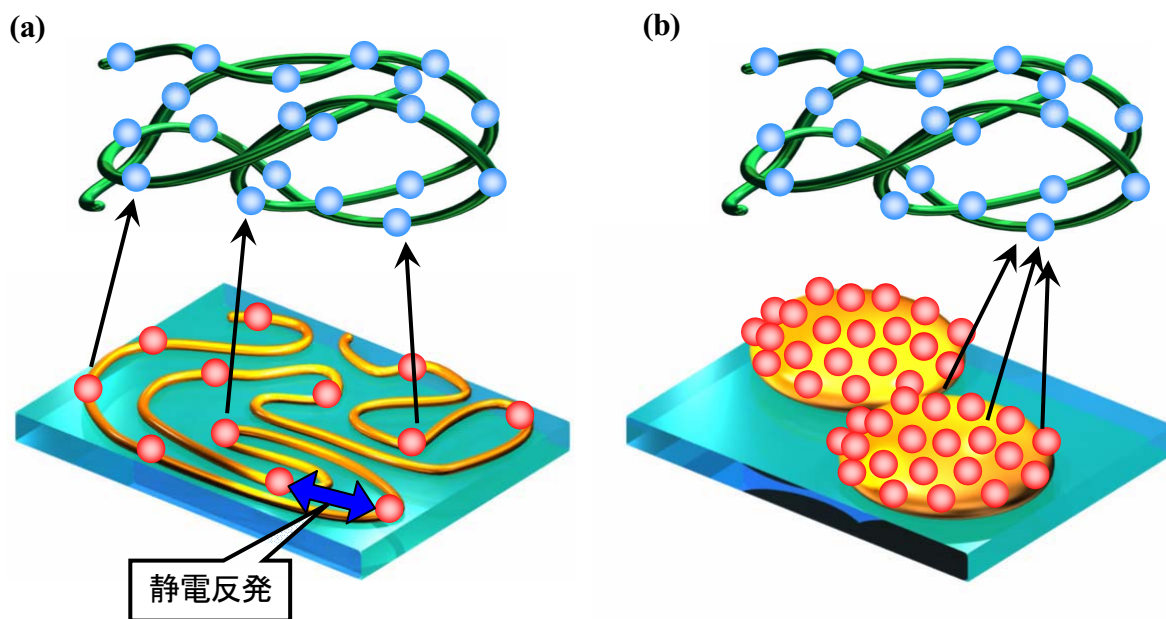
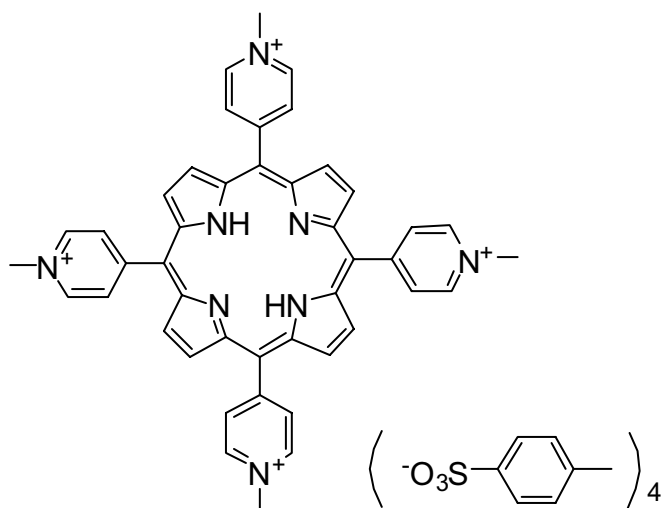


図 1-2. (a) 直鎖状ポリマーを固定相とする交互積層膜における膜間静電相互作用, (b) PAMAM デンドリマーを固定相とする交互積層膜における膜間静電相互作用.

スキーム 1-8



1

1-4. 本論文の構成

本論は4章から構成されている。概要を以下に列挙する。

第2章：PAMAM デンドリマー (G1-G4) を用いて、ITO 基板上への **1-ctDNA** 薄膜の固定化を行った。ITO 基板上の PAMAM デンドリマー、DNA、**1** の積層量を紫外 - 可視吸収スペクトル及び水晶発振子 (QCM) 測定により決定した。また、カチオン性の自己組織化単分子膜 (SAM) や直鎖状ポリマーであるポリアリルアミン塩酸塩 (PAH) を固定相とした場合についても **1-ctDNA** 薄膜の固定化を検討し、デンドリマーの系と積層量の違いを比較した。さらに、原子間力顕微鏡 (AFM) により、世代による ctDNA の表面形態の違いについても評価した。

第3章：第2章で調製した **1-ctDNA** 薄膜固定化 ITO 基板を用い、光電流測定を行った。そこで見出された、固定相に用いた PAMAM デンドリマーの世代による光電流の差 (= 正のデンドリマー効果) について、PAA を用いた **1-ctDNA** 薄膜固定化 ITO 基板の光電流測定との比較、および第2章で得られた各積層量と ctDNA 膜の表面形態から、原因を究明した。

第4章：本論文で得られた知見を総括し、その意義を述べると同時に、今後の展望について考察した。

1-5. 参考文献

- 1) E. Buhleier, W. Wehner, and F. Vögtle, *Synthesis*, 155 (1978).
- 2) D. A. Tomalia, H. Baker, J. Dewald, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, J. Roeck, J. Ryder, and P. Smith, *Polym. J.*, **17**, 117 (1985).
- 3) C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 7638 (1990).
- 4) 中島直敏 編著, 『超分子科学 ナノ材料創製に向けて』, 化学同人 (2004) .
- 5) A. Archut, G. C. Azzellini, V. Balzani, L. D. Cola, and F. Vögtle, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 12187 (1998).
- 6) G. Pistolis, A. Malliaris, D. Tsiourvas, and C. M. Paleos, *Chem. Eur. J.*, **5**, 1440 (1999).; Z. Sideratou, D. Tsiourvas, and C. M. Paleos, *Langmuir*, **16**, 1766 (2000).
- 7) A. W. Kleij, R. A. Gossage, R. J. M. K. Gebbink, N. Brinkmann, E. J. Reijerse, U. Kragl, M. Lutz, A. L. Spek, and G. van Koten, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 12112 (2000).; A. W. Kleij, R. A. Gossage, J. T. B. H. Jastrzebski, J. Boersma, and G. van Koten, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **39**, 176 (2000).; A. Dahan, and M. Portnoy, *Chem. Commun.*, 2700 (2002).; A. Dahan, and M. Portnoy, *Org. Lett.*, **5**, 1197 (2003).; M. D. Drake, F. V. Bright, and M. R. Detty, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 12558 (2003).; Y. Ribourdouille, G. D. Engel, M. Richard-Plouet, and L. H. Gade, *Chem. Commun.*, 1228 (2003).; E. Delort, T. Darbre, and J.-L. Reymond, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 15642 (2004).; B. Helms, and J. M. J. Fréchet, *Adv. Syn. Cat.*, **348**, 1125 (2006).
- 8) S. Svenson, D. A. Tomalia, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **57**, 2106 (2005).
- 9) C. Dufès, I. F. Uchegbu, A. G. Schätzlein, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **57**, 2177 (2005).
- 10) D.-L. Jiang, and T. Aida, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 10895 (1998).
- 11) M.-S. Choi, T. Aida, T. Yamazaki, I. Yamazaki, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 3194 (2001).; M.-S. Choi, T. Aida, T. Yamazaki, I. Yamazaki, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **8**, 2667 (2002).
- 12) K. Aoi, K. Itoh, and M. Okada, *Macromolecules*, **28**, 5391 (1995).; K. Aoi, K. Itoh, M. Okada, *Macromolecules*, **30**, 8072 (1997).; G. Pistolis, A. Malliaris, C. M. Paleos, and D. Tsiourvas, *Langmuir*, **13**, 5870 (1997).
- 13) 日本化学会 編, 『先端化学シリーズIII 糖鎖／バイオマテリアル／分子認識／バイオインフォマティクス』, 丸善株式会社 (2003) .
- 14) M. Beier, and J. D. Hoheisei, *Nucleic Acids Res.*, **27**, 1970 (1999).
- 15) A.-C. Chang, J. B. Gillespie, and M. B. Tobacco, *Anal. Chem.*, **73**, 467 (2001).
- 16) N. Zhu, Y. Gu, Z. Chang, P. He, Y. Fang, *Electroanalysis*, **18**, 2107 (2006).
- 17) Q.-Q. Chen, L. Lin, H.-M. Chen, S.-P. Yang, L.-Z. Yang, X.-B. Yu, *J. Photochem. Photobio. A: Chem.*, **180**, 69 (2005).
- 18) D.-L. Jiang, T. Aida, *Chem. Commun.*, 1523 (1996).
- 19) R. M. Crooks, M. Zhao, L. Sun, V. Chechik, and L. K. Yeung, *Acc. Chem. Res.*, **34**, 181 (2001).; O. M. Wilson, M. R. Knecht, J. C. Garcia-Martinez, and R. M. Crooks, *J. Am. Chem.*

- Soc.*, **128**, 4510 (2006).
- 20) K. Naka, Y. Tanaka, and Y. Chujo, *Langmuir*, **18**, 3655 (2002).
- 21) A. M. Kijak, J. C. Moller, J. A. Cox, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, **21**, 213 (2001).
- 22) C. Valério, J.-L. Fillaut, J. Ruiz, J. Guittard, J.-C. Blais, and D. Astruc, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 2588 (1997).
- 23) C. S. Love, A. R. Hirst, V. Chechik, D. K. Smith, I. Ashworth, and C. Brennan, *Langmuir*, **20**, 6580 (2004).; A. R. Hirst, and D. K. Smith, *Org. Biomol. Chem.*, **2**, 2965 (2004).
- 24) W. Chen, D. A. Tomalia, and J. L. Thomas, *Macromolecules*, **33**, 9169 (2000).
- 25) R. J. Fiel, J. C. Howard, E. H. Mark, and N. D. Gupta, *Nucleic Acids Res.*, **6**, 3093 (1979).; R. F. Pasternack, E. J. Gibbs, and J. J. Villafranca, *Biochemistry*, **22**, 2406 (1983).; J. M. Kelly, and M. J. Murphy, *Nucleic Acids Res.*, **13**, 167 (1985).; M. A. Sari, J. P. Battioni, D. Dupré, D. Mansuy, and J. B. Le Pecq, *Biochemistry*, **29**, 4205 (1990).

第2章 光電変換素子への利用を目的としたITO電極基板上へのTMPyP-DNA薄膜調製法の検討

2-1. 序

水溶性の直鎖状ポリマーを固定相とした、静電相互作用を利用した交互積層法による光電変換素子の調製方法について、これまでにいくつか報告がなされている¹⁾。交互積層法は、**図 2-1** に示したように、カチオン性高分子とアニオン性高分子の水溶液に交互に基板を浸漬・洗浄することを繰り返すだけで基板上に薄膜を形成させることができる。この交互積層法は、共有結合的に有機分子を基板上に固定化する手法に比べ、はるかに容易かつ迅速な手法である。しかし、光電変換素子において交互積層法を用いた場合、(i) 膜厚が厚くなることで電極 - 色素間の距離が遠くなり、電子移動が抑制されることや、(ii) 小サイズの色素分子は多点静電相互作用ができないため、基板から剥離しやすいことなどの問題点があった。これら二つの問題点の原因として、直鎖状ポリマーでは、静電反発により、電荷部位の集積化に限界があるためだと考えられる。これらの問題を解決するには、直鎖状ポリマーよりも高い密度で電荷部位が集積可能し、より多点で静電相互作用できる分子を固定相として用いることが最も有効な手段である。その化合物としては、デンドリマーが有力な候補として挙げられる。デンドリマーは中心から放射状に繰り返し単位が分岐した構造をしている。デンドリマーは分岐回数（世代）が増えるにつれて、末端官能基の密度が飛躍的に増加していくという特徴を有していることから、電荷部位の高密度集積化が期待できる。本研究では特に、末端にアミノ基を有するポリ（アミドアミン）デンドリマー（PAMAM デンドリマー）を固定相として用い、酸化インジウム - スズ (ITO) 基板上へカチオン性ポルフィリン (**1**) の固定化を試みた。また、これまで交互積層法に広く用いられてきたポリ（アリルアミン塩酸塩）(PAH) を固定相として用いた場合について、PAMAM デンドリマーを固定相とした場合との比較を行った。

一方で、PAMAM デンドリマーをはじめとするポリマー膜上に直接色素分子を固定化すると、色素分子同士の自己会合を起こすことが知られている²⁾。色素分子の自己会合は、光電変換素子への利用を考えた場合、光照射時に励起された色素同士が自己失活し、光電流の変換効率の低下を招くおそれがある。そのため、色素分子はポリマー膜上において、できるだけ個々が独立していることが望ましい。そこで本研究においては、均一水溶液中で **1** と強く相互作用することが知られている仔牛胸腺 DNA (ctDNA) を介して³⁾、ポリマー膜上でも **1** が孤立分散するように固定化することを試みた。**1** は ctDNA の疎水場である主溝や副溝にインターカレートすることが知られており、お互いに接触する確率を減少させ、光照射時の自己失活を抑制できると期待される。比較として、ポリ（ビニルスルホン酸ナトリウム）(PVS) を介することで、**1** を PAMAM デンドリマー上に固定化した系を調製し、ctDNA の効果について検討を行った。

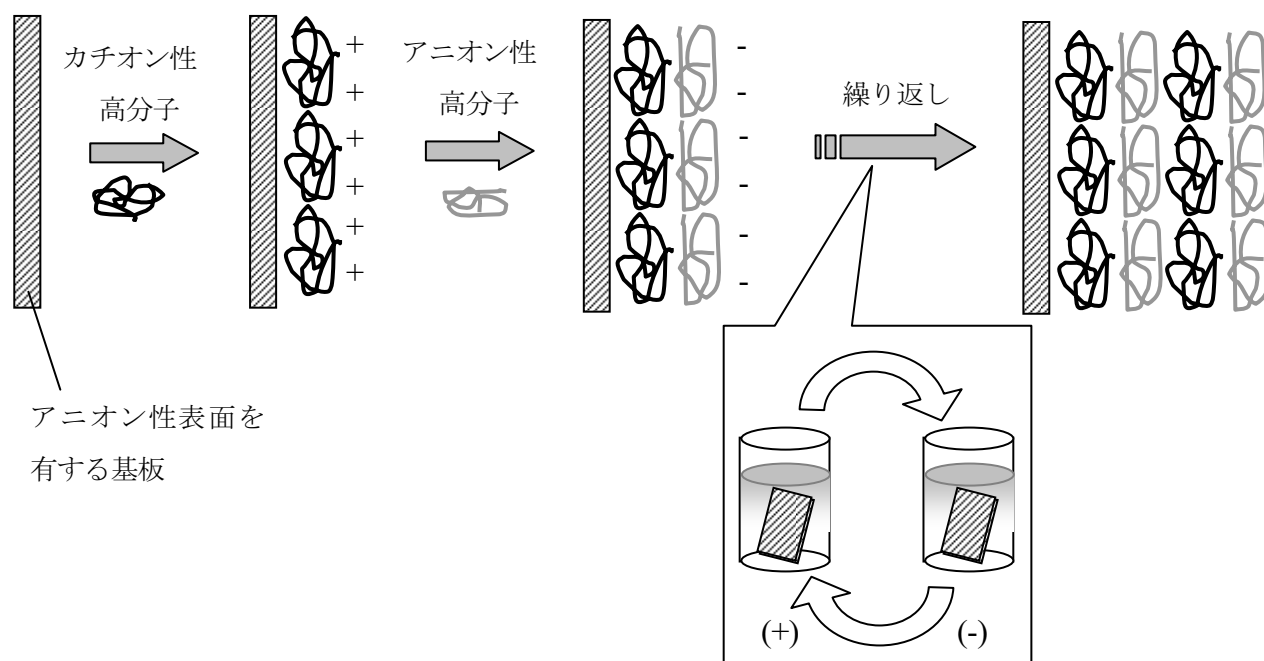
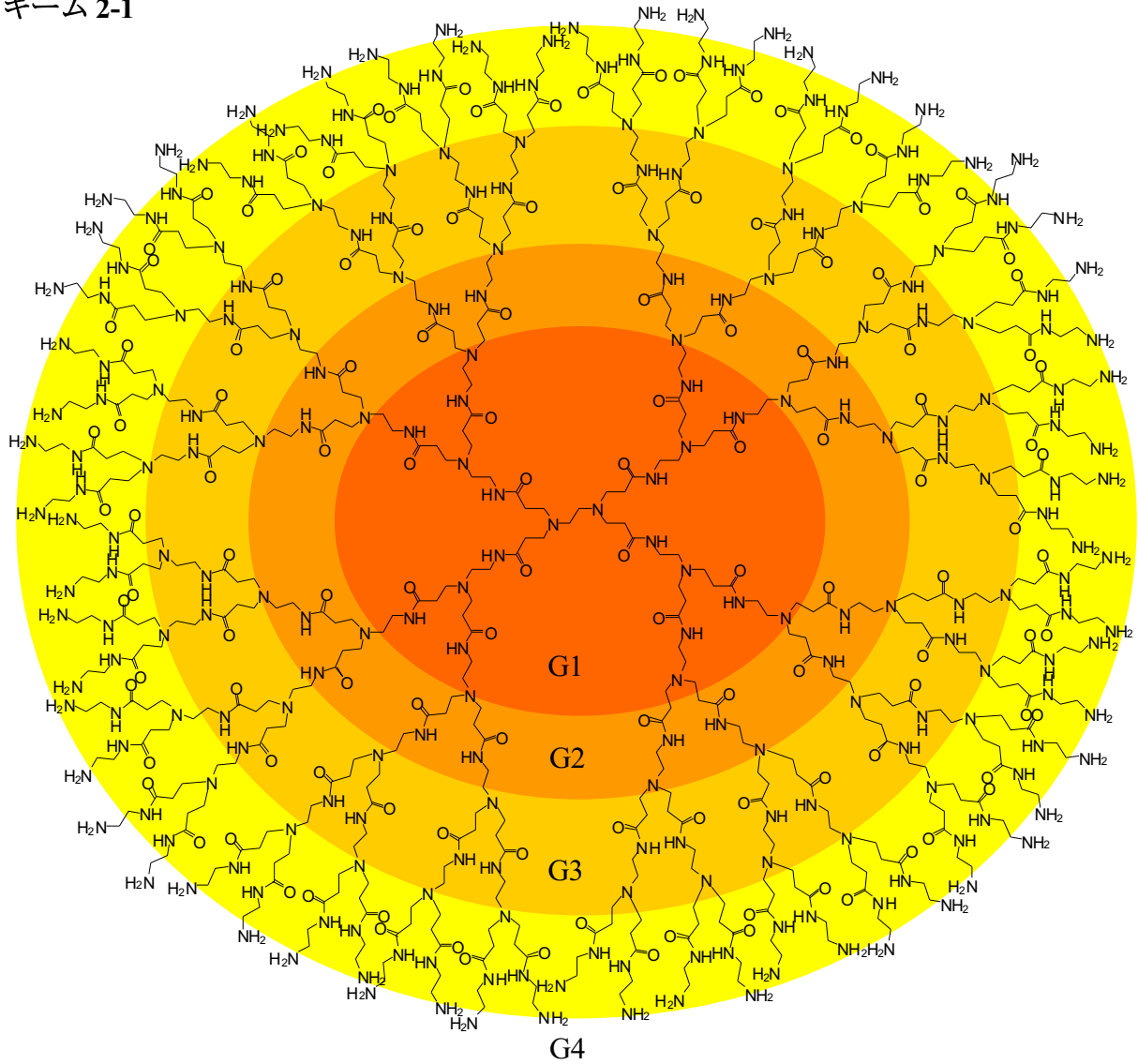
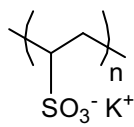


図 2-1. 交互積層法による多層膜調製の概念図.

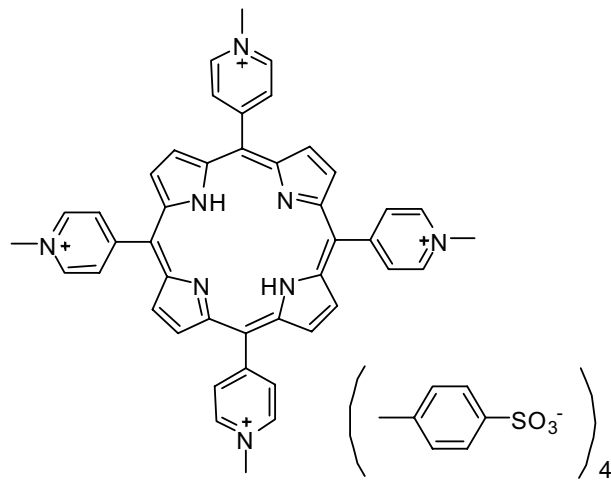
スキーム 2-1



ポリアミドアミン (PAMAM) デンドリマー



ポリ (ビニルスルホン酸)
カリウム塩 (PVS)



5, 10, 15, 20-テトラ (メチルピリジル) ポルフィリン
(1)

2-2. 実験

2-2-1. SAM を固定相とする 1-ctDNA 薄膜の調製

調製方法 1

a. ITO 基板上への SAM 形成

ITO 基板を 10 mM アミノプロパンチオール塩酸塩 (AET) (Sigma-Aldrich Chemical Co., Inc.) のエタノール溶液に浸漬した。35°C で 12 時間静置後、エタノールで洗浄し、窒素ガスで乾燥した。(AET/ITO)

b. ctDNA の ITO 基板上への固定化

a で調製した ITO 基板を 0.3 mM ctDNA (Sigma-Aldrich Chemical Co., Inc.) 水溶液 (リン酸緩衝液, pH 7.0) に浸漬した。室温で 15 分間静置後、イオン交換水で洗浄し、窒素ガスで乾燥した。(ctDNA/AET/ITO)

c. 1 の ITO 基板上への固定化

b で調製した ITO 基板を 1.0 mM の **1** [東京化成工業 (株)] 水溶液 (リン酸緩衝液, pH 7.0) に浸漬した。室温で 15 分間静置後、イオン交換水で洗浄し、窒素ガスで乾燥した。(1-ctDNA/AET/ITO)

2-2-2. PAMAM デンドリマーを固定相とする 1-ctDNA 薄膜の調製

a. ITO 基板上への SAM 形成

ITO 基板を 10 mM メルカプトプロピオン酸 [同仁化学研究所 (株)] のエタノール溶液に浸漬した。35°C で 12 時間静置後、エタノールで洗浄し、窒素ガスで乾燥した。

b. PAMAM デンドリマーの ITO 基板上への固定化

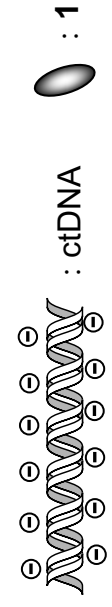
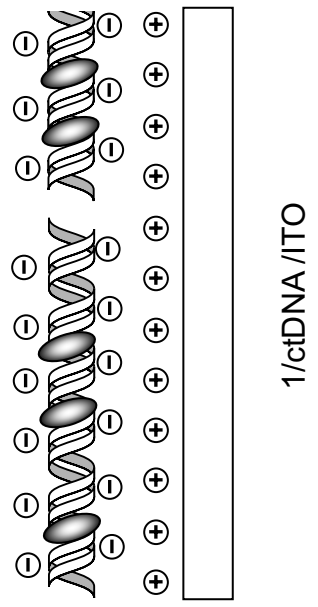
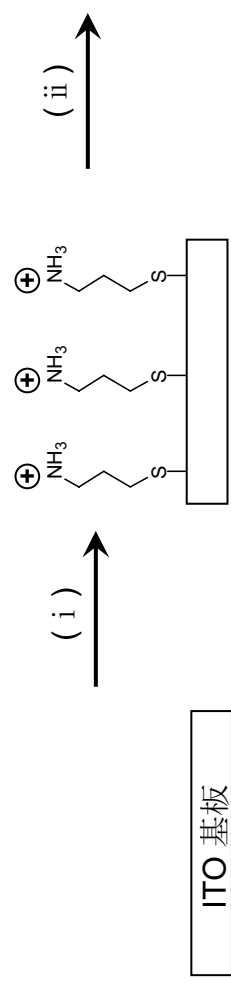
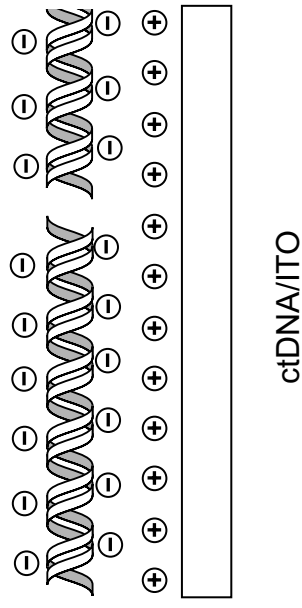
a で調製した ITO 基板を 1.0 mM PAMAM デンドリマー (Sigma-Aldrich Chemical Co., Inc.) 水溶液 (リン酸緩衝液, pH 7.0) に浸漬した。室温で 15 分間静置後、イオン交換水で洗浄し、窒素ガスで乾燥した。(PAMAM/ITO)

c. ctDNA の ITO 基板上への固定化

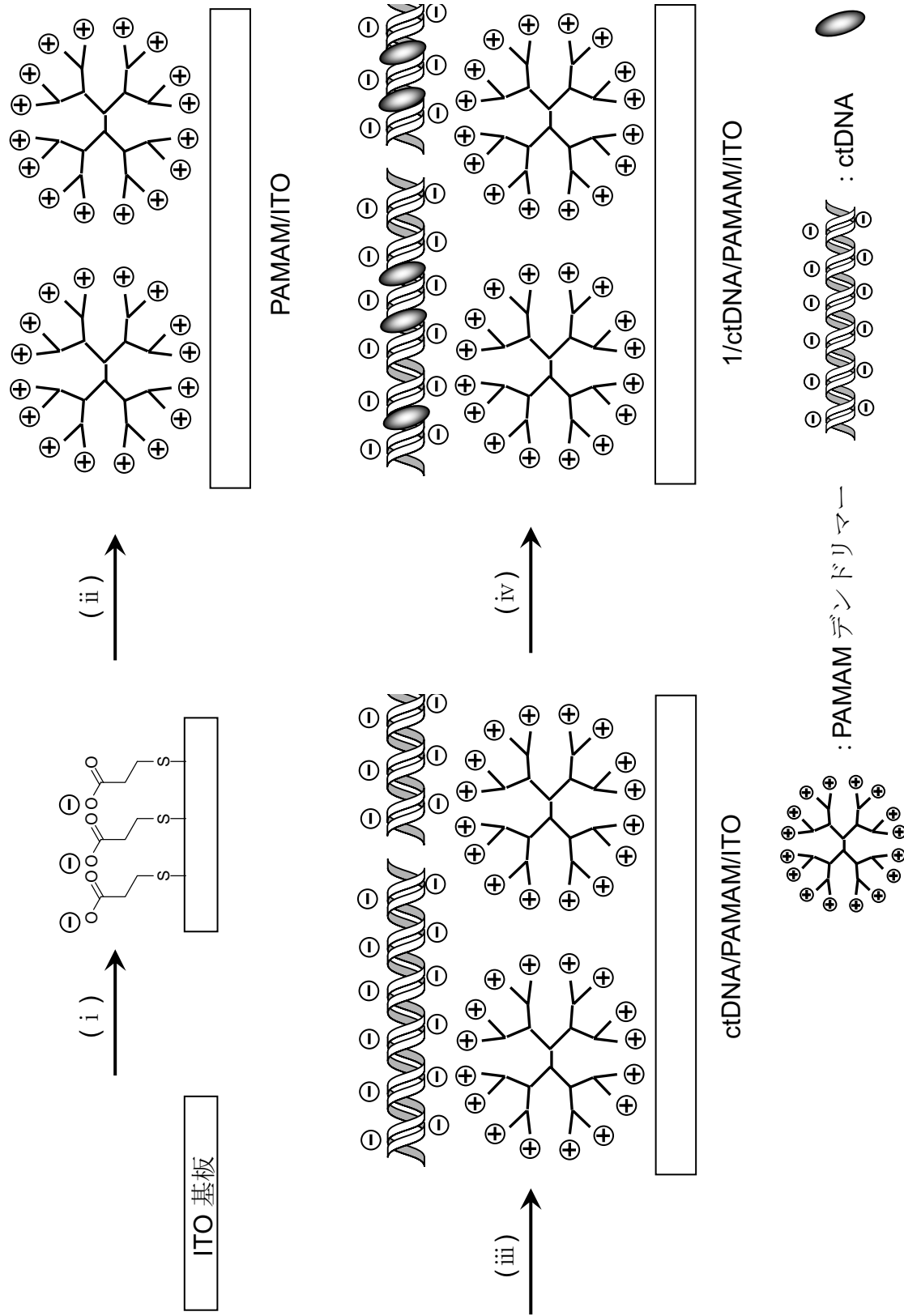
b で調製した ITO 基板を 0.3 mM ctDNA 水溶液 (リン酸緩衝液, pH 7.0) に浸漬した。室温で 15 分間静置後、イオン交換水で洗浄し、窒素ガスで乾燥した。(ctDNA/PAMAM/ITO)

d. 1 の ITO 基板上への固定化

c で調製した ITO 基板を 1.0 mM の **1** 水溶液 (リン酸緩衝液, pH 7.0) に浸漬した。室温で 15 分間静置後、イオン交換水で洗浄し、窒素ガスで乾燥した。(1-ctDNA/PAMAM/ITO)



スキーム 2-2. SAM を固定相とする 1-ctDNA 膜の調製 ; (i) アミノプロパンチオール塩酸塩 / エタノール (ii) ctDNA / リン酸緩衝液 (pH 7.0) (iii) 1 / リン酸緩衝液 (pH 7.0) .



スキーム 2-3. PAMAM デンドリマーを固定相とする 1-ctDNA 膜の調製; (i) メルカプトプロピオン酸 / エタノール (ii) PAMAM デンドリマー / リン酸緩衝液 (pH 7.0) (iii) ctDNA / リン酸緩衝液 (pH 7.0) (iv) 1 / リン酸緩衝液 (pH 7.0) .

2-2-3. 紫外 - 可視吸収スペクトル測定による DNA 薄膜の評価

前項で調製した基板における ctDNA 膜の物理状態を評価するために、膜を固定化した基板の紫外 - 可視吸収スペクトル（紫外可視分光光度計 UV-2550, 島津製作所）を測定した。しかし、ITO 基板は 400 nm 以下の波長において強い散乱を有するため、260 nm に存在する ctDNA の吸収を覆い隠し、その吸収帯を確認することができなかった。そこで、**1** のソーレー帯の特徴的な吸収から、膜の状態について評価した。**1** は非常に大きなモル吸光係数を有するので、散乱の影響が懸念される固体サンプルにおいても明確な吸収を確認することが出来る。紫外 - 可視吸収スペクトル測定に際して、**1** 固定化前の吸収を **1** 固定化後の吸収から差し引くことで、より正確なスペクトルを算出した。

2-2-4. 水晶発振子（Quartz Crystal Microbalance ; QCM）測定による各層の表面被覆量の定量

紫外 - 可視吸収スペクトルでは測定できなかった ctDNA 及び固定相の吸着量を、QCM 測定によって定量した。QCM 測定は、水晶の圧電効果を利用した測定手法である。QCM 基板の上に固定化された膜の重量は、水晶の振動数変化として観測される。得られた振動数変化から、QCM 基板表面に固定化された分子のモル数を算出した。本章における QCM 測定は、水晶基板の両面に金基板がコートされた電極基板（USI systems）を用いた。電極基板の共振周波数は 9 MHz（AT-cut 型）であり、電極面積は $0.16 \pm 0.01 \text{ cm}^2$ である。検出器は手製のものを用い、1.1 Hz の振動数の減少が 1.0 ng の重量変化となるように規格化されている（**2.1**）。周波数検出にはオシロスコープ（ユニバーサルカウンター SC-7205, IWATSU）を用いた。

$$\Delta F = \frac{-2F_0^2}{A\sqrt{\rho_q\mu_q}} \Delta m = -1.1\Delta m \quad (2.1)$$

（ ΔF : 振動数変化量 / Hz, F_0 : 基本振動数 / Hz, ρ_q : 水晶の密度 / g cm^{-3} , μ_q : 水晶のざりせん断係数 / dyn cm^{-2} , A : 電極面積）

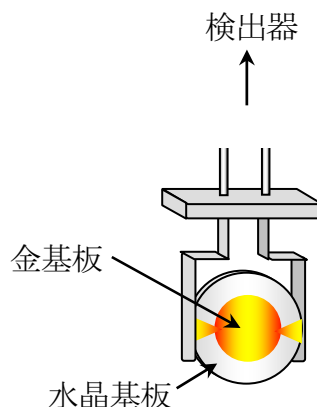


図 2-2. QCM 測定に使用した電極基板。

2-2-5. 原子間力顕微鏡 (AFM) による基板の表面状態の形態学的評価

紫外 - 可視吸収スペクトルで得られた 1 の吸着量には、DNA 膜の吸着量のみならず、その表面形態が影響しているものと考えられる。そこで、マイカ基板上に固定化した ctDNA 膜について AFM (SPI-3800N System, セイコーインスツルメンツ) 観察によって形態学的な評価を行った。マイカ基板は表面がアニオン性であるため SAM は用いず、固定相を直接固定化した後に、ctDNA 膜を固定化した。AFM 観察は、大気中において DFM モードを使用した。

2-3. 結果と考察

2-3-1. PAMAM デンドリマーの表面吸着量についての評価

まず、一層目である PAMAM デンドリマーの積層量を決定した。PAMAM デンドリマーについて、測定範囲内においては特徴的な紫外 - 可視吸収スペクトルを持たないため、膜の吸着量を定量することができる水晶発振子 (QCM) 測定を行った。

図 2-3 (黒丸) および表 2-1 に示したように、PAMAM デンドリマーの QCM 基板に対する表面吸着量 (mol cm^{-2}) は、世代が増加するにつれて減少していくことが示された。PAMAM デンドリマーの世代が増すごとにその分子直径 (d / nm) は増加していき (表 2-1)、さらに、基板上における PAMAM デンドリマーの構造は球形ではなく、押しつぶされて横方向へと広がった構造をしていることが過去の研究で明らかにされている (図 2-5)⁴⁾。このことから、実際の基板における PAMAM デンドリマーの基板上における分子直径は、表 2-1 に示した値よりも大きくなっていると予測される。

QCM 測定から得られた PAMAM デンドリマーの表面吸着量 (mol cm^{-2}) をもとに、基板上における PAMAM デンドリマーの末端アミンの密度 ($\Gamma_c / \text{mol cm}^{-2}$) を算出した [図 2-3, 白四角及び表 2-1]。その結果、G1 から G4 の範囲において、表面電荷密度は世代と共に増加していく傾向が確認された (図 2-4)。前項でも述べたように、末端アミンは中性条件下においてほぼ 100% がプロトン化されており、カチオン性を帯びている。従って、図 2-5 に示した末端アミンの密度は、QCM 基板表面の電荷密度に等しいと考えられる。表 2-1 に示したように、PAMAM デンドリマーの表面吸着量 ($\Gamma / \text{mol cm}^{-2}$) が、G4 ($3.00 \times 10^{-12} \text{ mol cm}^{-2}$) は G1 ($7.23 \times 10^{-12} \text{ mol cm}^{-2}$) の約 0.4 倍であるのに対し、表面カチオン密度 Γ_c は、G4 ($3.78 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$) は G1 ($1.01 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$) の約 3.7 倍にまで達している。このような表面電荷密度の飛躍的な増大は、末端アミノ基の数が分岐回数増加によって指数関数的に増加していること (表 2-1) に起因している。

以上のことから、基板上における PAMAM デンドリマーの構造は、これまでの研究と同様に押しつぶされたように薄く広がった構造をしていると考えられ、世代の増加と共に表面吸着量 ($\Gamma / \text{mol cm}^{-2}$) は減少していくのに対し、その表面電荷密度 ($\Gamma_c / \text{mol cm}^{-2}$) は増加していくということが明らかになった。

表 2-1. PAMAM デンドリマーの各世代におけるサイズ及び表面吸着量.

世代	$d / \text{nm}^5)$	末端アミンの数	$\Gamma / \times 10^{-12} \text{ mol cm}^{-2}$	$\Gamma_c / \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$
G1	1.9	8	7.23 ± 1.32	0.58 ± 0.11
G2	2.6	16	6.04 ± 0.72	0.97 ± 0.12
G3	3.6	32	4.15 ± 1.01	1.33 ± 0.32
G4	4.5	64	3.00 ± 0.64	1.92 ± 0.41

[d = 文献より引用した PAMAM デンドリマーの分子直径, Γ = PAMAM デンドリマーの表面吸着量, Γ_c = PAMAM デンドリマーの表面カチオン密度 (= $\Gamma \times$ PAMAM デンドリマーの表面アミンの数)]

PAMAM デンドリマーは、基板上で押しつぶされて横方向に広がった形態をしていることは既に述べた。このことから、PAMAM デンドリマー一分子が完全に平面であると仮定し、その一分子辺りの分子占有面積を求めた。

PAMAM デンドリマーの構成単位であるアミドアミン部位の安定化構造を、分子力場計算 (MM2, Chem3D[®]) によってモデリングした (図 2-6)。このモデルから、理論上の分子鎖長が 8.6 Å であることが示された。また、中心のエチレンジアミンコアの分子鎖長は同様の理論計算から、3.8 Å であると求められた。よって、G1 において最も遠い末端アミン同士の距離は、

$$8.6 \times 4 + 3.8 \doteq 38 \text{ \AA} (= 3.8 \text{ nm})$$

と計算できる。この値を分子直径とし、分子占有面積を計算すると、

$$1.9 \times 1.9 \times \pi \doteq 11.3 \text{ nm}^2$$

となる。

一方、PAMAM デンドリマーの基板上における分子間距離を、QCM 測定から明らかになった表面吸着量より計算した。

G1 の表面吸着量は $7.23 \times 10^{-12} \text{ mol cm}^{-2}$ (= $4.35 \times 10^{12} \text{ molecules cm}^{-2}$) であるので、分子が全て正方晶のように配列されているとすれば、単位面積あたりの一辺 (1 cm) に並んでいる分子数は、

$$\sqrt{4.35 \times 10^{12}} = 2.09 \times 10^6 \text{ molecules}$$

であるので、分子間の距離は

$$1 \times 10^{-2} / 2.09 \times 10^6 \doteq 4.0 \text{ nm}$$

となる。

同様にして G4 についても計算し、表 2-2 にそれらの値を示した。

表 2-2. 理論計算によって算出した G1 および G4 の分子占有面積と基板上における分子間距離。

	分子占有面積 / nm ²	分子間距離 / nm
G1	11.3	4.0
G4	63.3 × 10 ²	7.0

これらの値から、分子間距離は G4 の方が G1 に比べて遠いが、その一分子辺りが占める面積は著しく大きいことが示された。PAMAM デンドリマーの表面電荷密度は高い世代になるほど増加することから、G4 は G1 に比べて電荷密度の高い場を基板上で広範囲にわたって提供できるということが示唆された。

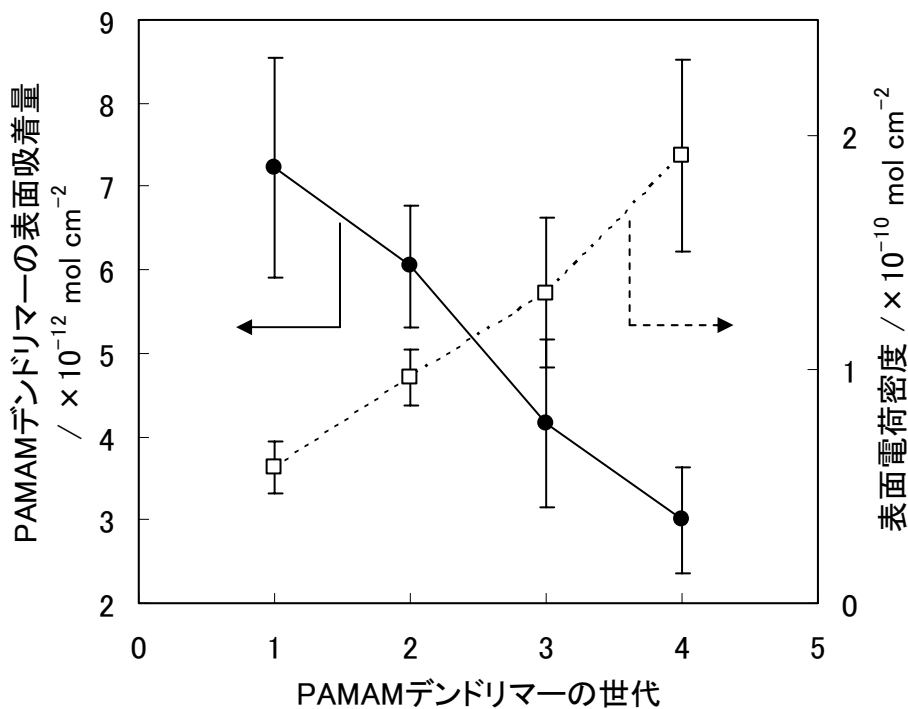
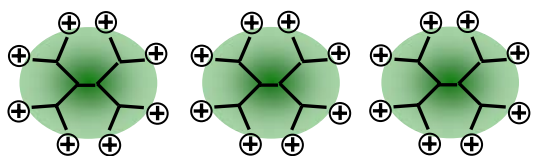


図 2-3. QCM 測定から算出した PAMAM デンドリマーの表面吸着量とアミン部位の表面電荷密度.

(a) デンドリマーの吸着量 = 大,
表面電荷密度 = 小



QCM 基板

(b) デンドリマーの吸着量 = 小,
表面電荷密度 = 大

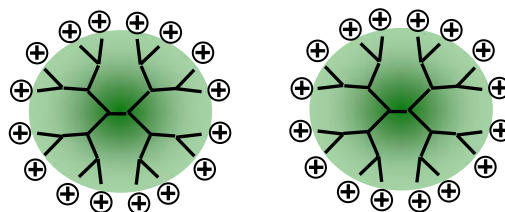


図 2-4. QCM 測定結果から推測される PAMAM デンドリマーの表面形態と表面電荷密度 ; (a) 低世代 PAMAM デンドリマー, (b) 高世代 PAMAM デンドリマー.

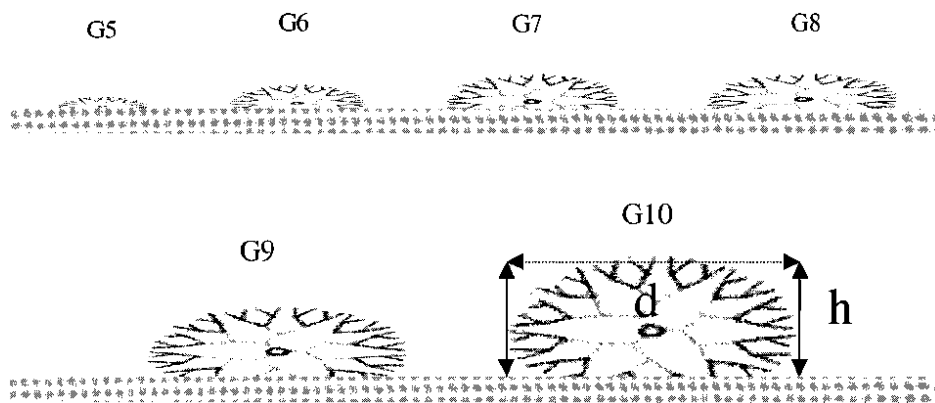


図 2-5. 基板上における PAMAM デンドリマーの構造⁴⁾.

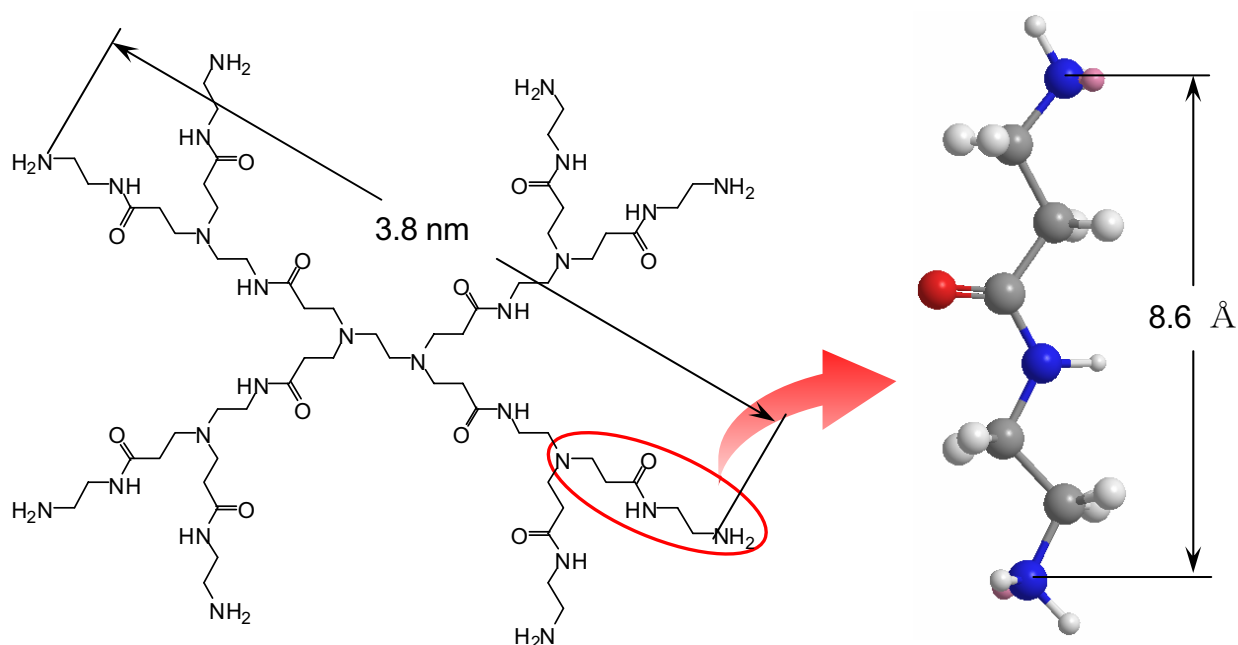


図 2-6. PAMAM デンドリマー (G1) の構造と構成単位であるアミドアミン部位の分子鎖長.

2-3-2. PAMAM デンドリマーを固定相とする ctDNA の表面吸着量についての評価

次に、2層目の ctDNA の積層量を決定した。紫外 - 可視吸収スペクトル測定において、ITO 基板は 400 nm 以下に著しい散乱を有するため、ctDNA の 260 nm に観測される特徴的な極大吸収を確認することができない。そこで、PAMAM デンドリマーを固定相として ctDNA の固定化した膜について、前項と同様に QCM 測定で表面吸着量を定量した。

前項で述べたように、QCM 測定において、固定相である PAMAM デンドリマーの表面電荷密度は世代と共に増加することが分かった。その増加に従って、ctDNA の表面吸着量 ($\Gamma_{ctDNA} / \text{mol cm}^{-2}$) も増加した。得られた ctDNA の表面吸着量からリン酸基を単位として算出したところ、**図 2-7** に示したような結果が得られた。固定相に用いた PAMAM デンドリマーの世代の増加に伴って、ctDNA のリン酸基の表面吸着量も増加した。また、**表 2-3** に示したように、固定相として用いた PAMAM デンドリマーの表面カチオン密度と ctDNA の表面アニオン密度の比 r は、1.6~2.1 であった。PAMAM デンドリマー中の全てのカチオン性部位が ctDNA との相互作用に参与しているわけではなく、一部は基板に対する吸着に使われているため、実際の r 値はここで示した値より大きいと考えられる。リン酸基が過剰となるのは、DNA の二重鎖に沿ってリン酸基が立体的に配置されているため、全てのリン酸基が PAMAM デンドリマーのカチオン性部位と相互作用できないことが原因であると考えられる。

表 2-3. PAMAM デンドリマー及び ctDNA の表面吸着量と電荷密度比。

世代	PAMAM デンドリマー		ctDNA のリン酸基	r
	Γ_{PAMAM} / $\times 10^{-12} \text{ mol cm}^{-2}$	Γ_c / $\times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$	Γ_{ctDNA} / $\times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$	
G1	7.23 ± 1.32	0.58 ± 0.11	1.03 ± 0.10	1.8
G2	6.04 ± 0.72	0.97 ± 0.12	1.99 ± 0.07	2.1
G3	4.15 ± 1.01	1.33 ± 0.32	2.75 ± 0.19	2.1
G4	3.00 ± 0.64	1.92 ± 0.41	3.09 ± 0.14	1.6

[Γ_{PAMAM} = PAMAM デンドリマーの表面吸着量, Γ_c = PAMAM デンドリマーの表面カチオン密度 (= $\Gamma \times$ PAMAM デンドリマーの表面アミンの数), Γ_{ctDNA} = ctDNA の表面アニオン密度 (= リン酸基密度), $r = \Gamma_{ctDNA} / \Gamma_c$]

固定相である PAMAM デンドリマーの世代が増加するほど、分子間距離が大きくなることは、既に **2-3-1** で示した。すなわち、DNA が相互作用しない領域は G1 に比べて G4 の方が大きいと予想される。しかし、一方で分子占有面積は G4 の方が G1 に対して非常に大きい。すなわち、結果的に DNA に対して相互作用できる部位が非常に多く、より多点で DNA と静電相互作用できるということがこれらの結果から示された。

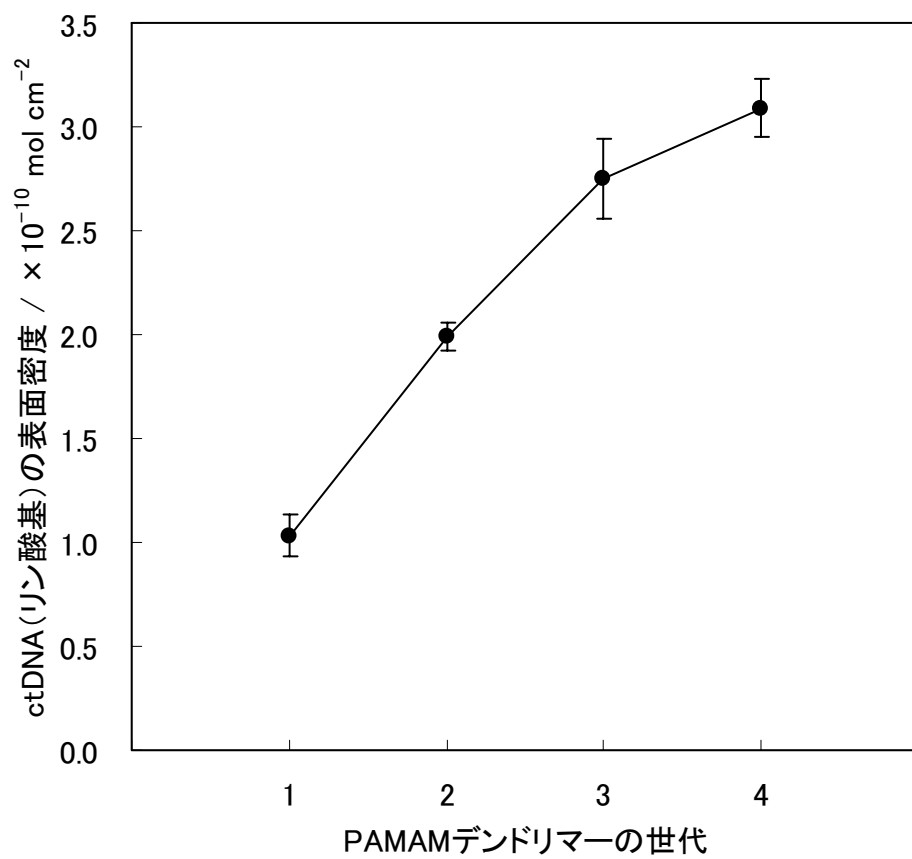


図 2-7. QCM 測定から算出した ctDNA の表面吸着量 (リン酸基密度) .

2-3-3. PAMAM デンドリマーを固定相とする 1-ctDNA 薄膜調製についての評価

最後に、**1** の積層量を決定した。PAMAM デンドリマーを固定相とした 1-ctDNA 膜修飾 ITO 基板について、紫外 - 可視吸収スペクトル測定を用いて検討を行った。

固定相に用いる PAMAM デンドリマーの世代を第 1 世代から第 4 世代 (G1~G4) まで変えて 1-ctDNA を固定化した。その結果、どの基板についても、**1** のソーレー帯 (436nm) に由来する吸収が明確に観測された。水溶液中における **1** のソーレー帯の極大吸収波長は 422 nm であるため、1-ctDNA 膜中において観測された極大吸収波長は約 436nm は、14 nm 長波長シフトが観測された。これまでに、水溶液中で DNA と **1** が相互作用した場合、淡色効果を伴う長波長シフトが確認されている [図 2-8(a)]^{6)・7)}。この **1** と ctDNA の相互作用について、均一水溶液中では図 2-9 のように錯化することが、円偏光二色性 (CD) スペクトル測定で観測される **1** の誘起 CD の詳細な検討によって明らかにされている⁸⁾。その錯形成状態は、塩基対間にインターカレートするものと、AT 部位の副溝に結合するものの 2 種類が存在する。GC 部位および AT 部位への結合の比率は、イオン強度によって変化することも別の研究において示されている (表 2-4)⁹⁾。また、ctDNA とポリ(アリルアミン)を多層に交互積層させた基板上において、ポルフィリンを作用させた研究が、Lang らによって報告されている¹⁰⁾。その報告によると、紫外 - 可視吸収スペクトル測定において、438 nm に **1** の極大吸収波長が観測され、また CD スペクトルにおいて誘起 CD が **1** の吸収帯付近に観測されている [図 2-8(b), (c)]。つまり、基板上においても ctDNA に対して **1** がインターカレートしていることが示されている。本研究で得られた **1** の基板上における極大吸収波長は 436 nm であり、Lang らの結果とほぼ一致している。このことから、ctDNA に **1** がインターカレートしていることが示唆された。

ここで、固定相である PAMAM デンドリマーに相互作用した ctDNA に対して、**1** が錯化する余地が本当にあるのかどうか懸念される所である。確かに、DNA と PAMAM デンドリマーが相互作用した場合、PAMAM デンドリマーによってある程度 ctDNA 表面が覆われることになると考えられる。しかし、PAMAM デンドリマーによって基板上で完全に DNA 表面が覆われるわけではない。実際、PAMAM デンドリマー (G6) と DNA が錯化した環境下においても、Hoechst33258 のようなインターカレーターが DNA 中にインターカレートし、蛍光を発することが報告されている¹¹⁾。このことから、PAMAM デンドリマーで固定化された基板上の ctDNA に対しても、十分に色素がインターカレートする余地があることが支持された。

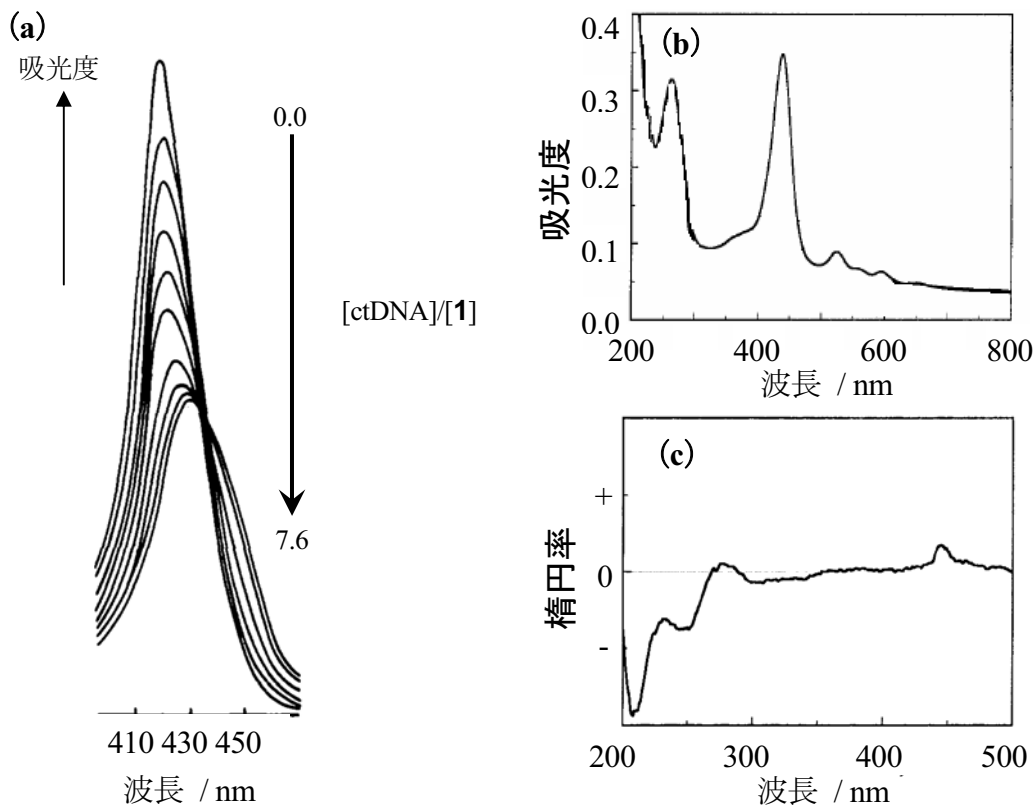


図 2-8. (a) 水溶液中における 1-ctDNA の紫外 - 可視吸収スペクトル⁶⁾, (b) DNA-PAH 多層膜中におけるポルフィリンの紫外-可視吸収スペクトル, (c) DNA-PAH 多層膜中におけるポルフィリンの円偏光二色性スペクトル⁸⁾.

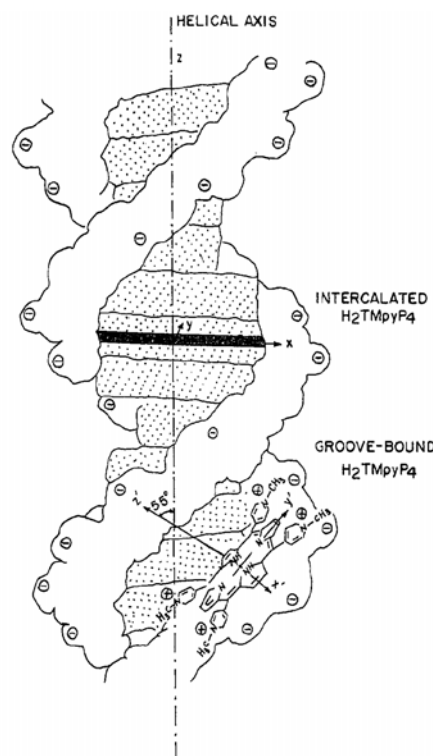


図 2-9. ポルフィリンの DNA に対する結合様式⁸⁾.

表 2-4. 水溶液中におけるイオン強度と **1** の ctDNA に対する結合サイトの变化¹⁰⁾.

イオン強度 /M	GC 部位への結合割合 / %		AT 部位への 結合割合 / %	非結合 / %
	紫外-可視吸収 スペクトル	CD スペクトル		
0.0040	82	86	13	5
0.012	78	79	16	6
0.052	71	68	24	5
0.2	60	43	31	10
0.5	46	32	26	28
1.0	23	22	38	38
2.0	12	14	39	50

さらに、均一水溶液中における **1**-ctDNA の相互作用の検討において、ctDNA に対する **1** の濃度比によって錯形成状態が変化し、それに伴ってソーレー帯の吸収波長も変化することが知られている。これに対して、今回の結果において、ソーレー帯はどの世代の PAMAM デンドリマーを固定相に用いた場合も、ほぼ同じの極大吸収波長を示していることから、**1** の錯形成状態について、各世代において差異がないものと判断される。つまり、**1** の微視的環境は各世代でほぼ同じであることが示された。また、図 2-10 に示したように、デンドリマーの世代の増加に伴って **1** の吸光度が増加した。436 nm における吸光度から **1** の表面吸着量を算出してプロットしたところ ($\epsilon_{436\text{nm}} = 7.34 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)¹²⁾、図 2-10 の挿入図に示したように、PAMAM デンドリマーの世代と共に増加していることが分かった。2-3-2 で明らかにした ctDNA の表面吸着量と共に、**1** の吸着量を表 2-5 に示した。ctDNA と **1** の表面吸着量の比 $R (= \Gamma_1 / \Gamma_{ctDNA})$ を求めると、G1 から G4 までわずかに減少しているが、どの値も 0.1 前後となっており、ctDNA の 5 塩基対ごとに **1** が 1 分子錯化していることが示された。

表 2-5. 紫外 - 可視吸収スペクトルから求めた **1** の表面吸着量.

世代	436 nm の吸光度 / $\times 10^{-2}$	Γ_1 / $\times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$	Γ_{ctDNA} / $\times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$	R
G1	1.03	1.40	1.03 ± 0.10	0.14
G2	1.36	1.85	1.99 ± 0.07	0.09
G3	1.66	2.26	2.75 ± 0.19	0.08
G4	1.91	2.60	3.09 ± 0.14	0.08

[$\Gamma_1 = \mathbf{1}$ の表面吸着量, $\Gamma_{ctDNA} = \text{ctDNA}$ の表面アニオン密度 (= リン酸基密度), $R = \Gamma_1 / \Gamma_{ctDNA}$]

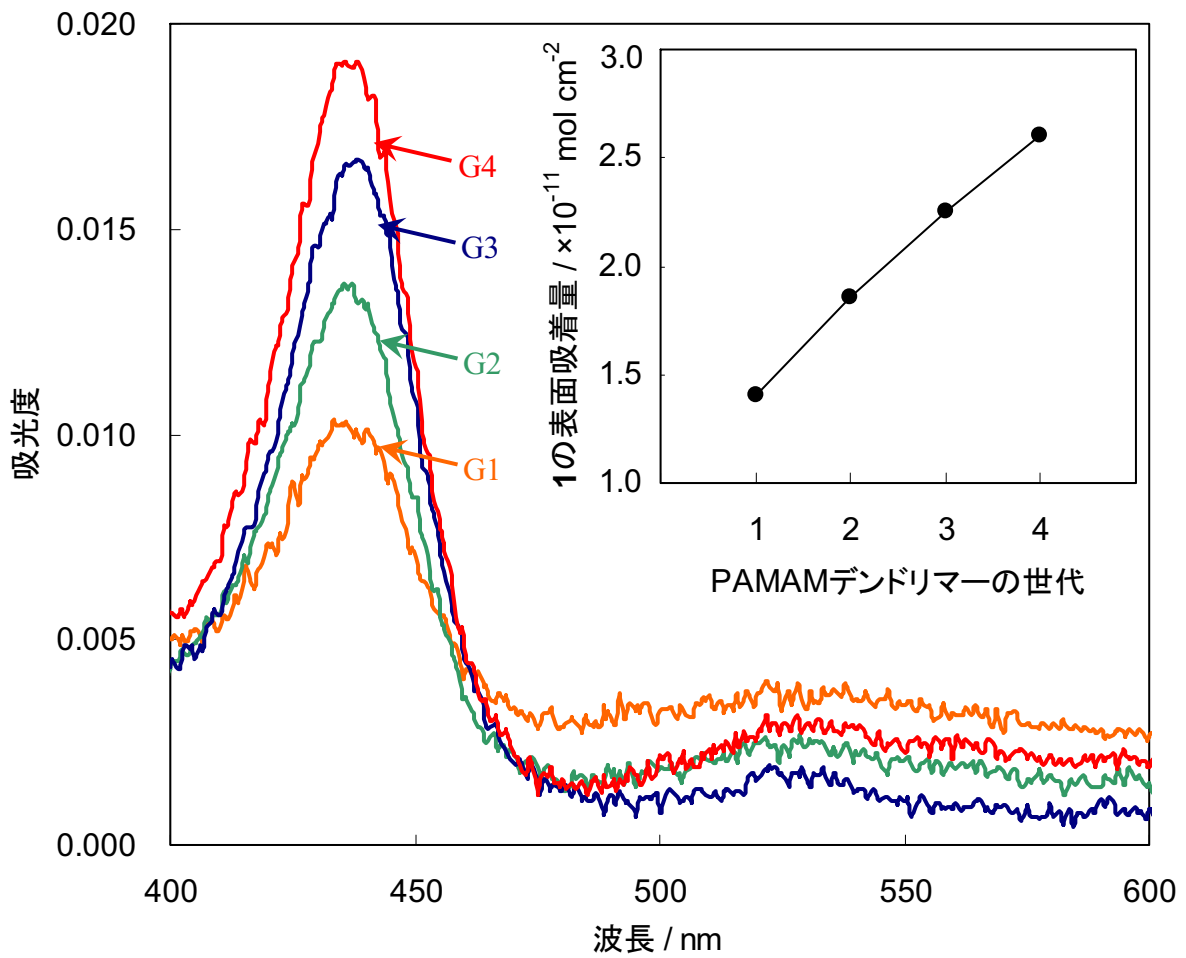


図 2-10. PAMAM デンドリマーを固定相とする ITO 基板上の 1-ctDNA 膜の紫外 - 可視吸収スペクトル (挿入図 ; 436 nm の吸光度から算出したそれぞれの基板における 1 の表面吸着量) .

2-3-4. SAM を固定相とする 1-ctDNA 薄膜調製についての評価

デンドリマーを固定相として用いる優位性を示すためカチオン性の SAM を直接固定相として用いた系について検討した。カチオン性のアミノエタンチオール塩酸塩 (AET) による SAM を固定相とした 1-ctDNA 膜 (1-ctDNA/AET/ITO) について、紫外 - 可視吸収スペクトルにより積層量を算出した。1 固定化前後の紫外 - 可視吸収スペクトルを測定し、得られたスペクトルから 1 由来の吸収を算出した。その結果、図 2-11 に示したように PAMAM デンドリマー (G4) を固定相とした系 (1-ctDNA/G4/ITO) に比べて吸光度が低く、ソーレー帯の吸収ピークがなだらかであることが示された。これらの吸光度から 1 の積層量を算出すると、1-ctDNA/AET/ITO では $1.70 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$ となり、1-ctDNA/G4/ITO の値 ($2.60 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$) の 0.65 倍程度でしかないことが明らかとなった。この原因は以下のように考えられる。SAM は、AET 分子が密にパッキングして構成された、非常に平面性の高い薄膜である。ITO 基板表面は数十 nm オーダーの凹凸が存在するが、基板表面における微小領域を考えた場合、表面電荷は二次元的に広がっていると捉えられる。その一方で ctDNA のアニオン性部位であるリン酸基は、DNA 鎖の二重らせんに沿って立体的に配置されているため、立体的な自由度が少なく平面的である SAM のカチオン性部位はごく一部しか相互作用できない。つまり、ctDNA に対する相互作用点が PAMAM デンドリマーに比べて少ないために、ITO 基板表面に安定に固定化できないと考えられる (図 2-12)。よって、SAM を固定相とした場合よりも PAMAM デンドリマーを固定相とした場合のほうが、1-ctDNA 膜を固定化するのに適していると結論付けられた。

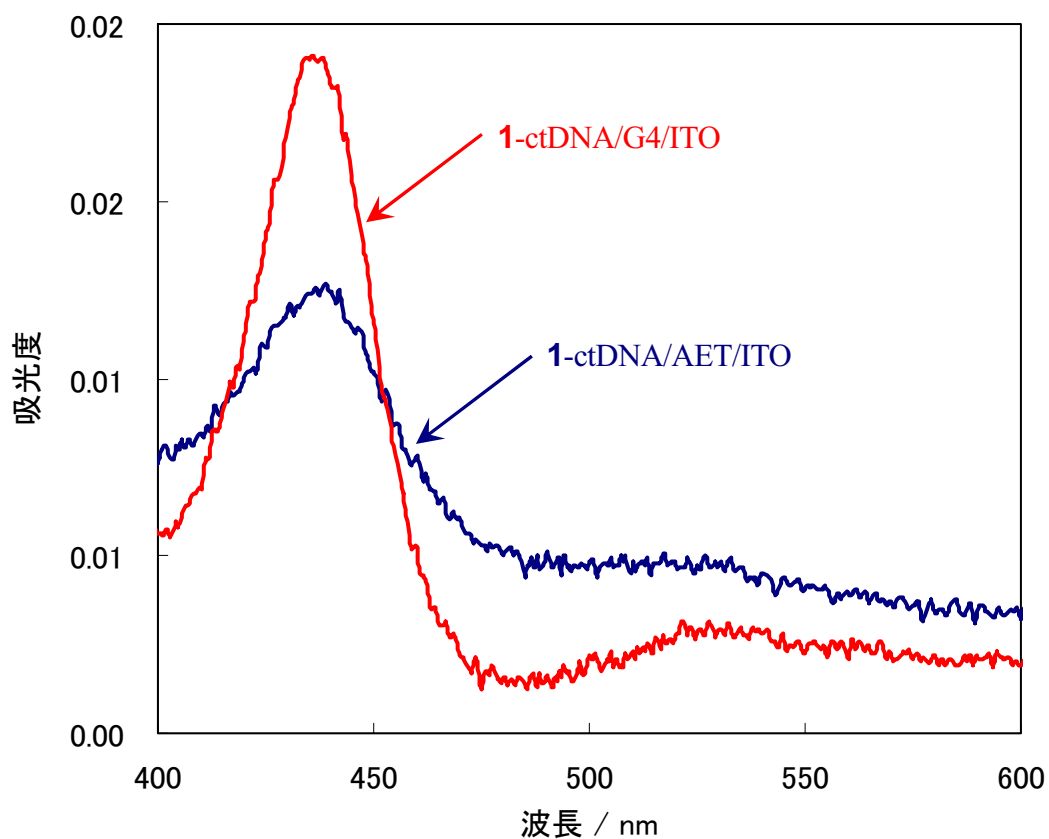


図 2-11. G4 を固定相とした系と AET を固定相とした系における 1-ctDNA 膜の紫外 - 可視吸収スペクトル.

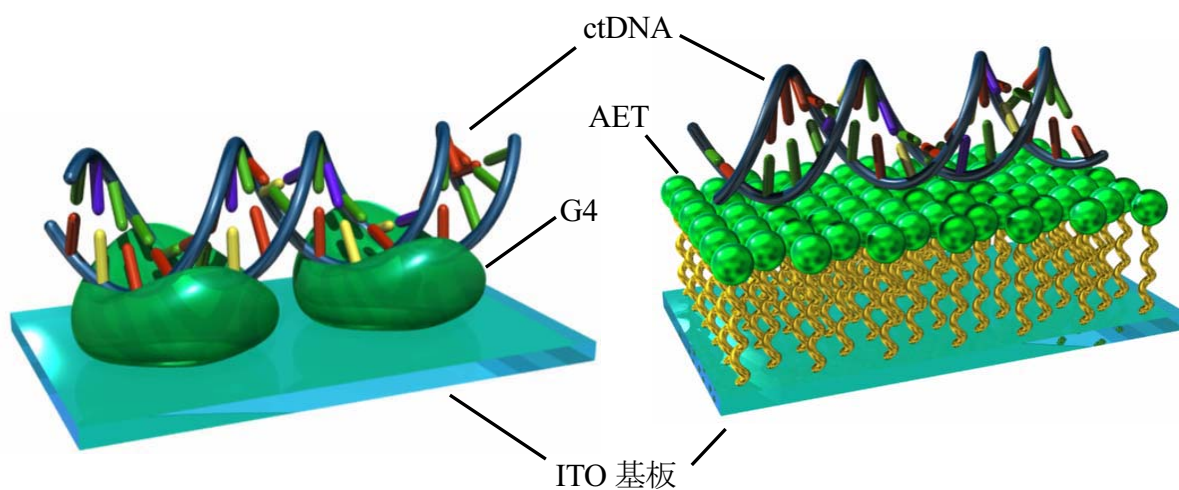


図 2-12. ITO 基板上における AET-ctDNA 間及び G4-ctDNA 間の相互作用形態.

2-3-5. アニオン性ポリマー上における **1** の微視的状态の評価

DNA に **1** をインターカレートさせることの重要性について議論するため、ctDNA ではなく直鎖状のアニオン性ポリマーである PVS を用いた系を調製した。PVS は、これまでに交互積層法における色素の固定相として用いられてきた¹³⁾。紫外 - 可視吸収スペクトルを測定した結果、**図 2-13** に示したように、**1** 由来のソーレー帯のピークが 424 nm 前後に確認された。その吸光度から積層量を算出すると ($\epsilon_{425\text{ nm}} = 2.26 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)¹⁴⁾、 $1.22 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$ という値が得られ、**1**-ctDNA/G4/ITO の値 ($2.60 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$) と比べて約 4.7 倍大きいことが明らかとなった。さらに、**1**-ctDNA/G4 の紫外 - 可視吸収スペクトルと比較すると、**1**-PVS/G4/ITO におけるソーレー帯は非常にブロードであった。この比較から、PVS 上において **1** は自己会合を起こしているが、ctDNA 上ではある程度孤立化していることが示された (**図 2-14**)。溶液中の **1** - ctDNA 会合挙動から、**1** の ctDNA 中における孤立化は、ctDNA の主溝にインターカレートしたことによるものであると結論付けられた。

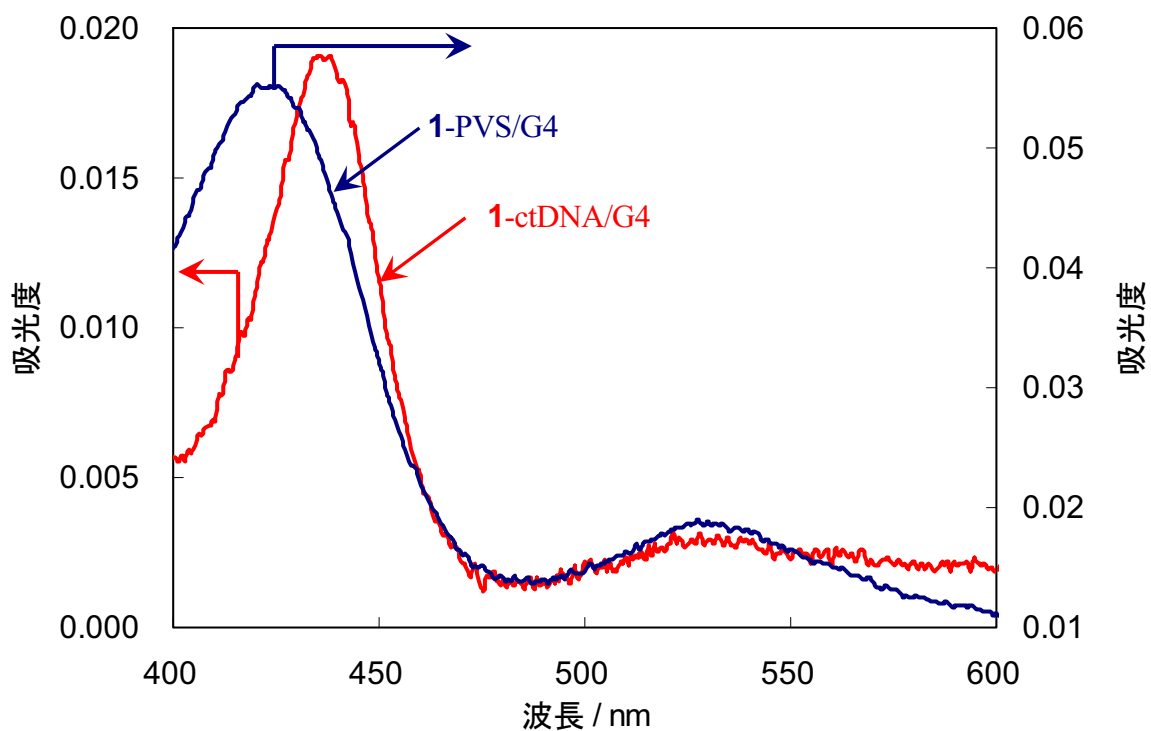


図 2-13. PAMAM デンドリマー (G4) を固定相とする ITO 基板上的の 1-ctDNA 膜及び 1-PVS 膜の紫外 - 可視吸収スペクトルの比較.

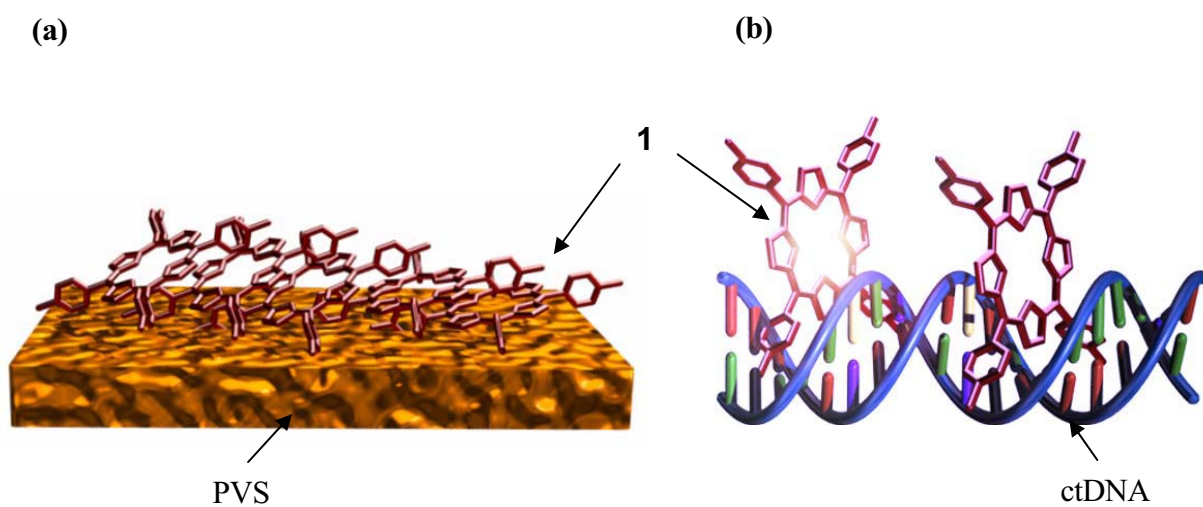


図 2-14. (a) 1-PVS における 1 の吸着状態, (b) 1-ctDNA における 1 の吸着状態の模式図.

2-3-6. PAMAM デンドリマーを固定相とした ctDNA 膜の表面状態の評価

前項で述べた PAMAM デンドリマーの増加傾向に比べて、ctDNA の増加率は次第に飽和していく傾向が確認された。この原因を明らかにするために、AFM 観察によってマイカ基板上における ctDNA 膜表面の形態学的な評価を行った。

G1-G4 の各世代の PAMAM デンドリマーを固定相にして調製したマイカ基板上の ctDNA 膜それぞれについて、AFM 観察を行った。図 2-15 に示したように、G1 においては ctDNA の束が敷き詰められたような形状が確認されたが、G4 では ctDNA が球状に近い凝集体として基板表面に固定化されている様子が観察された。高さプロファイルから、G1 を固定相とした系に比べて G4 を固定相とした系の方が、ctDNA の表面粗さが小さいことが明らかとなった。このことから、固定相である PAMAM デンドリマーの世代が大きくなるにつれて、ctDNA と基板間の距離が短くなっていることが示された。これは、2-3-1 において QCM 測定から明らかにしたように、PAMAM デンドリマーの表面電荷密度が増加したことが原因であると考えられる。

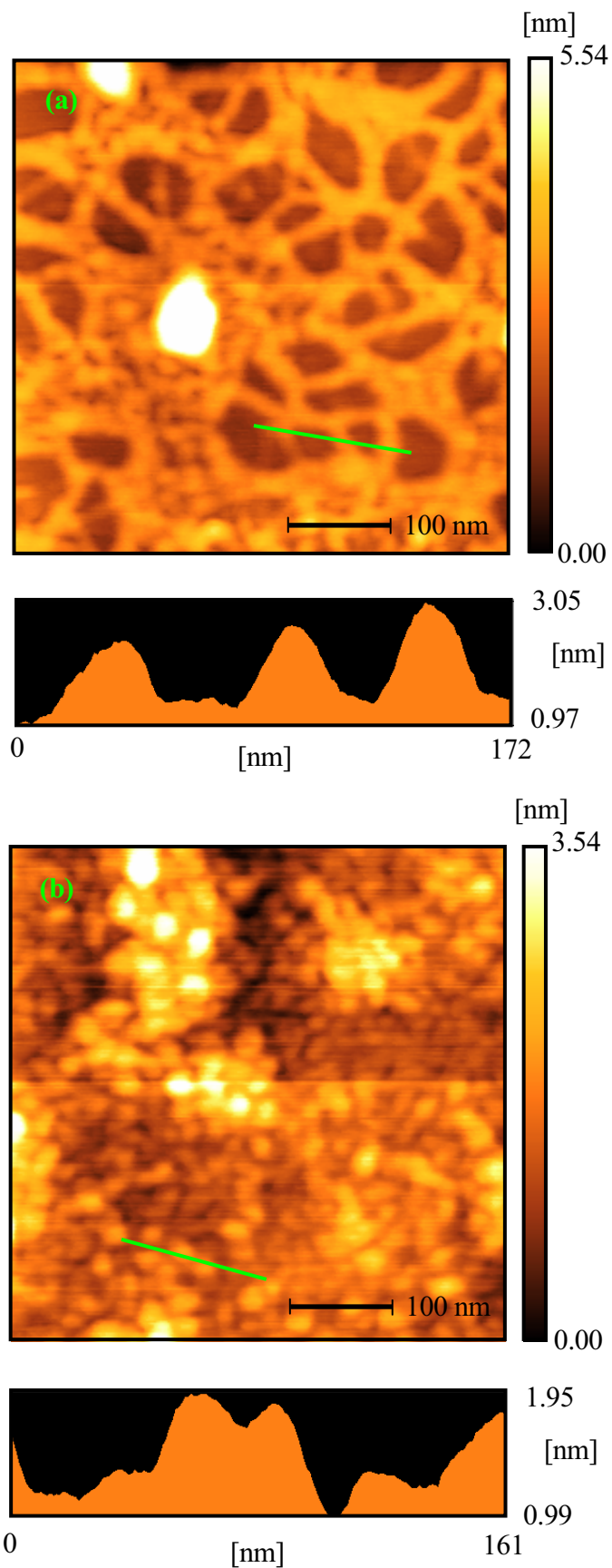


図 2-15. PAMAM デンドリマーを固定相としたマイカ基板における ctDNA 膜の AFM 観察像 (室温, DFM モード) ; (a) ctDNA-G1, (b) ctDNA-G4.

2-4. 結論

本章では、SAM もしくは PAMAM デンドリマーを固定相として、ITO 基板上に **1**-ctDNA 膜の調製を試みた。その結果、以下のことが明らかとなった。

G1 - G4 の世代の PAMAM デンドリマーを固定相とした場合、どの世代の PAMAM デンドリマーにおいても、**1**-ctDNA 膜を ITO 基板上に固定化することができた。QCM 測定の結果から、固定相に用いた PAMAM デンドリマーの世代の増加に伴って、表面電荷密度 ($\Gamma_c / \text{mol cm}^{-2}$) が増加することが確認された。さらにこの上昇に伴い、ctDNA 及び **1** の吸着量が増加することが明らかとなった。この際、紫外 - 可視吸収スペクトルから、**1** の ctDNA に対する錯形成状態は全て同じであると考えられ、**1** の微視的環境が各世代間で差があまりないことが確認された。PAMAM デンドリマーの世代による **1**-ctDNA 膜の吸着量の増加は、PAMAM デンドリマーが提供する表面の電荷密度が世代と共に増加するからである。

一方、AET を用いた SAM による固定化 **1**-ctDNA 膜では、G4 を固定相とした系に比べてあまり **1**-ctDNA 膜が積層していないという結果が得られた。このことから、固定相として SAM を用いるのは妥当でないことが示された。これは、平面的に電荷部位を有する SAM 膜が、立体的に電荷部位を有する ctDNA に対して実効的に多点相互作用ができないことによるものであると考えられる。

さらに、**1**-ctDNA 膜ではなく **1**-PVS 膜を G4 上に固定化した場合、**1** は会合していることが確認された。この系については、3 章において光電変換素子としてより詳しく検討を行う。

また、AFM の結果から、PAMAM デンドリマーを固定相に利用することで、**1**-ctDNA 膜の基板表面における形状が変化することが明らかになった。**1**-ctDNA 膜の形状変化の原因として、PAMAM デンドリマーの DNA に対する相互作用点が増加するからではないかと考えられる。このような色素混合薄膜の微視的な形状は、光電変換素子として用いる場合非常に重要である。なぜなら、色素 - 電極間の距離や色素の置かれている環境は、光電流に非常に大きな影響を及ぼすからである¹⁵⁾。

以上の結果から、本章で調製した PAMAM デンドリマーを固定相とする **1**-ctDNA/PAMAM/ITO 基板を用いて、3 章では光電変換素子としてのそれらの特性を評価した。

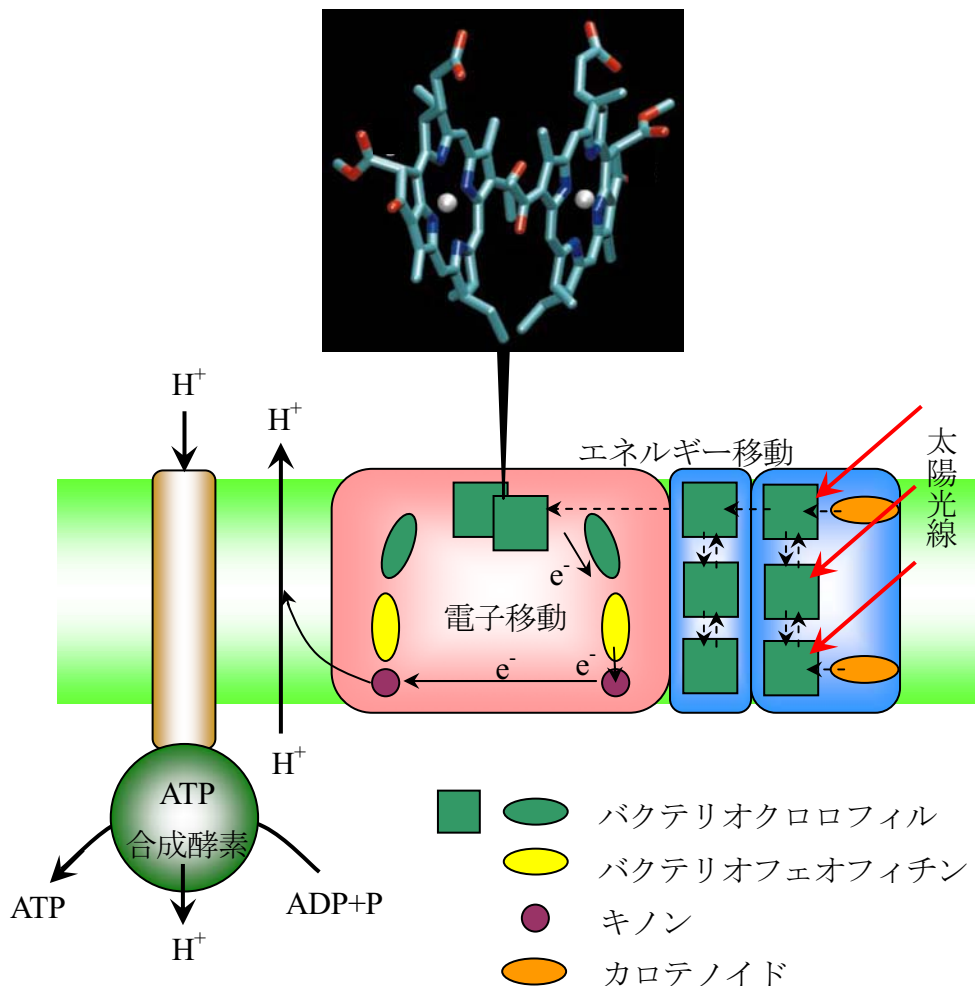
2-5. 参考文献

- 1) Y. Okahata, T. Kobayashi, K. Tanaka, and M. Shimomura, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 6165 (1998).; S. Machida, M. Morisada, K. Horie, and Okahata, *Polymer J.*, **31**, 1179 (1999).
- 2) J. Gu, L. Cai, S. Tanaka, Y. Otsuka, H. Tabata, and T. Kawai, *J. Appl. Phys.*, **92**, 2816 (2002).
- 3) A.-H. Bae, T. Hatano, N. Nakashima, H. Murakami, S. Shinkai, *Org. Biomol. Chem.*, **2**, 1139 (2004).
- 4) J. Li, L. T. Piehler, D. Qin, J. R. Baker, Jr., and D. A. Tomalia, *Langmuir*, **16**, 5613 (2000).
- 5) D. M. Domański, B. Klajnart, and M. Bryszewska, *Bioelectrochemistry*, **63**, 193 (2004).; B. Devarakonda, R. A. Hill, and M. M. de Villiers, *Int. J. Pharm.*, **284**, 133 (2004).
- 6) R. F. Pasternack, E. J. Gibbs, and J. J. Villafranca, *Biochemistry*, **22**, 2406 (1983).
- 7) J. M. Kelly, and M. J. Murphy, *Nucleic Acids Res.*, **13**, 167 (1985).; M. A. Sari, J. P. Battioni, D. Dupré, D. Mansuy, and J. B. Le Pecq, *Biochemistry*, **29**, 4205 (1990).
- 8) Y. Liu, and J. A. Koningstein, *J. Phys. Chem.*, **97**, 6155 (1993).
- 9) R. F. Pasternack, P. Garrity, B. Ehrlich, C. B. Davis, E. J. Gibbs, G. Orloff, A. Giartosio, and C. Turano, *Nucleic Acids Res.*, **14**, 5919 (1986).
- 10) J. Lang, and M. Liu, *J. Phys. Chem. B*, **103**, 11393 (1999).
- 11) Y. S. Choi, T.-S. Cho, J. M. Kim, S. W. Han, and S. K. Kim, *Biophys. Chem.*, **121**, 142 (2006).
- 12) A.-H. Bae, T. Hatano, K. Sugiyasu, T. Kishida, M. Takeuchi, and S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.*, **46**, 3169 (2005).
- 13) Y. Yang, X. Yang, Y.-L. Liu, Z.-M. Liu, H.-F. Yang, G.-L. Shen, and R.-Q. Yu, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, **171**, 137 (2005).
- 14) I. E. Borissevitch, S. C. M. Gandini, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **43**, 112 (1998).
- 15) Y. Tsuchiya, A. Ikeda, T. Konishi, J. Kikuchi, *J. Mater. Chem.*, **14**, 1128 (2004).

第3章 PAMAM デンドリマーを固定相とする TMPyP - DNA 系光電変換素子の調製と評価

3-1. 序

光電変換素子は、生体内に存在する光合成系を模倣した光電気エネルギー変換システムである。光合成反応システムにおける反応中心複合体には、細胞膜外壁付近にスペシャルペア (SP) と呼ばれるクロロフィル二量体が存在する。SP に集められた光エネルギーによって発生した電子は、多段階の移動過程を経て膜内壁付近のキノンに到達する (図 3-1)。このようにして、光合成では膜を横切るかたちでほぼ 100% の収率で電荷分離状態が発生する¹⁾。この機構を理解・模倣することで、光エネルギーを電気エネルギーに高い収率で変換できる光電変換素子の開発が期待でき、これまでに光合成を模倣した光電変換素子に関する多くの研究が報告されてきた。



太陽電池に代表される光電変換素子の動作原理は、電子ドナーと電子アクセプターのエネルギー勾配を利用したものである。半導体を利用した系において、代表的なものはpn接合型と呼ばれる太陽電池である。絶縁体に電子ドナー（D）をドーピングしたn型半導体と呼び、電子アクセプター（A）をドーピングしたp型半導体と呼ぶ。例えば、n型半導体の例として、図3-2に示したようにシリコン単結晶中にリンをドーピングしたものがある。5価のリン原子が4価のシリコン原子内に導入されると、結晶内で $P \rightarrow P^+ + e^-$ のイオン化が起こり、電子が伝導帯底を占めて自由に動き回ることができ、この電子が電荷のキャリアとなる。p型半導体の例としては、シリコン単結晶中にホウ素をドーピングしたものが挙げられる。この場合、ホウ素は3価であるため、シリコン結晶中では電子が一つ不足した状態となり、 $B + e^- \rightarrow B^-$ となって結晶内に正孔（ホール）が発生し、これが電荷のキャリアとなる。このn型半導体とp型半導体を接合すると、お互いのフェルミ準位が一致した結果、接合部位に電位の勾配ができる（空乏層）。この部分に光を照射すると、価電子帯の電子が導電帯に励起され、電子とホールが発生する。発生した電子とホールは、電位の勾配に従ってお互い逆方向に移動し、結果として電流が発生する。これが太陽電池の仕組みである（図3-3）。

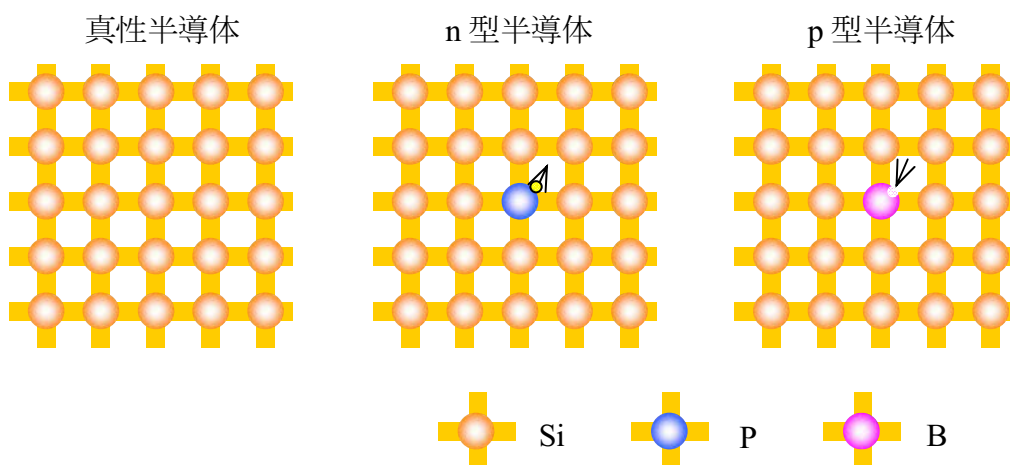


図 3-2. 半導体の種類と構造.

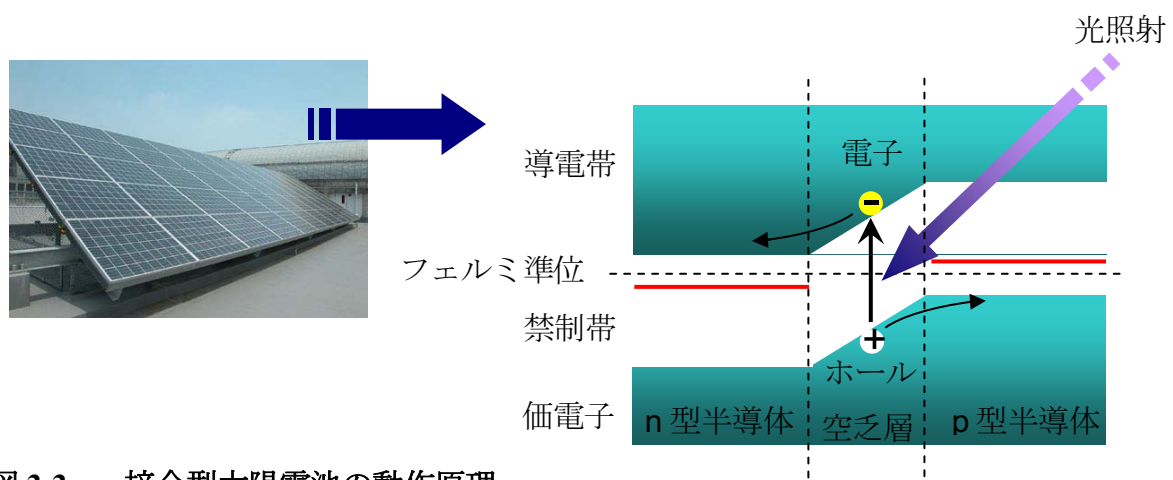


図 3-3. pn 接合型太陽電池の動作原理.

有機色素を利用した光電変換素子においても、その動作原理は半導体太陽電池と同じである。光励起された色素の電子が、より低いエネルギー準位にある電子アクセプターの軌道へと移動し、最終的に電極基板へ電子が移動することで、電流が発生する（逆に、ホールが移動する場合もある）（図 3-4）。

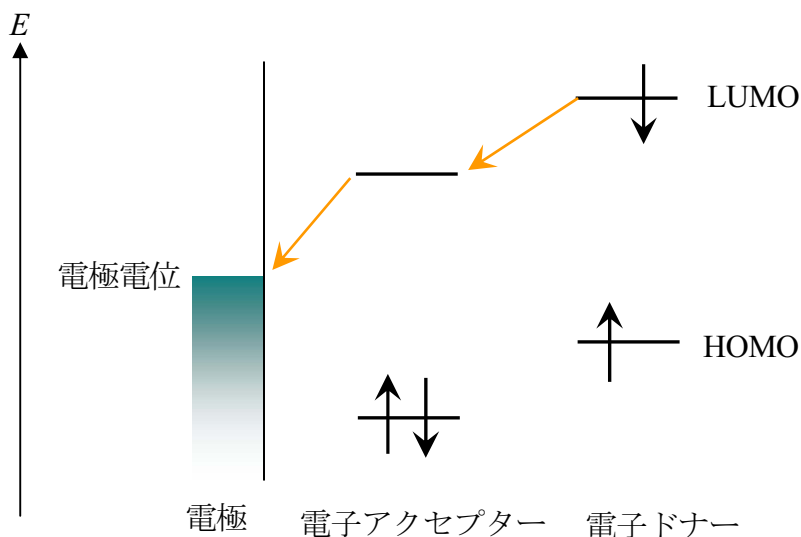


図 3-4. 光電変換素子の動作原理.

本章では、前章で調製した **1**-ctDNA/PAMAM/ITO の光電流測定を行い、固定相である PAMAM デンドリマーによってどのような影響を受けるか検討することを目的とした。また、**1**-ctDNA/PAH/ITO の光電流測定を行い、従来交互積層法で用いられてきた直鎖状ポリマーと比較することで、PAMAM デンドリマーの固定相としての特色を明らかにすることを試みた。一方で、**1** が ctDNA にインターカレートすることによって、光電変換機能にどのような影響を与えるかについて、**1**-PVS/G4/ITO の光電流測定との比較から検討した。

3-2. 実験

3-2-1. 電位依存性光電流測定

装置を用いて、光電流測定を行った [図 3-5 (a)]。この装置は、キセノンランプ [クセノンショートアークランプ UXL-500D-O, ウシオ電機 (株)] と電気化学測定装置 [ALS660A, エー・エル・エス (有)] を組み合わせたものである。測定セルの形状は、図 3-5 (b) に示した通りである。電位依存性光電流測定では、電極基板上の膜が分解・剥離しない範囲内において印加電圧を変え、流れる光電流を検出した。その測定条件は、表 3-1 に示した通りである。電位の正確な制御を行うため、光電流測定は全て三電極系とし、電解質水溶液中の溶存酸素の影響を抑制するためにアルゴン雰囲気下にて測定した。犠牲試薬には、水溶性かつ基板の膜の構造に影響を与えないことから、TEOA を用いた。TEOA は電子ドナーとして作用し、基板上の膜において電子を放出した光活性種に電子を供与する。電子供与した TEOA は分解するため、逆電子移動を起こすことができなく、効率のよい電子伝達が期待できる (図 3-6)。TEOA を使用した場合、膜中の光活性種は電子を基板に向けて伝達し、結果としてアノード電流が観測される。

一定の電圧を印加し続けながら、光を照射しないときに流れる電流 (暗電流) と光を照射したときに流れる電流 (明電流) を繰り返し測定し、その差の平均値を光電流値とした。データの解析にあたっては、照射光強度 1.0 mW cm^{-2} において流れた光電流値の単位面積当たりの値 (光電流密度) を用いた。また、光電流密度と紫外 - 可視吸収スペクトル測定によって得られた基板の吸光度から、量子収率を算出した (算出方法は後述)。

表 3-1. 電位依存性光電流測定における測定条件.

設定項目	条件
支持電解質	0.10 M 硫酸ナトリウム (ナカライテスク)
犠牲試薬	0.05 M TEOA [東京化成工業 (株)]
参照電極	Ag/AgCl (3 M NaCl) [ビー・エー・エス (株)]
対極	白金線 [ビー・エー・エス (株)]
波長	440 nm
測定範囲 (測定間隔)	0.0 – 0.5 V (0.1 V)

3-2-2. アクションスペクトル測定

アクションスペクトル測定は、一定の印加電圧において照射光の波長を変え、流れる光電流を測定する手法である。アクションスペクトルと、基板の紫外 - 可視吸収スペクトルを比較することで、基板上で光電流の発生に関わる主な活性種が何であるかを明らかにすることができる。印加電圧には、電位依存性光電流測定において最も光電流が流れ、なおかつ基板上の膜の分解・剥離が起こらないと判断された値を用いた。詳しい測定条件に関しては、表 3-2 に示した。

表 3-2. アクションスペクトル測定における測定条件.

設定項目	条件
支持電解質	0.10 M 硫酸ナトリウム
犠牲試薬	0.05 M TEOA
参照電極	Ag/AgCl (3 M NaCl)
対極	白金線
印加電圧	0.4 V
測定範囲 (測定間隔)	400 - 600 nm (400 - 500 nm まで 10 nm 毎, 500 - 600 nm まで 20 nm 毎)

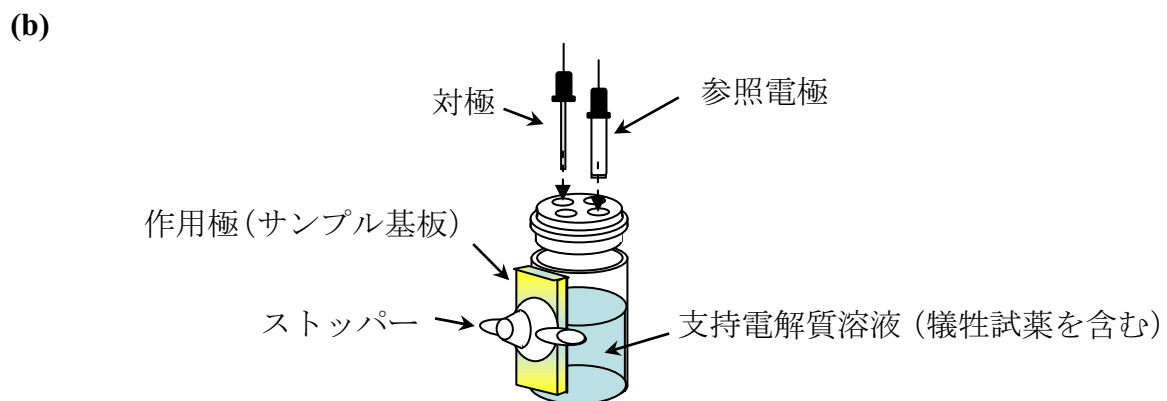
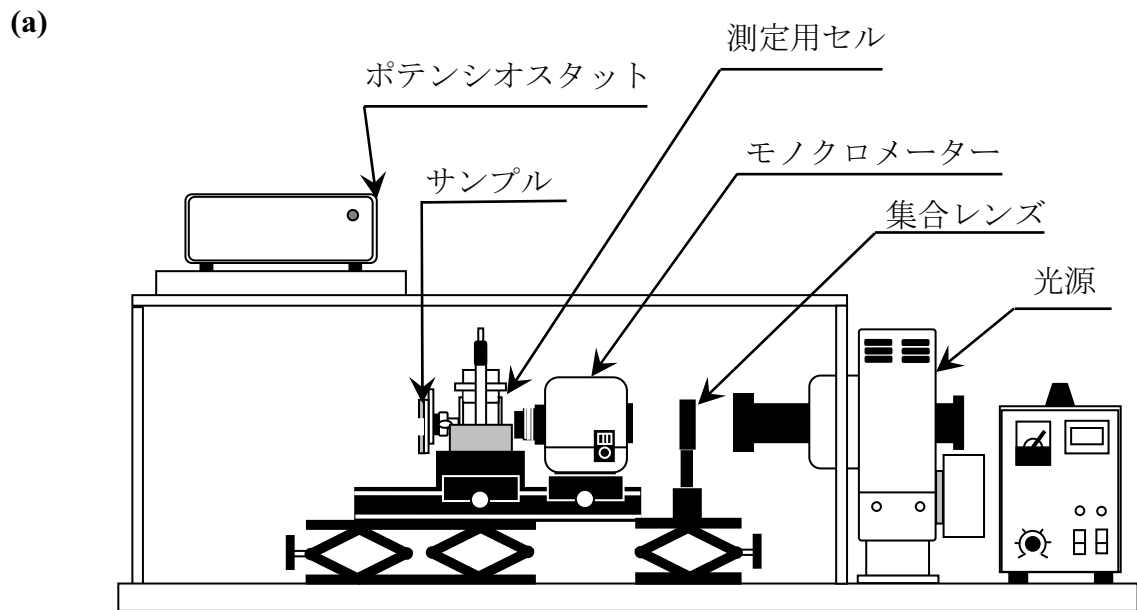


図 3-5. (a) 光電流測定に用いた電気化学測定系の図 (b) 光電流測定セル.

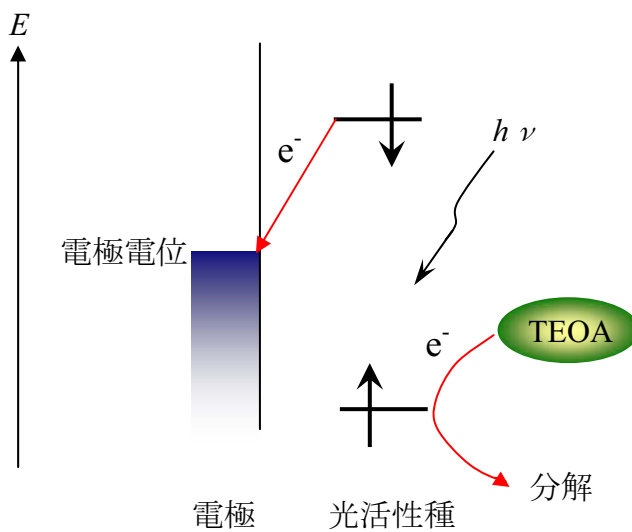


図 3-6. TEOA を用いた場合に予想される電子移動.

3-3. 結果と考察

3-3-1. PAMAM デンドリマー (G4) とポリアリルアミン塩酸塩 (PAH) を固定相に用いた光電変換素子の比較

ポリアリルアミン塩酸塩 (PAH) は、これまで交互積層法を用いた基板修飾に広く利用されてきたポリカチオンである。PAH を固定相として用いた光電変換素子 (1-ctDNA/PAH/ITO) 及び、PAMAM デンドリマー (G4) を固定相として用いた光電変換素子 (1-ctDNA/G4/ITO) の比較検討を行った。

2 章で述べた調製方法によって、1-ctDNA/PAH/ITO と 1-ctDNA/G4/ITO を調製した。紫外 - 可視吸収スペクトル測定の結果、どちらも 1 由来のソーレー帯の吸収波長は同じ位置に観測され、吸光度にもほとんど差は見られなかった (図 3-7)。このことから、固定相に PAH を用いた場合も PAMAM デンドリマーを用いた場合も、大気中の基板表面における 1-ctDNA の状態や吸着量に差がないことが分かった。

これら 2 種類の基板について、光電流測定を行った。その結果、図 3-8 に示したように、1-ctDNA/G4/ITO の光電流値は 1-ctDNA/PAH/ITO の光電流値に比べて高かった。光電流値の差は、印加した電位が高くなるにつれて著しく大きくなり、0.4 V における 1-ctDNA/G4/ITO の光電流値 (73.7 nA cm^{-2}) は 1-ctDNA/PAH/ITO の光電流値 (17.5 nA cm^{-2}) の約 4 倍であった。以前に、ポリマーを固定相として電極基板にポルフィリン誘導体を固定化する際、電極までの距離が遠いポルフィリン誘導体からの光電流は流れにくいという報告がなされている。つまり、色素が基板に対してより近い位置に固定されていれば、光誘起電子が電極基板に移動しやすくなると考えられる。このことから、1-ctDNA/G4/ITO と 1-ctDNA/PAH/ITO の光電流の差は、PAH の表面電荷密度に比べて G4 の表面電荷密度が非常に大きく、より基板近傍に 1-ctDNA を固定化できるためであると考えられる (図 3-9)。また、PAMAM デンドリマー (G4) 自身の分子直径は約 4.5 nm と大きい、基板上では膜厚は 1nm 以下と垂直方向に縮小している。

以上のことから、直鎖状のポリカチオンに比べて、二次元的な広がりを持つ PAMAM デンドリマーの方が色素分子の固定相としてより有効であるということが示された。この結果を踏まえ、様々な世代の PAMAM デンドリマーを固定相に用いたとき、光電流にどのような影響が見られるかについて、検討を行った。以下に、G1 から G4 までの PAMAM デンドリマーを固定相に用いた系での光電流の変化について述べた。

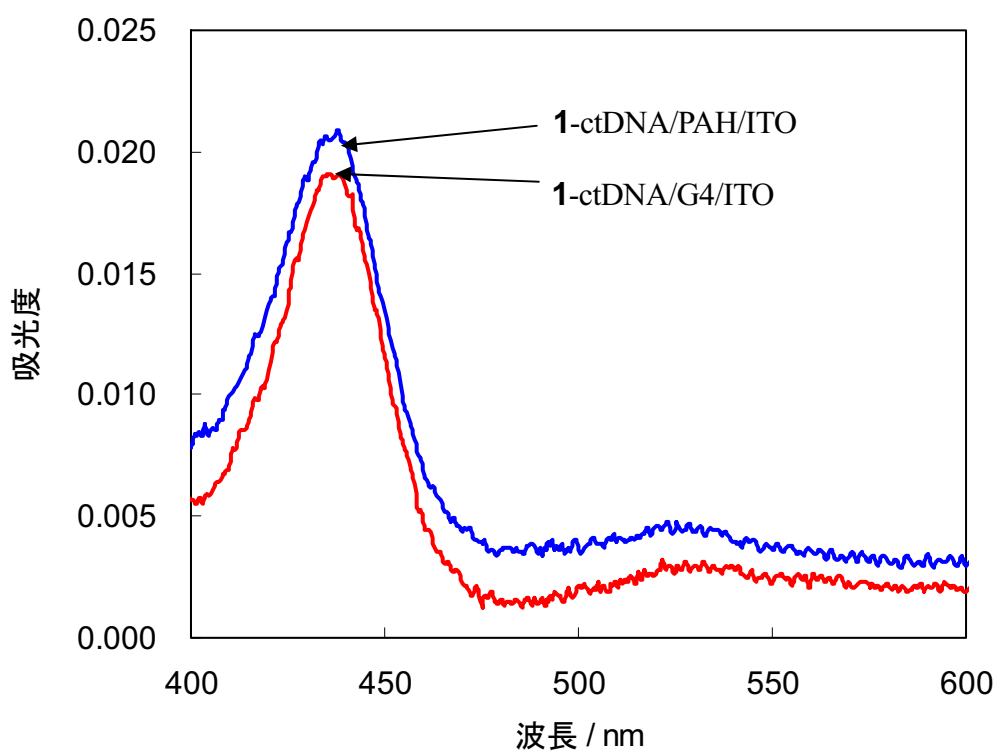


図 3-7. 1-ctDNA/G4/ITO と 1-ctDNA/PAH/ITO の紫外 - 可視吸収スペクトルの比較.

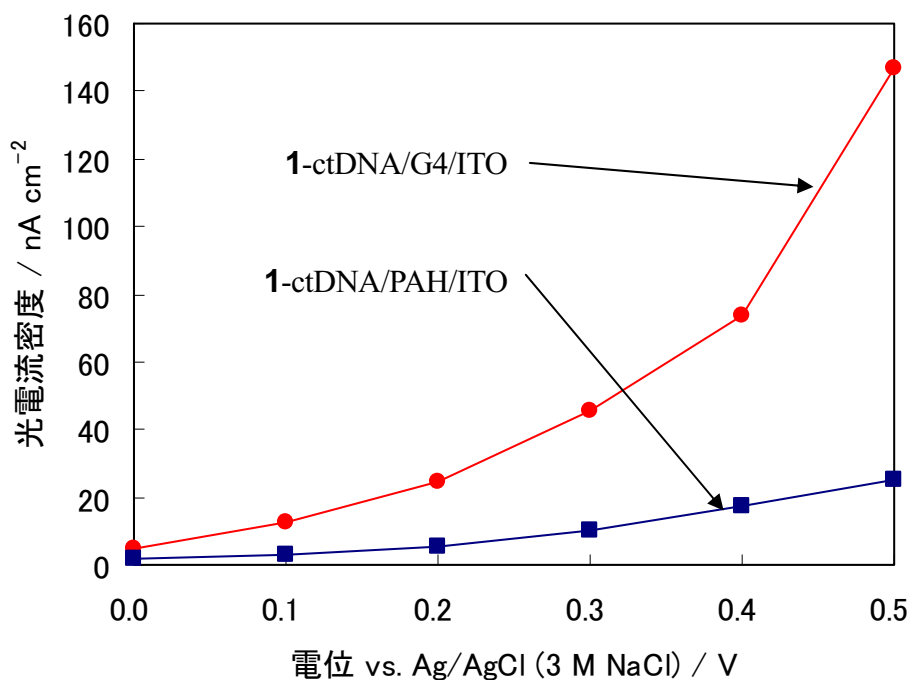


図 3-8. 1-ctDNA/G4/ITO と 1-ctDNA/PAH/ITO における光電流の電位依存性; 参照電極: Ag/AgCl (3 M NaCl), 対極: 白金線, 照射波長: 440 nm (1.0 mW cm^{-2}), アルゴン雰囲気下.

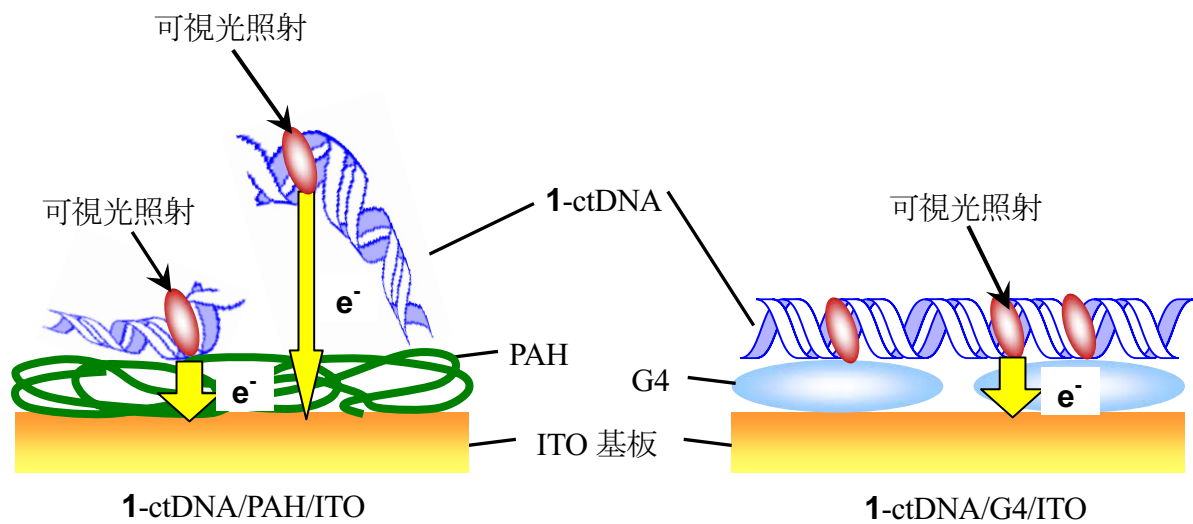


図 3-9. 1-ctDNA/PAH/ITO 及び 1-ctDNA/G4/ITO の表面構造と光電流値の関係.

3-3-2. PAMAM デンドリマーを固定相とする光電変換素子における PAMAM デンドリマーの世代の影響についての評価

光電変換素子において、光照射に伴う電流応答の再現性は非常に重要である。電流応答が光照射の度に減少した場合、それは基板表面から色素膜が剥離しているか、あるいは基板表面で色素膜の分解が起きている可能性がある。測定時間内に色素の分解や剥離が起きないことが、光電変換素子を構築するうえでまず満たさなければいけない条件である。例えば、メルカプトプロピオン酸 (MPA) で調製したアニオン性 SAM 表面に、直接 **1** を固定化することを試みた (**1**-MPA/ITO)。しかし、そのソーレー帯の極大吸収波長における吸光度は非常に低く、光電流も非常に低い値しか得られなかった。吸光度が低かったことから、MPA による SAM 表面と **1** が多点で静電相互作用できないため、固定化の際の洗浄操作によって、そのほとんどが洗い流されてしまったと考えられる。また、光電流がほとんど観測されなかった原因としては、わずかに固定化されている **1** 同士が自己会合しているために、自己失活によって基板への電子移動が抑制されたためであると推察される。実際にわずかに観測された光電流から **1**-MPA/ITO の量子収率 (計算方法の詳細については後述) を見積もったところ、印加電圧 0.4 V において 440 nm での量子収率は 0.06 % でしかなかった。以上の結果から、**1** と多点で静電相互作用できる固定相を用いることが好ましいということが示された。

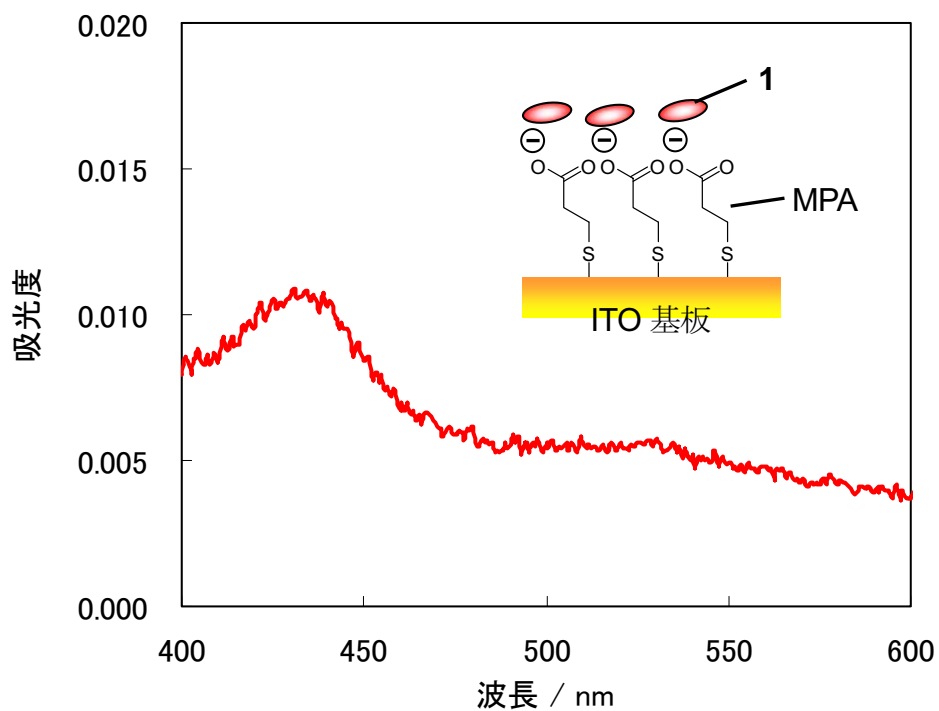


図 3-10. 1-MPA/ITO における紫外 - 可視吸収スペクトルの比較.

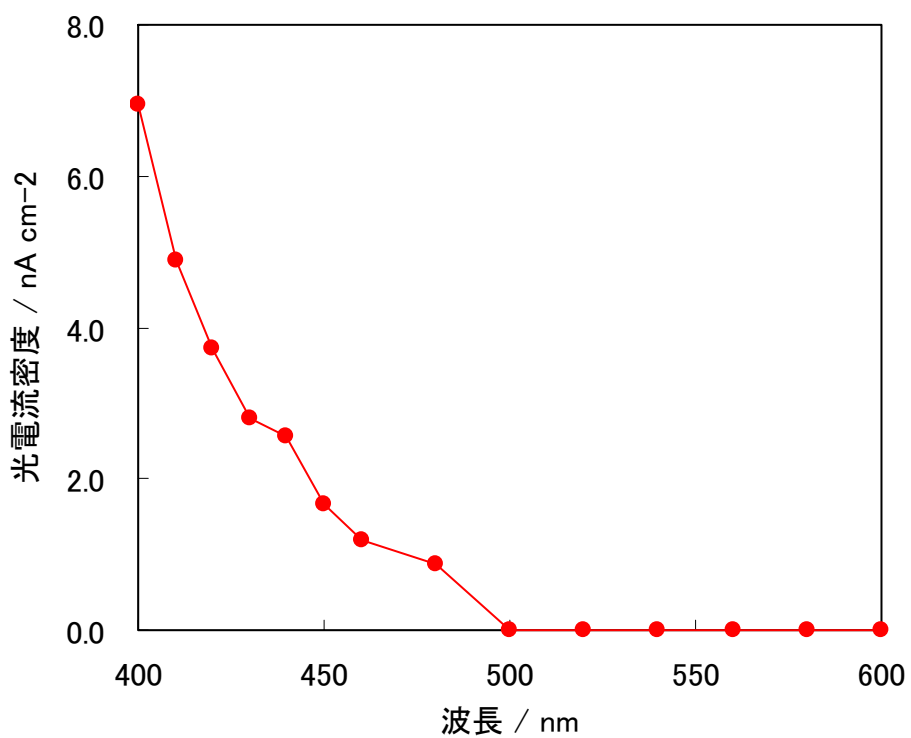


図 3-11. 1-MPA/ITO におけるアクションスペクトル; 0.4 V vs. Ag/AgCl (3 M NaCl), 光量 = 1.0 mW cm⁻², アルゴン雰囲気下.

そこで、PAMAM デンドリマーを固定相とした光電変換素子 [1-ctDNA/PAMAM (G1-G4)/ITO] 全てにおいて、各電位における電流の光応答プロファイルを観測し、測定範囲内で色素の分解や剥離がないか確認を行った。その結果、**図 3-13** に示した 1-ctDNA/G4/ITO の光電流応答のように、全ての光電変換素子で再現性良く光電流が観測され、色素の分解や剥離がないことが確認できた。

各世代における光電流の電位依存性について検討した。**図 3-14** に示したように全ての世代において、印加電圧が増加するにつれて光電流値が増大した。また、固定相に用いた PAMAM デンドリマーの世代が増加するにつれて、光電流値が増大した。世代間の差は印加電圧が大きくなればなるほど著しくなった。

印加電圧 0.4 V は TMPyP の酸化電位よりも十分低い電位であるため、**1** の分解は起こらない領域であり、**図 3-13** からも分解が起こっていないことを確認した。加えて、光電流値の著しい差が観測できたことから、印加電圧 0.4 V に固定し、照射光波長を変化させるアクションスペクトル測定を行った。**図 3-13** に示したように、1-ctDNA/G4/ITO におけるアクションスペクトルの変化と紫外 - 可視吸収スペクトルの形状および極大位置はほぼ一致した。紫外 - 可視吸収スペクトルにおいて、波長に対する吸光度の変化は、光によって電子が励起される確率を反映したものである。すなわち、アクションスペクトルと **1** の紫外 - 可視吸収スペクトルの一致は、観測された光電流が **1** の光励起電子由来のものであるということを示している。

固定相であるデンドリマーの光電変換機能への影響を検討するため、G1 から G4 までの各世代のデンドリマーを固定相とした基板について、アクションスペクトル測定を行った。その結果、固定相として用いた PAMAM デンドリマーの世代が増加するに伴って、440 nm における光電流値の著しい増加が観測された (**図 3-16**)。440 nm における光電流値を、PAMAM デンドリマーの世代に対してプロットしたところ (**図 3-16** 挿入図)、光電流は指数関数的に増加していることが分かった。実際、1-ctDNA/G1/ITO の 440 nm における光電流密度 (8.5 nA cm^{-2}) に比べ、1-ctDNA/G4/ITO のそれ (77.5 nA cm^{-2}) は、約 9.1 倍になっていた (**表 3-3**)。これに対して、440 nm における紫外 - 可視吸収スペクトルはデンドリマーの世代の増加に伴って直線的に増加した。紫外 - 可視吸収スペクトルから求めた **1** の積層量は、1-ctDNA/G1/ITO では $1.4 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$ であり、1-ctDNA/G4/ITO では $2.6 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$ と約 1.9 倍程度であった (**表 3-3**)。

表 3-3. 各種光電変換素子の 440 nm における光電流密度と 1 の積層量.

PAMAM デンドリマーの世代	440 nm における光電流密度	
	/ nA cm ⁻²	1 の積層量 / × 10 ⁻¹¹ mol cm ⁻²
G1	8.5	1.4
G2	14.9	1.9
G3	26.9	2.3
G4	77.5	2.6

以上のデータをもとに、光電流密度の増加割合を吸光度あたりに換算し、量子収率として算出した (図 3-15)。量子収率の求め方は以下の通りである。

まず、基板上の膜が吸収した光量は、Lambert-Beer の法則より、

$$\log(I_0/I) = A \rightarrow I = I_0 10^{-A} \rightarrow I_0 - I = I_0 (1 - 10^{-A})$$

なので、膜が吸収した光子の数 N_{photon} は、

$$N_{photon} = Q (1 - 10^{-A}) / (h c / \lambda)$$

(Q : 照射光の光量 / W cm⁻², h : プランク定数 / 6.626 × 10⁻³⁴ J s, c : 真空中の光速 / 2.998 × 10⁸ m s⁻¹, λ : 照射光波長 / m)

から求められる。

一方で、得られた光電流値から、出力された電子の数 $N_{electron}$ は、

$$N_{electron} = I / (A e)$$

(I : 光電流値 / A, A : 電極面積 / cm², e : 電気素量 / 1.60 × 10⁻¹⁹ C)

と求められる。量子収率 ϕ は、吸収した光子の数と出力された電子の数の比をパーセント表示にしたものであるから、

$$\phi = N_{electron} / N_{photon} \times 100$$

で得られる。

結果として得られた、デンドリマーの世代に対する量子収率の増加傾向は、ポルフィリンの積層量が増加するため光電流密度の増加傾向に比べてやや低くなるが、G4 における量子収率 (1.07%) は、G1 の量子収率 (0.21%) の約 5 倍と十分大きなものであった (光電流密度は約 9 倍) (表 3-4, 図 3-17)。従って、質問になった吸光度あたりの値、つ

まり量子収率に換算しても十分大きなデンドリマー効果が発現していることが示された。

表 3-4. 各種光電変換素子の 440 nm における量子収率及び光電流値.

世代	量子収率 / % [変化割合 ^a]	光電流密度 / nA cm ⁻² [変化割合 ^b]
G1	0.21 [1.0]	17.3 [1.0]
G2	0.28 [1.3]	30.4 [1.8]
G3	0.42 [2.0]	54.8 [3.2]
G4	1.07 [5.1]	158.1 [9.1]

a : 変化割合 = 量子収率_{Gn} / 量子収率_{G1}, b : 変化割合 = 光電流密度_{Gn} / 光電流密度_{G1}

過去のポルフィリン単層膜を光電変換素子として用いた系において、SAM による固定化を行った系では 0.012%、シランカップリングによる固定化を行った系では 3.4% という値が報告されている⁴⁾。今回 G4 系における量子収率は 1.1%であったので、SAM 系によるものよりも約 100 倍高く、シラン系と同等の値には及ばないものの、特別低い値とは言えない。量子収率は先ほど述べたように電子アクセプターとなるフラレンなどを導入し、向上させることが可能であると考えられる。以上のことから、従来型のポルフィリン単層膜系光電変換素子とはほぼ同等の性能を有していると言える。

表 3-5. ポルフィリン単層膜系光電変換素子における量子収率⁴⁾.

	量子収率 / %
	0.012
	3.4

1 の積層量は直線的な増加を示していたのに対して、光電流値および量子収率が指数関数的な増加を示したということは、光電流の増加が単純に色素量の増加によるものだけではないということが言える。当初の予測では、PAMAM デンドリマーの世代が増加すると共にその分子直径も増大することから、1-ITO 間の距離は増加して電子移動が阻害され、1 の積層量の増加に反して光電流は減少することが懸念された。しかし、今回の結果から、この問題は考えなくてもよいことが分かった。加えて、過去の報告によると、デンドリマーの基板上での高さは G5 においても約 0.6 nm であり、ほぼ平面構造であることが示されている。従って、今回用いた G1~G4 の範囲においても、その高さ、つまり膜厚はほとんど変わらないと考えられる。

このデンドリマーの世代の増加に伴う量子収率の増加を「正のデンドリマー効果」と呼ぶ。「正のデンドリマー効果」の原因について次の二つの仮説をたて、検討することにした。

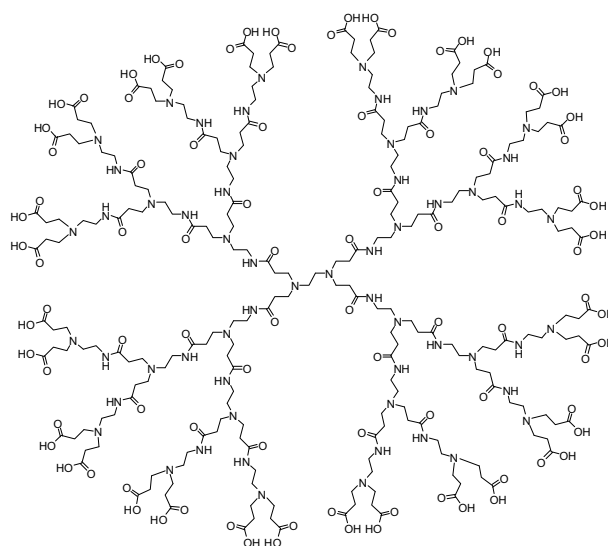
(1) 固定相に用いた PAMAM デンドリマー中のアミン部位が、犠牲試薬として作用した。PAMAM デンドリマーのアミン部位は世代と共に飛躍的に増加するため、犠牲試薬からの電子を受容する確率が増えて自己失活が減り、光電流値が著しく増加した (図 3-18)。

(2) 低い世代の PAMAM デンドリマーを固定相にした場合、PAMAM デンドリマーの ctDNA に対する相互作用点 (末端アミン部位) が少ない。その結果 1-ctDNA は十分に固定されておらず、基板から局所的に剥離した状態で積層されている。そのため、1 から電子移動が十分に起こらない。これに対して、高い世代の PAMAM デンドリマーを固定相とした場合はより相互作用点が多く、1-ctDNA が剥離することなく固定できる。その結果 1-ctDNA はほとんどが基板近傍に存在し、効率的に 1 から ITO 基板へ電子が起きるため、光電流値が増加した (図 3-19)。

まず、仮説 (1) について検証するため、犠牲試薬である TEOA が支持電解質水溶液中に含まれない場合の 1-ctDNA/G4/ITO について、アクションスペクトル測定を行った。仮説 (1) が正しければ、TEOA 非存在下においても、TEOA 存在下とほとんど変わらない大きさの光電流が観測されると予想される。PAMAM デンドリマー中の 3 級アミンから 1 への電子移動が起こりえることは、水溶液中において PAMAM-COOH デンドリマー (G2.5, G4.5) が過剰に存在するとき、1 に蛍光消光が観測されることから、既に明らかにされている (図 3-12)⁵⁾。つまり、この過去の報告は、デンドリマーのアミン部位が犠牲試薬として作用することを示唆している。

この予想に反して、結果的に TEOA 非存在下ではほとんど光電流が流れず、TEOA 存在下における光電流に比べて大きな差があることが明らかになった (図 3-18)。このことから、PAMAM デンドリマー中のアミン部位が犠牲試薬として作用していないことが示された。これは、電解質水溶液である 0.1 M 硫酸ナトリウム水溶液がほぼ中性であるた

め、膜中の PAMAM デンドリマーの最表面のアミン部位は、ほぼプロトン化されていることが原因であると考えられる⁶⁾。しかし、内部のアミンが犠牲試薬として働く可能性は否めない。ここで、PAMAM デンドリマーは基板上で押しつぶされて広がった形態をしていると考えられる。そのため、構造変化によってむき出しになった内部アミンの pKa が変化した結果、電解質水溶液中でプロトン化されていると推察される。



PAMAM-COOH デンドリマー (G2.5)

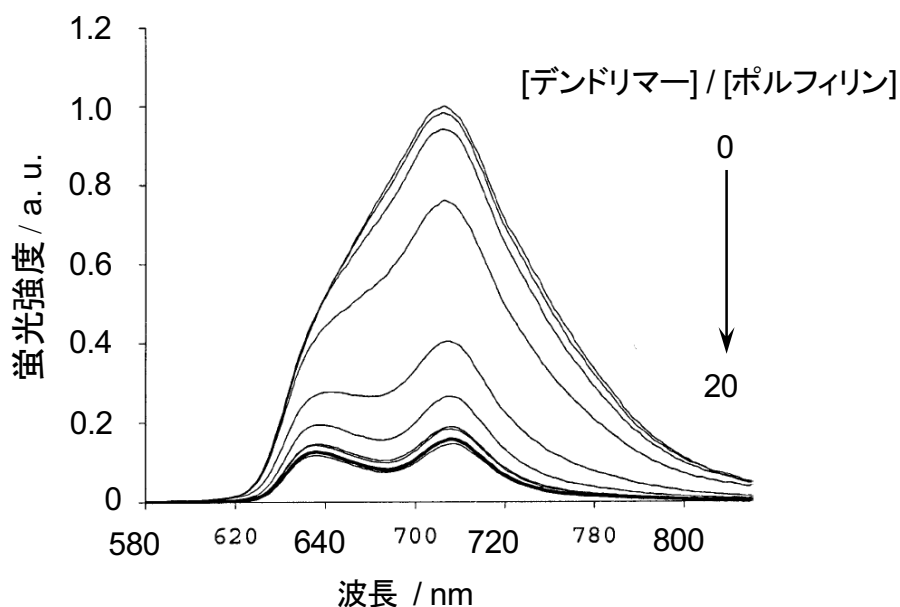


図 3-12 均一水溶液中におけるデンドリマーの濃度増加に伴う 1 の蛍光強度の減少 (励起波長 = 400 nm)⁵⁾.

仮説 (2) について、2 章で述べた **1-ctDNA/PAMAM/ITO** についての QCM 測定及び AFM 観察像の結果をもとに考察した。QCM 測定において、PAMAM デンドリマーの表面吸着量は、PAMAM デンドリマーの世代の増加と共に減少した。しかし、PAMAM デンドリマーの表面電荷密度は、世代の増加と共に著しく増大した。実際、表面電荷密度について、G4($3.78 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$)は G1 ($1.01 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$) の約 3.7 倍にまで達していた。既に 2-3-2 で述べた通り、この表面電荷密度の飛躍的な増大は、末端アミノ基の数が分岐回数の増加によって指数関数的に増加していることに起因している。このことから、PAMAM デンドリマーの世代が大きくなるにつれて、その表面は DNA とより多点で静電相互作用できると考えられる。2-3-3 で述べた AFM 観察像から明らかとなった ctDNA の表面構造は、この多点静電相互作用の効果を反映している。AFM 観察像において、G1 では ctDNA の束が繊維状に基板表面に固定化されているが、G4 では基板表面で凝集体が観察された。2-3-6 で示した AFM の高さプロファイルから、表面粗さは G4 の系の方が G1 の系に比べて小さく、PAMAM デンドリマーの世代が高くなるにつれて多点静電相互作用の効果が大きくなり、ctDNA の基板からの局所的な剥離が抑えられていると考えられる。一方、3-3-1 で述べたように、**1-ctDNA/PAH/ITO** では **1-ctDNA/G4/ITO** に比べて **1** の積層量がほとんど変わらないにもかかわらず、光電流値が低かったという事実も、**1-ctDNA** の基板上における局所的な剥離のためであると考えられる。また、カチオン性末端を有するアミノエタンチオール塩酸塩 (AET) の SAM を固定相として、直接 **1-ctDNA** を固定化した系を構築した。その結果、**図 3-21** に示したように G4 を固定相とした場合よりも **1** の表面吸着量が低いことが確認された。この基板についてアクションスペクトル測定をおこなったところ、やはり G4 を固定相とした場合よりも非常に低い光電流値しか得られなかった (**図 3-22**)。加えて、440 nm における量子収率は G4 系 (1.1 %) の約 1/19 倍程度でしかなかった (0.07 %)。AET は非常に密にパッキングしていることから、末端のカチオン性部位の自由度は低い。つまり、DNA に対して実効的に相互作用できるカチオン性部位は G4 に比べて非常に少ないと考えられる。よって、AET を固定相とした系における量子収率は、AET の SAM 表面から DNA が局所的に剥離しているために低くなったことが示された。以上のことから、仮説 (2) において述べた、PAMAM デンドリマーの世代が高くなるにつれて **1-ctDNA** はほとんどが基板近傍に存在し、効率的に **1** から ITO 基板へ電子が起きたことが、「正のデンドリマー効果」の原因であると結論付けられた。

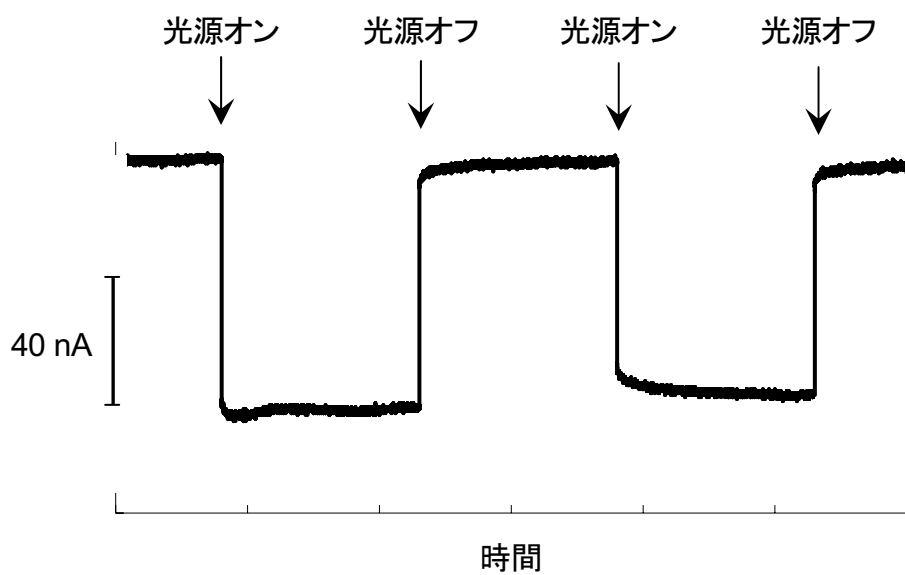


図 3-13. 1-ctDNA/G4/ITO における光電流応答プロファイル.

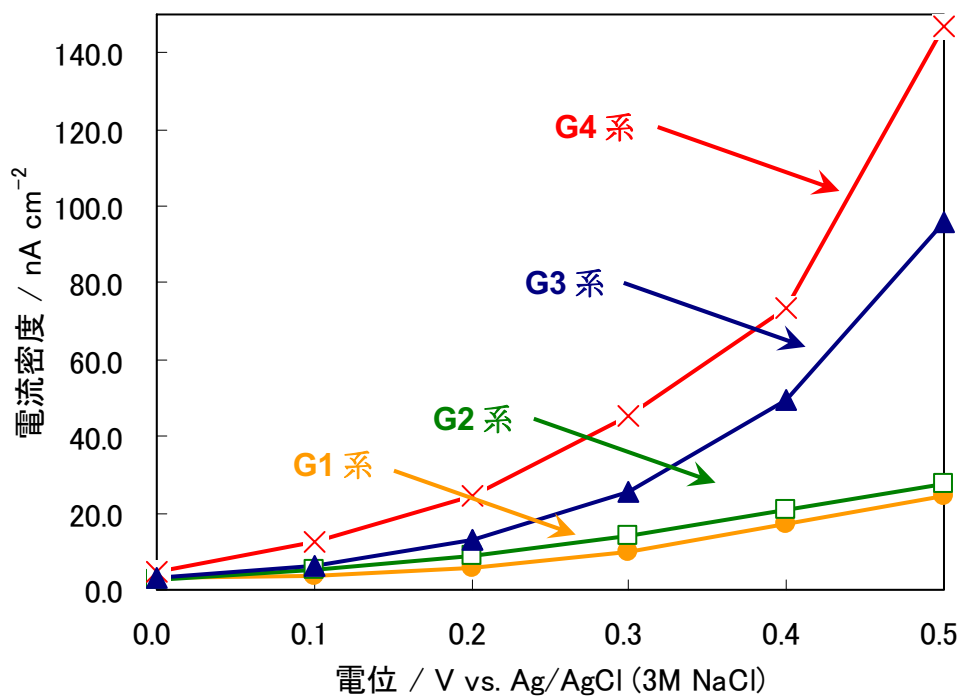


図 3-14. 各種光電変換素子における光電流の電位依存性; 参照電極: Ag/AgCl (3 M NaCl), 対極: 白金線, 照射波長: 440 nm (1.0 mW cm⁻²), アルゴン雰囲気下.

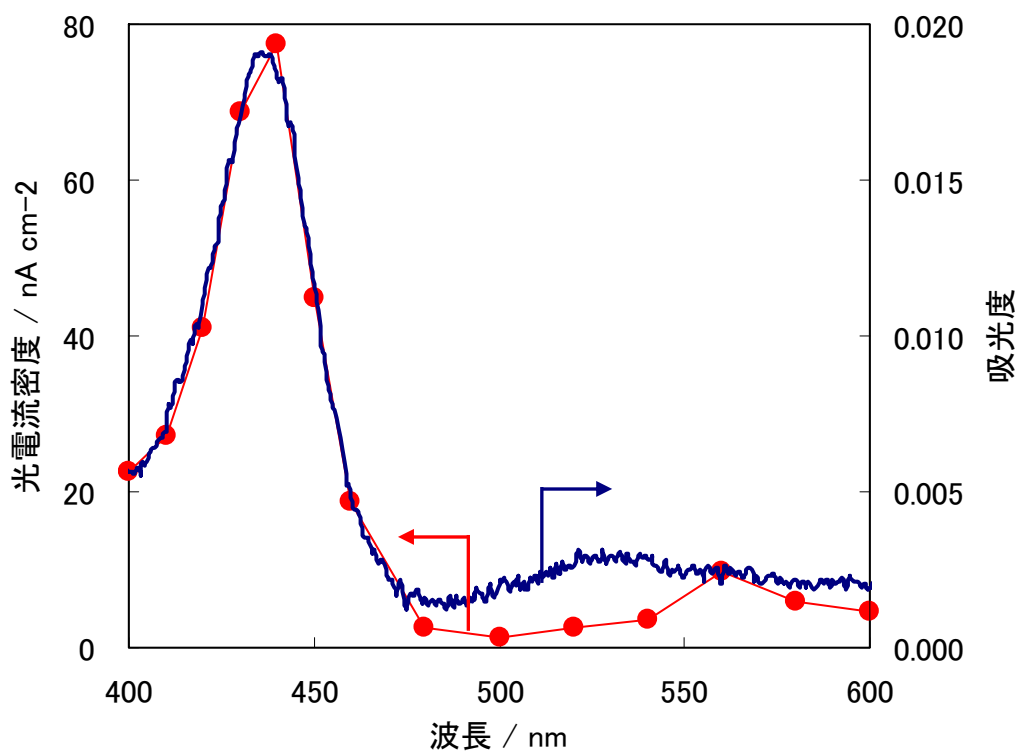


図 3-15. 1-ctDNA/G4/ITO におけるアクションスペクトルと紫外 - 可視吸収スペクトルの比較 ; 0.4 V vs. Ag/AgCl (3 M NaCl), 光量 = 1.0 mW cm⁻², アルゴン雰囲気下.

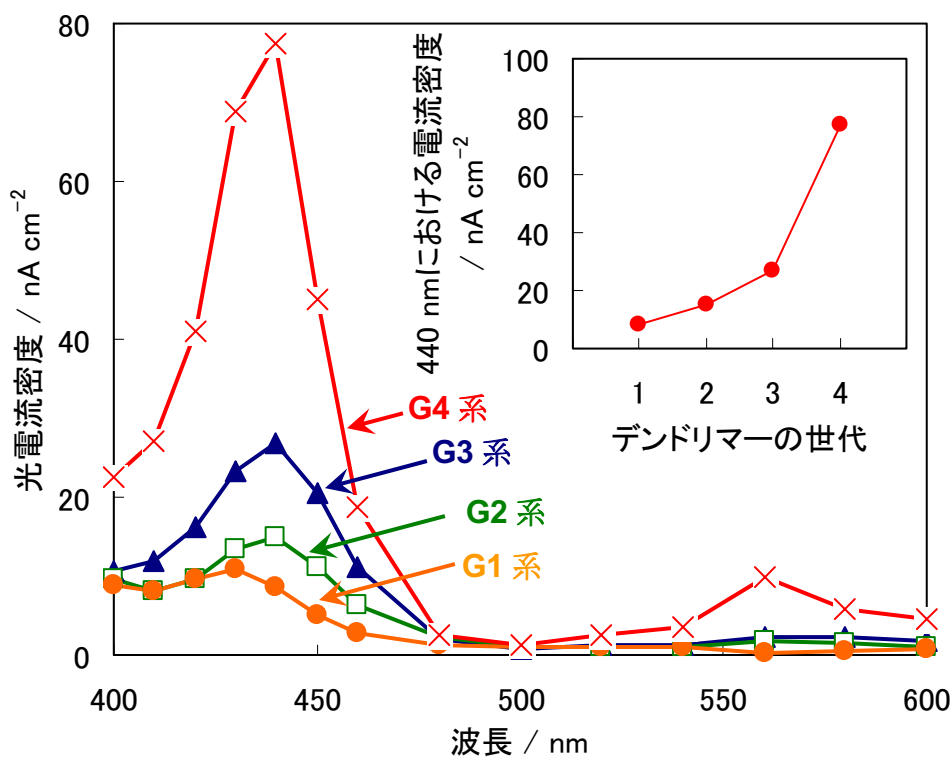


図 3-16. 固定相に用いた PAMAM デンドリマーの世代による光電流値の差 ; 0.4 V vs. Ag/AgCl (3 M NaCl), 光量 = 1.0 mW cm⁻², アルゴン雰囲気下.

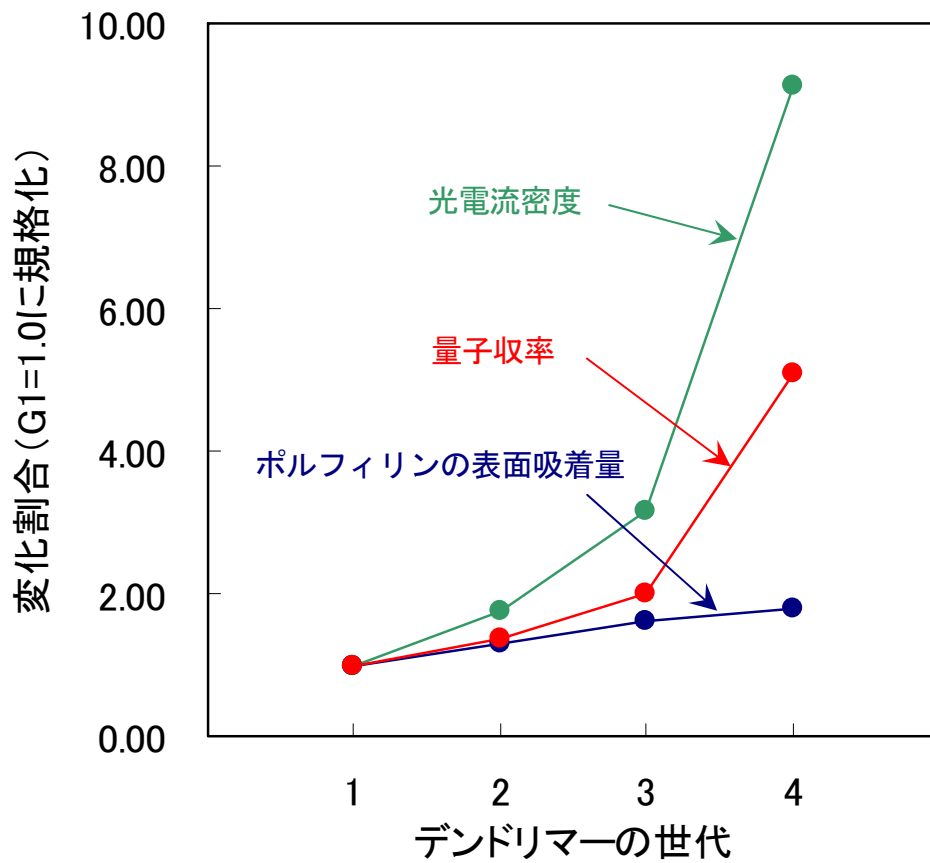


図 3-17. デンドリマーの世代に対する 440 nm における 1 の表面吸着量, 光電流密度, および量子収率の変化割合.

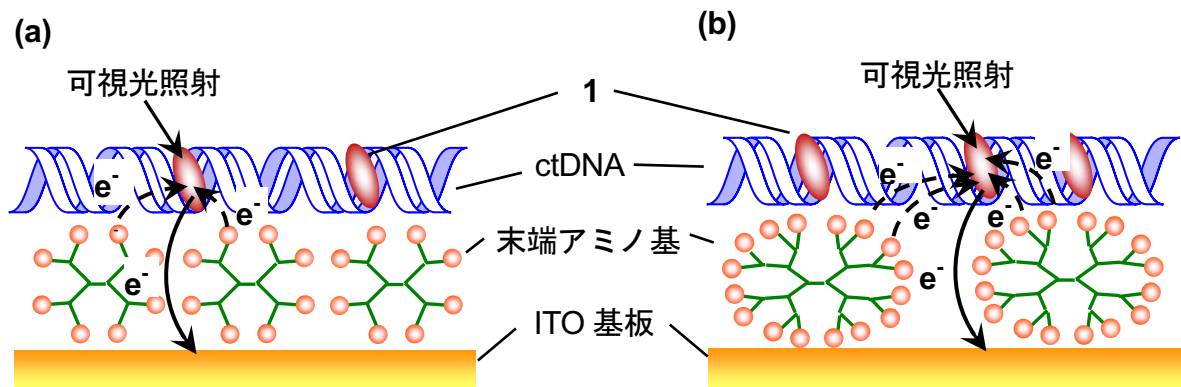


図 3-18. (1) の模式図 ; (a) 低世代の PAMAM デンドリマーを固定相にした場合, (b) 高世代の PAMAM デンドリマーを固定相にした場合.

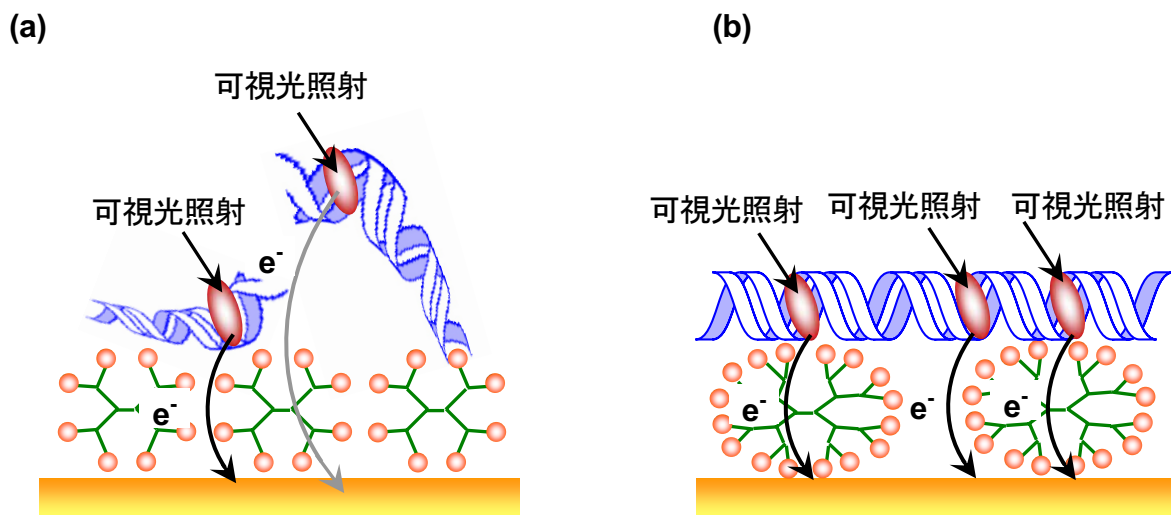


図 3-19. (2) の模式図 ; (a) 低世代の PAMAM デンドリマーを固定相にした場合, (b) 高世代の PAMAM デンドリマーを固定相にした場合.

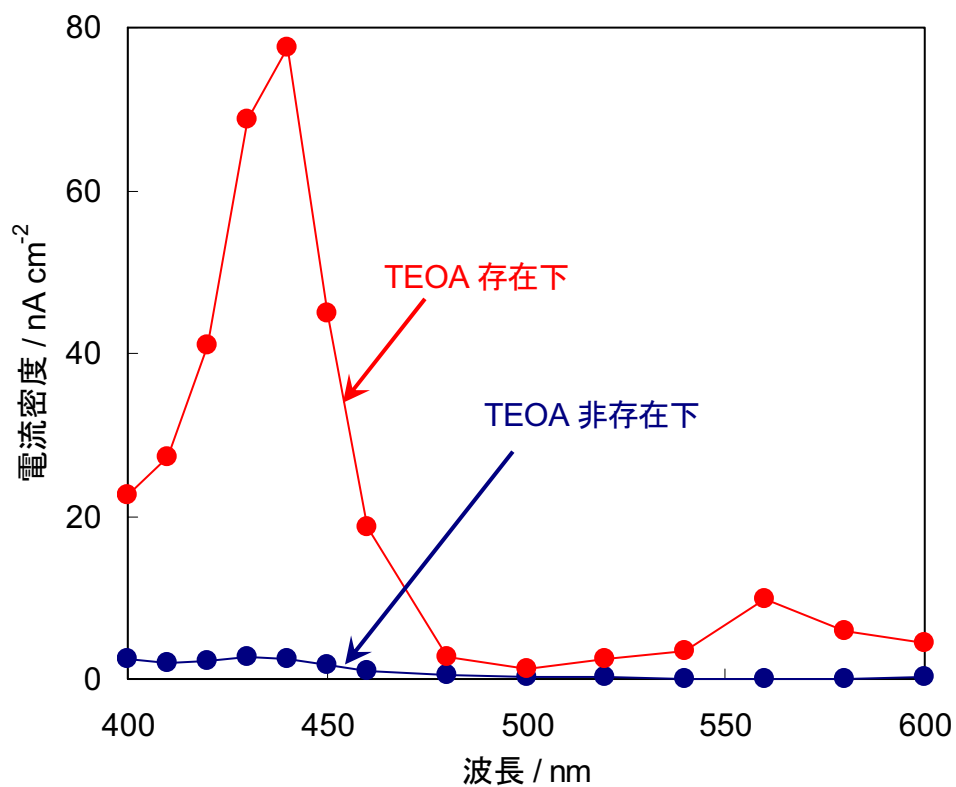


図 3-20. 犠牲試薬 (TEOA) 存在下と非存在下における 1-ctDNA/G4/ITO の光電流の比較 ; 0.4 V vs. Ag/AgCl (3 M NaCl), 光量 = 1.0 mW cm⁻², アルゴン雰囲気下.

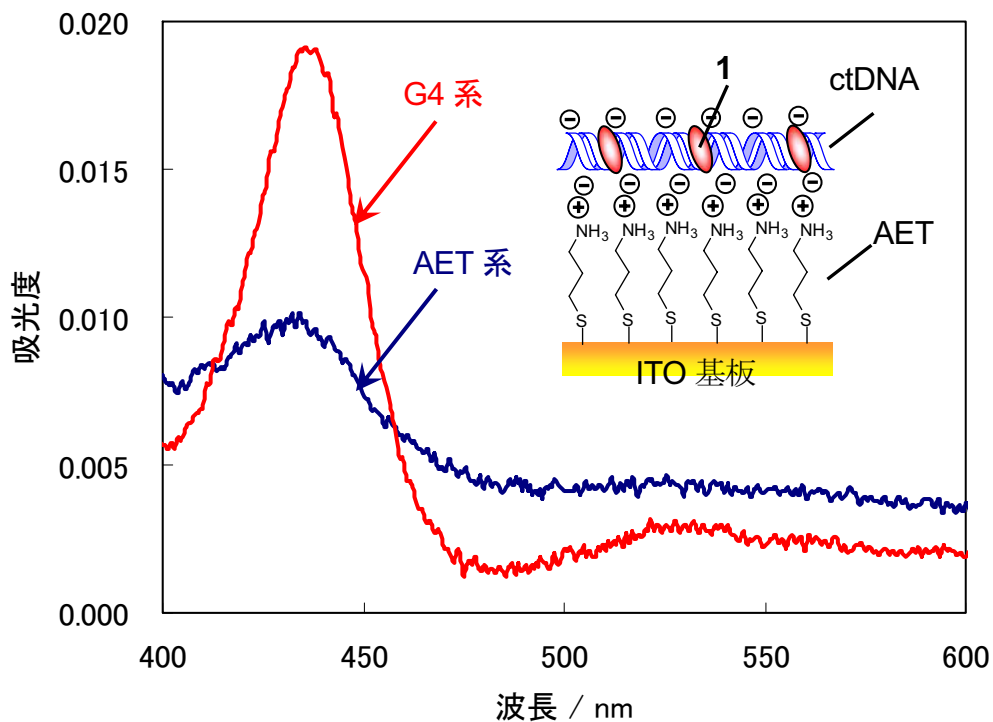


図 3-21. 1-ctDNA/G4/ITO および 1-ctDNA/AET/ITO における紫外-可視吸収スペクトル.

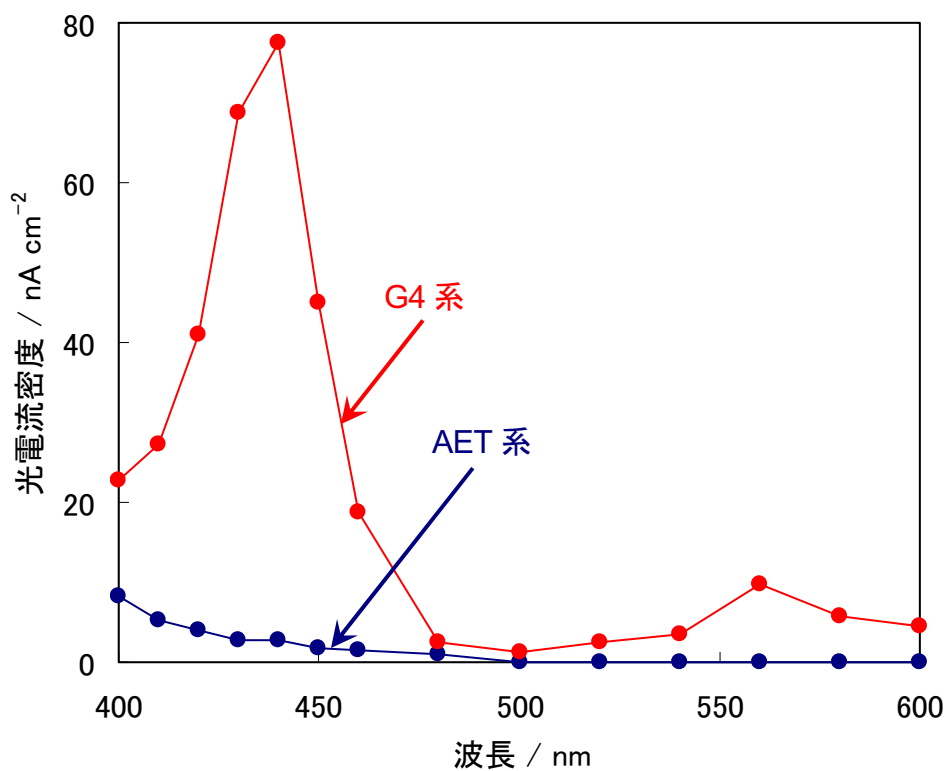


図 3-22. 1-ctDNA/G4/ITO および 1-ctDNA/AET/ITO におけるアクションスペクトル; 0.4 V vs. Ag/AgCl (3 M NaCl), 光量 = 1.0 mW cm⁻², アルゴン雰囲気下.

この「正のデンドリマー効果」は前述のように電荷密度の集積化の結果であるが、多点静電相互作用によって基板上の交互積層膜はある程度耐久性が向上していると期待される。そこで、電解質水溶液（0.1 M 硫酸ナトリウム，0.05 M TEOA）に室温で浸漬させたときの光電流の変化について、G4 および PAH を固定相とした 1-ctDNA 系で比較検討した。

光電流測定セルに固定した基板について、測定後そのまま室温で放置し、10 時間後に再度光電流測定をおこなった。その結果、光電流値は G4 系ではわずかな減少が見られたのみであったのに対し、PAH 系においては半分以下にまで減少した。この結果から、固定相である PAMAM デンドリマーによる多点静電相互作用によって、予想通り交互積層膜が安定化されていることが明らかとなった。

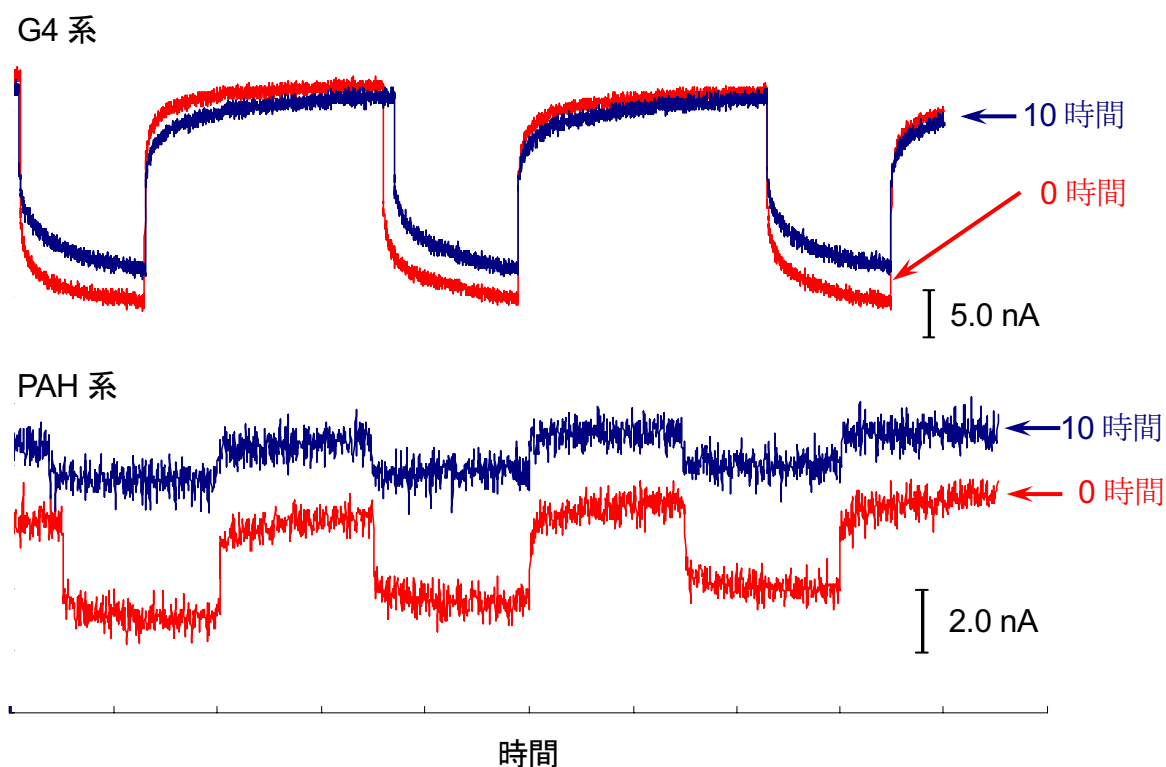


図 3-23. 電解質水溶液中（0.1 M 硫酸ナトリウム，0.05 M TEOA）における 1-ctDNA/G4/ITO および 1-ctDNA/PAH/ITO 光電流の変化；0.4 V vs. Ag/AgCl (3 M NaCl), $\lambda = 440 \text{ nm}$ (光量 = 1.93 mW cm^{-2}), アルゴン雰囲気下.

3-3-3. ctDNA の光電流に及ぼす影響についての評価

これまで、交互積層法による光電変換素子の調製に広く用いられてきた PVS は、**1** を積層するのに妥当であると考えられてきた。**1** - PVS 間は、単純な静電相互作用によって安定化されている。これに対して本研究では、PVS ではなく、生体高分子である ctDNA 上に **1** を積層した。**1** - ctDNA 間に働く相互作用力は、ctDNA 中のリン酸アニオンと **1** 中のメチルピリジニウムカチオン間の静電相互作用だけでなく、ctDNA 中の主溝や副溝、塩基対に **1** の疎水性部位（ポルフィリン環）が挿入される疎水性相互作用がある。この二つの相互作用の結果、均一溶液中における **1** と ctDNA の会合定数は、これまで表 3-6 に示したような値が報告されており、その値はイオン強度が増加するにつれて減少するが⁷⁾、低い塩濃度では大きな会合定数を持っている。本研究における溶液条件（りん酸緩衝液, pH7.0）でも同等の会合定数があると考えられ、PVS と同様に安定に **1** を積層できると期待される。また、**1** の大部分が ctDNA 中の疎水場に取り込まれることによって、**1** 同士の自己会合を防ぎ、光照射時の励起種の失活を抑制することも期待できる。ctDNA 中における **1** について、項間交差による電子移動の結果生じた三重項状態の寿命は、ctDNA と錯化していないものに比べて長寿命になっていることが、以前に報告されている（表 3-6）⁸⁾。この三重項状態の長寿命化の原因は、ctDNA の主溝や塩基対間などの疎水場に取り込まれた **1** が、他の分子と衝突しにくくなるからである。実際、液中の酸素による失活は、ctDNA に取り込まれることによって抑制されることが明らかになっている。一方で、本研究の光電変換素子において、三重項遷移は **1** - 電極間の電子移動に関わりはなく、一重項励起状態のみが関わってくる。しかし、分子同士の衝突確率の低下は、一重項の寿命に対しても寄与すると考えられる。

表 3-6. 各種条件下における **1**-ctDNA 間の会合定数.

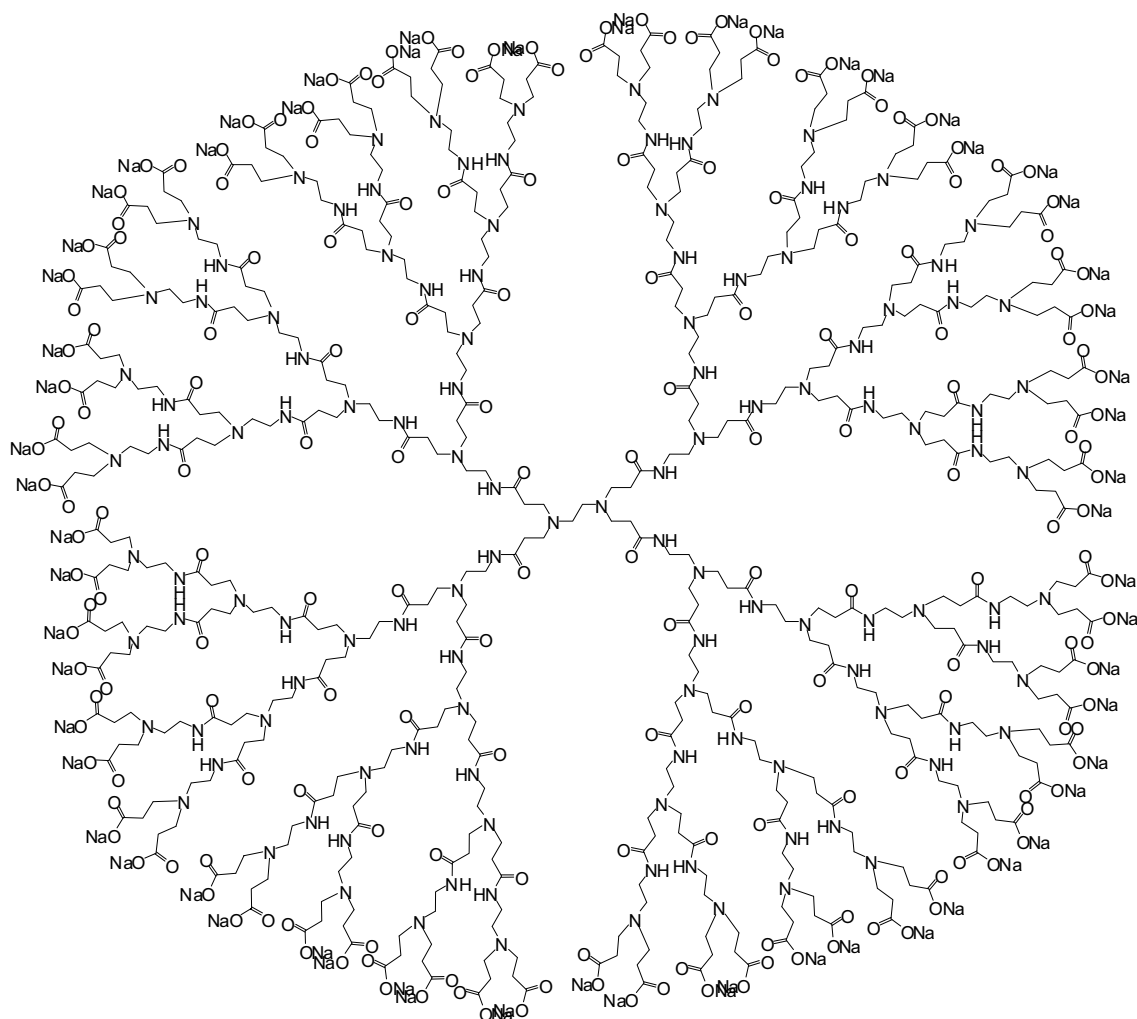
pH	μ / M	塩の種類	会合定数 / M^{-1}	参考文献
6.8	0.2	BPES	1.1×10^7	9)
6.8	0.5	リン酸緩衝液 (NaCl, EDTA を含む)	1.2×10^4	7)
7.4	0.2	Tris-HCl (NaCl を含む)	$1.0 (\pm 0.2) \times 10^7$	10)
6.8	0.5	リン酸緩衝液	$2.22 (\pm 0.08) \times 10^4$	11)
7.4	0.15	Tris-HCl (NaCl を含む)	1.3×10^6	12)

表 3-7. **1** 及び **1**-ctDNA の光物理特性⁸⁾.

試料	三重項状態形成の量子収率 $\phi_T / \%$	三重項励起寿命 $\tau / \mu s$
1	85	2.0
1 -ctDNA	77	4.5, 18.0

以上の点を踏まえ、ctDNAの光電変換素子材料としての、PVSに対する優位性を示すため、**1**-ctDNA/G4/ITO 及び **1**-PVS/G4/ITO について光電流測定を行い、それらの量子収率を比較した。また、ポリマーを用いることの有効性を示すため、DNA や PVS を介することなく、アニオン性表面を有する PAMAM デンドリマー-G3.5 (スキーム 3-1) を用いて直接 **1** を固定化した系 (**1**-G3.5/ITO) についても比較検討した (図 3-19)。G3.5 は 64 のカルボン酸末端を持ち、分子サイズは G4 とほとんど変わらない。

スキーム 3-1



PAMAM デンドリマー (G3.5)

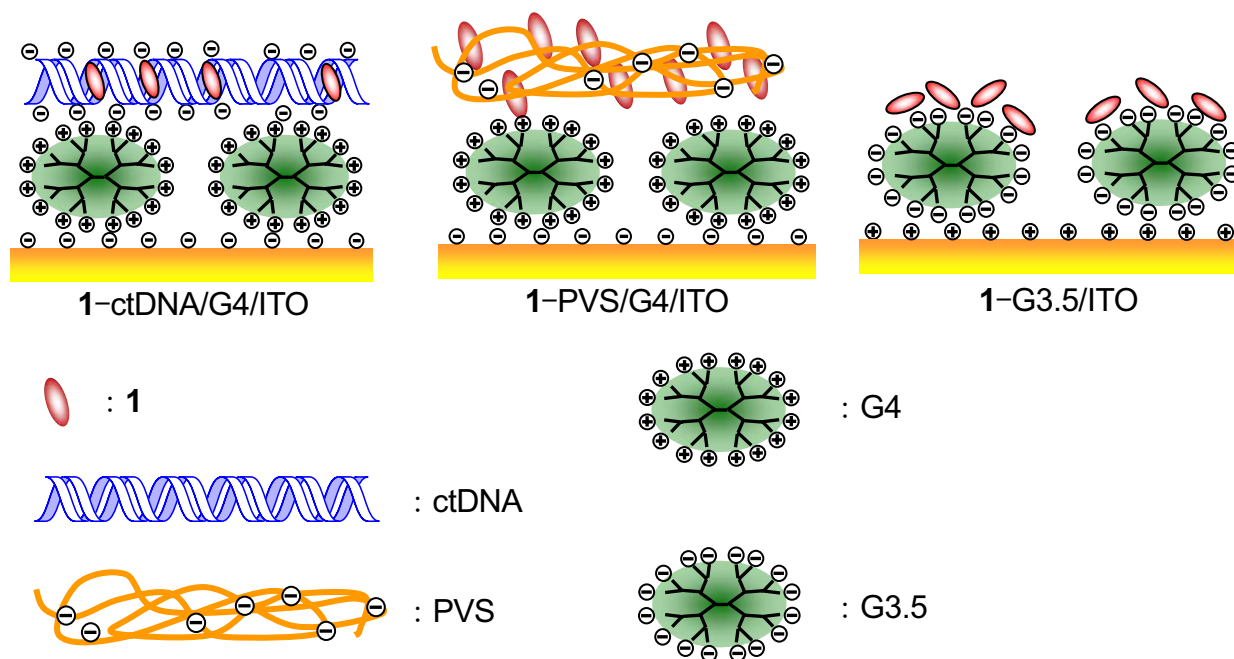


図 3-24. 1-ctDNA/G4/ITO, 1-PVS/G4/ITO および 1-G3.5/ITO の模式図.

光電流測定の結果を図 3-25 に示した。1-ctDNA/G4/ITO、1-PVS/G4/ITO、および 1-G3.5/ITO のどの系についても、印加電圧の増加と共に光電流値の増大が見られた。測定範囲において、1-ctDNA/G4/ITO の光電流値は 1-PVS/G4/ITO や 1-G3.5/ITO に比べて高く、その値の差は印加電圧の増加と共に大きくなった。この光電流値をもとに、量子収率を計算すると、図 3-26 に示したような値が得られた。2 章で述べたように、1-PVS/G4/ITO における 1 の積層量は 1-ctDNA/G4/ITO に比べて約 3 倍大きかったが、光電流値は逆に 1-ctDNA/G4/ITO (73.7 nA cm^{-2} at 0.4 V) の約 $1/3$ 倍 (21.5 nA cm^{-2} at 0.4 V) と低かった。また 1-G3.5/ITO において、1 は自己会合してソーレー帯がブロードニングしているため正確な積層量は決定できないが、ソーレー帯の極大吸収波長の吸光度は 1.34×10^{-2} 程度であり、1-ctDNA/G4/ITO の吸光度 (1.85×10^{-2}) と比べてそれほど低い値ではなかった。これらの結果から量子収率を計算すると、1-PVS/G4/ITO と 1-G3.5/ITO の量子収率は同じであり (0.1% at 0.4 V)、1-ctDNA/G4/ITO の量子収率 (1.1% at 0.4 V) に比べて著しく小さい値となっていることが明らかとなった (表 3-8, 図 3-26)。交互積層法で調製された PVS の膜厚は、約 0.7 nm であることが既に示されている¹³⁾。一方、ctDNA の膜厚は明らかではないが、一般的に B 型 DNA の二重らせんの幅は約 2.0 nm であることから、ctDNA が基板上に横たわって形成されていると考えられる ctDNA 膜の膜厚も 2.0 nm 前後と推察できる。すなわち、PVS と ctDNA の両者の膜厚を考えたとき、PVS の膜厚の方が ctDNA よりも薄く、より基板近傍に 1 が積層されている。通常は基板により近くなれば、電極への電子移動が起こりやすいと期待される。しかし、それにも関わらず、1-PVS/G4/ITO における光電流の発生効率がこのように低いのは、膜厚の薄さ

を打ち消すほど強い負の要因が **1**-PVS/G4/ITO に存在しているからである。負の要因とは、**1** の積層状態が、**1**-PVS/G4/ITO において自己会合を起こしていることであると考えられる。同様に、**1**-G3.5/ITO においても、G3.5 表面で **1** 同士が自己会合しているため、量子収率が低下したと推察される。自己会合を起こせば、光励起された **1** 同士の間で失活が起こりやすくなる。それに対して、**1**-ctDNA/G4/ITO における **1** は、ctDNA の疎水場(主溝, 副溝, 塩基対間)に存在している。2 章で検討した紫外 - 可視吸収スペクトル測定の結果から、ある程度孤立化していることが明らかとなっている。また、QCM 測定の結果からも、**1**-ctDNA/G4/ITO 中の **1** は ctDNA の積層量の約 1/10 であることから、ctDNA5 塩基対に 1 分子の割合で錯化していることが明らかとなった。つまり、分子同士の接触の機会が **1**-ctDNA/G4/ITO ではほとんどないため、**1**-G3.5/ITO や **1**-PVS/G4/ITO に比べて **1**-ctDNA/G4/ITO は電子移動がより効率的に起こったと結論できる。

表 3-8. 印加電圧 0.4 V における **1**-ctDNA/G4/ITO , **1**-PVS/G4/ITO 及び **1**-G3.5/ITO の量子収率.

	440 nm の吸光度 / $\times 10^{-2}$	0.4 V における光電流密度 / nA cm^{-2}	量子収率 ϕ / %
PVS	4.46	21.5	0.1
G3.5	1.34	12.4	0.1
DNA	1.85	73.7	1.1

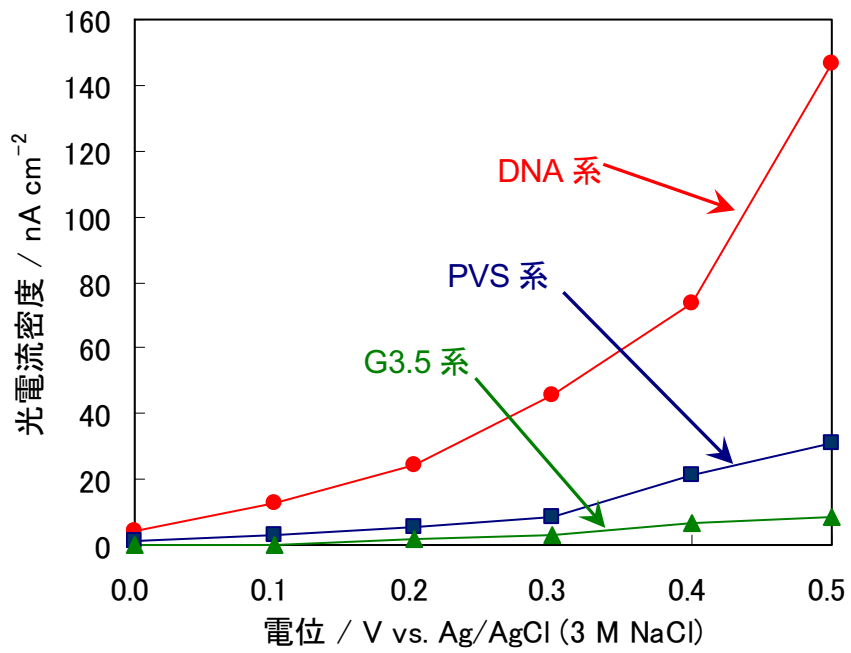


図 3-25. 1-PVS/G4/ITO と 1-ctDNA/G4/ITO における光電流の電位依存性.

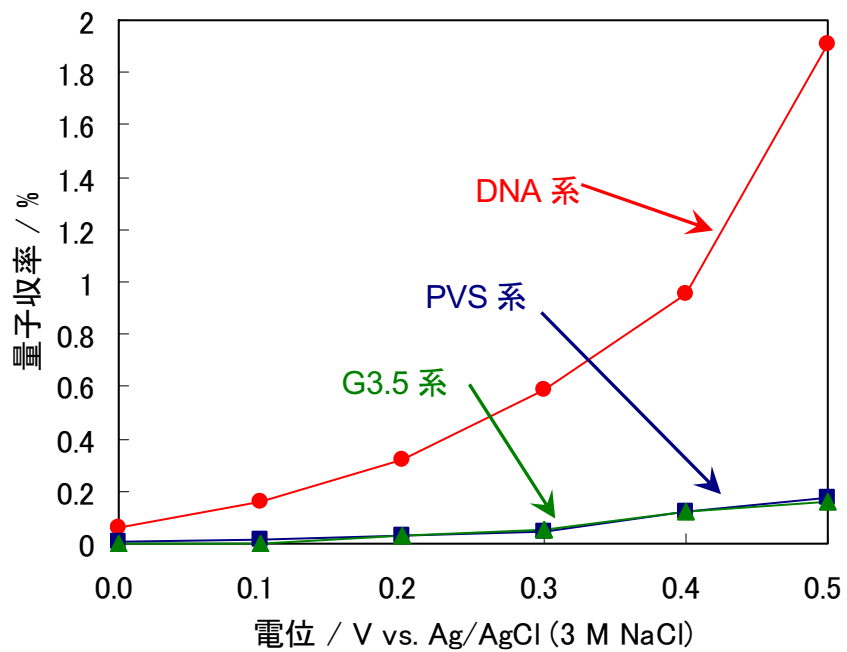


図 3-26. 1-PVS/G4/ITO と 1-ctDNA/G4/ITO における量子収率の変化曲線.

3-4. 結論

本章では、2 章で調製した基板についての光電変換素子としての機能評価を行った。それらの光電変換素子について、1 以外の膜組成と量子収率を以下の表に示した。表 3-9 から明らかなように、世代の高い PAMAM デンドリマーは、直鎖状カチオン性ポリマーである PAH よりも、高い量子収率が得られた。このことは、光電変換素子において、PAMAM デンドリマーが直鎖状ポリマーよりも有効な固定相であることを示している。また、DNA と PVS の比較において、DNA 系の量子収率は PVS 系の量子収率の約 10 倍にも達していた。このことから、DNA が PVS よりも 1 を固定化するのに適していることが示された。また G4 系における量子収率は、過去のポルフィリン単層膜系と比べて、それほど遜色のない値であった。

表 3-9. 光電変換素子の量子収率 [印加電圧 = 0.4 V vs. Ag/AgCl (3 M NaCl), 照射光波長 = 440 nm] .

	G1	G2	G3	G4	PAH	SAM
DNA	0.2 %	0.3 %	0.4 %	1.1 %	0.2 %	0.06 %
PVS	-	-	-	0.1 %	-	-

これらの光電変換素子のうち、PAMAM デンドリマーを固定相としたものについて着目したとき、固定相である PAMAM デンドリマーの世代が増加するに伴って光電流が指数関数的に増加する現象、つまり「正のデンドリマー効果」が確認された。一方で 1 の積層量は、固定相である PAMAM デンドリマーの世代が増加するにつれて、線形性のある増加しか示してなかった。すなわち、1 の積層量の増加が、光電流の増加の主な原因ではないということが示された。そこで、次の二つの仮説をたてて、「正のデンドリマー効果」の原因について検討した。

(1) 固定相に用いた PAMAM デンドリマー中のアミン部位が、犠牲試薬として作用した。PAMAM デンドリマーのアミン部位は世代と共に飛躍的に増加するため、犠牲試薬からの電子を受容する確率が増えて自己失活が減り、光電流値が著しく増加した。

(2) 低い世代の PAMAM デンドリマーを固定相にした場合、PAMAM デンドリマーの ctDNA に対する相互作用点（末端アミン部位）が少ない。その結果 1-ctDNA は十分に固定されておらず、基板から局所的に剥離した状態で積層されている。そのため、1 からの電子移動が十分に起こらない。しかし、高い世代の PAMAM デンドリマーを固定相とした場合はより相互作用点が多く、1-ctDNA が剥離することなく固定できる。その結果 1-ctDNA はほとんどが基板近傍に存在し、効率的に 1 から ITO 基板へ電子が起きるため、光電流値が増加した。

この二つの仮説について、光電流測定及び2章で述べた QCM 測定、AFM 観察結果などから検討した。その結果、PAMAM デンドリマーが犠牲試薬として作用することはなく、ctDNA との相互作用部位が増加することによって、基板からの ctDNA の局所的な剥離を抑制する作用が、光電流の増加を促したということが明らかとなった。この多点静電相互作用によって交互積層膜を安定化させることができることを、光電流測定から確認した。

また、**1**-ctDNA/G4/ITO と **1**-PVS/G4/ITO、**1**-G3.5 /ITO の光電流測定の比較から、**1**-ctDNA/G4/ITO が最も効率よく光電流を発生することが明らかとなった。その結果から、直鎖状アニオン性ポリマーを用いるより、ctDNA を用いて **1** を固定化の方が **1** の孤立化を促すことが示された。つまり、ctDNA による光電変換反応の高効率化を達成することができた。

3-5. 参考文献

- 1) 中嶋直敏 編著, 『超分子科学 ナノ材料の創製に向けて』, 化学同人 (2004) .
- 2) Y. Wang and X. Hu, *J. Chem. Phys.*, **117**, 1 (2002).
- 3) 斉藤博・今井和明・大石正和・澤田孝幸・鈴木和彦 著, 『入門 固体物性 基礎からデバイスまで』, 共立出版株式会社 (1997) .
- 4) H. Yamada, H. Imahori, Y. Nishimura, I. Yamazaki, and S. Fukuzumi, *Chem. Commun.*, 1921 (2000).
- 5) P. M. R. Paulo and S. M. B. Costa, *J. Phys. Chem. B*, **109**, 13928 (2005).
- 6) W. Chen, D. A. Tomalia, and J. L. Thomas, *Macromolecules*, **33**, 9169 (2000).
- 7) R. J. Pasternack, E. J. Gibbs, and J. J. Villafranca, *Biochemistry*, **22**, 2406 (1983).
- 8) N. N. Kruk, B. M. Dzhagarov, V. A. Galievsky, V. S. Chirvony, P.-Y. Turpin, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **42**, 181 (1998).
- 9) R. J. Fiel, J. C. Howard, E. H. Mark, and N. D. Gupta, *Nucleic Acids Res.*, **6**, 3093 (1979).
- 10) M. A. Sari, J. P. Battioni, D. Dupré, D. Mansuy, and J. B. Le Pecq, *Biochemistry*, **29**, 4205 (1990).
- 11) D. H. Tjahjono, T. Akutsu, N. Yoshioka, and H. Inoue, *Biochim. Biophys. Acta*, **1472**, 333 (1990).
- 12) T. Jia, Z.-X. Jiang, K. Wang, and Z.-Y. Li, *Biophys. Chem.*, **119**, 295 (2006).
- 13) Y. Lvov, G. Decher, and H. Möhwald, *Langmuir*, **9**, 481 (1993).

第4章 結言

本研究では、基板上に交互積層膜を構築する際に PAMAM デンドリマーを固定相として用いることで、基板上における表面電荷の集積化とそれに伴う膜耐久性の向上を目指した。その評価方法として、光電変換素子を用いた。光電変換素子は、外部刺激によって出力される光電流が鋭敏に変化する、つまりセンサーとしての性質がある。本系では、PAMAM デンドリマーを固定相として、交互積層法によって **1**-ctDNA 膜を ITO 基板上に構築し、固定相である PAMAM デンドリマーが光電変換素子の機能に及ぼす影響について検討した。

第2章では、PAMAM デンドリマー (G1~G4) を固定相とした **1**-ctDNA の ITO 基板上への固定化、及び比較として G4 を固定相とした **1**-PVS の ITO 基板上への固定化を行った。

PAMAM デンドリマーの基板上への積層において、世代の増加に伴って積層量 (mol cm^{-2}) は減少していくが、表面電荷密度は増加していくことが QCM 測定から明らかとなった。この表面電荷密度の増加は、PAMAM デンドリマーの末端アミノ基が、世代に伴って飛躍的に増加していくことを反映している。PAMAM デンドリマーを固定相として ctDNA を積層した場合、その積層量は PAMAM デンドリマーの表面電荷密度を反映していることが QCM 測定から明らかとなった。また AFM 観察像から、G1 を固定相とした場合には、ctDNA が束状となって基板上に積層されていることが明らかになった。さらに、G4 を固定相として用いた場合、ctDNA は基板上で凝集した形状となっている様子が観察された。過去の報告において、PAMAM デンドリマーの世代が増加すれば、PAMAM デンドリマーの DNA に対する吸着領域が大きくなり、均一溶液中で DNA の凝集を促すことが知られている。AFM 観察によって得られた PAMAM デンドリマーの世代による ctDNA の凝集体構造の確認は、基板上においても均一溶液中と同様の挙動を示した結果であると考えられる。

ITO 基板上への **1**-ctDNA/PAMAM/ITO において、紫外 - 可視吸収スペクトルのソーレー帯の極大吸収波長 (438 nm) が均一溶液中の最大吸収波長 (422 nm) に比べて約 16 nm 長波長シフトしていることから、**1** が ctDNA へインターカレートしていることが示された。また、**1** の積層量は固定相である PAMAM デンドリマーの世代が増加するにつれて増加することが吸光度の増加から明らかとなった。加えて、ソーレー帯の吸収領域はどの PAMAM デンドリマーを固定相としたものについても同一であったことから、固定相によって **1** の微視的環境における構造の差異はあまりないと結論された。

1-PVS/G4/ITO の紫外 - 可視吸収スペクトル測定におけるソーレー帯の吸収領域が ctDNA の系に比べて広がったことから、**1** は PVS 上で自己会合していることが示された。この結果から逆に、**1**-ctDNA 中では **1** はある程度孤立化していることが示された。

第3章では、第2章で調製した **1**-ctDNA/PAMAM/ITO 及び **1**-PVS/G4/ITO の光電流測

定を行った。また、PAMAM デンドリマーの効果を明らかにするために、直鎖状カチオン性ポリマーを固定相とした **1**-ctDNA/PAH/ITO の光電流測定を行った。

1-PVS/G4/ITO の光電流値は、**1**-ctDNA/G4/ITO に比べて非常に低かった。これは、**1**-ctDNA において **1** が孤立化されており、光励起された **1** の自己失活が抑制された結果であると考えられる。このことから、直鎖状アニオン性ポリマーよりも、疎水場に **1** を取り込むことで孤立化できる **1**-ctDNA/PAMAM/ITO が有効であることが示された。

1-ctDNA/PAMAM/ITO について、印加電圧を 0.0 - 0.5 V の範囲において光電流測定を行った。その結果、どの **1**-ctDNA/PAMAM/ITO においても、印加電圧の増加と共に光電流値の増加が観測された。この光電流測定の結果から、最も大きな光電流が得られ、かつ電極上の **1** の剥離や劣化が起こらない印加電圧は 0.4 V であると判断し、印加電圧 0.4 V においてアクションスペクトル測定を行った。**1** の紫外 - 可視吸収スペクトルにおけるソーレー帯の極大吸収波長 (438 nm) と、アクションスペクトルのピークトップ (440 nm) がほぼ一致したことから、観測された光電流は **1** の光励起にもとづくものであることが明らかになった。ここで注目すべきことに、固定相に用いた PAMAM デンドリマーの世代の増加と共に、光電流値が大幅に増加した。紫外 - 可視吸収スペクトルから求めた **1** の積層量が直線的な増加であるのに対し、440 nm における光電流は指数関数的に増加した。固定相である PAMAM デンドリマーの世代の増加に伴った光電流の著しい増加が、**1** の積層量の増加と一致しないことから、光電流の増加の原因は単純な光活性種の増加だけによるものではないことが示された。この「正のデンドリマー効果」の要因として、次の二つの仮説をたてて検討した。

(1) 固定相に用いた PAMAM デンドリマー中のアミン部位が、犠牲試薬として作用した。PAMAM デンドリマーのアミン部位は世代と共に飛躍的に増加するため、犠牲試薬からの電子を受容する確率が増えて自己失活が減り、光電流値が著しく増加した。

(2) 低い世代の PAMAM デンドリマーを固定相にした場合、PAMAM デンドリマーの ctDNA に対する相互作用点 (末端アミン部位) が少ない。その結果 **1**-ctDNA は十分に固定されておらず、一部基板から剥離した状態で積層されている。そのため、**1** からの電子移動が十分に起こらない。これに対して、高い世代の PAMAM デンドリマーを固定相とした場合はより相互作用点が多く、強い相互作用力で **1**-ctDNA を固定できる。その結果 **1**-ctDNA はほとんどが基板近傍に存在し、効率的に **1** から ITO 基板へ電子が起きるため、光電流値が増加した。

まず、犠牲試薬である TEOA を含まない電解質水溶液中において **1**-ctDNA/G4/ITO 光電流測定を行うことで、(1) について検討した。その結果、TEOA を含まない系はほとんど光電流が観測されず、PAMAM デンドリマーが犠牲試薬として作用していないことが確認された。

(2) については、2 章に述べた QCM 測定及び AFM 観察結果から考察した。QCM 測定において、PAMAM デンドリマーの基板上における表面電荷密度が PAMAM デンドリマ

一の世代と共に著しく上昇することから、PAMAM デンドリマーは上に積層される分子と多点で静電相互作用できると考えられる。実際、AFM 観察像において、PAMAM デンドリマー上の ctDNA は、PAMAM デンドリマーの世代の増加に伴って凝集体を形成していた。したがって、基板上における ctDNA/PAMAM 複合体は、PAMAM デンドリマーの世代と共に多点で相互作用し、剥離しにくくなっている。

さらにこの結果を支持する結果として、PAMAM デンドリマーに比べて多点で静電相互作用しない直鎖状ポリマーを用いた **1-ctDNA/PAH/ITO** との比較が挙げられる。**1-ctDNA/PAH/ITO** の光電流値は、**1** の積層量が **G4** を固定相とした系と同じ程度であるのにも関わらず非常に低く、**G1** を固定相とした系とほとんど変わらなかった。このことから、PAMAM デンドリマーによる多点静電相互作用が、基板から剥離することなく **1-ctDNA** を ITO 基板上に固定化し、結果として光電流発生を促進したことが支持された。

以上のことから、仮説 (2) が正の「デンドリマー効果」の原因であると結論された。

本研究で得られた知見は、PAMAM デンドリマーが物質の固定相、つまりナノサイズの接着剤として有効に作用すること示すものである。しかも、電極への電子移動が十分に行えるほど薄く、シート状の構造となり、分子間及び分子 - 電極間の距離を短く出来ることが特徴である。今後、PAMAM デンドリマー中に電子ドナーとなる部位を挿入することで光電変換素子の性能の向上が可能である。また、DNA を剥離することなく基板上に固定化できることから、DNA チップやその他生体分子を検出対象としたセンサーへの応用も考えられる。また、固定相である PAMAM デンドリマー中にフラーレンのような電子受容体を挿入することで、光電変換効率の向上も可能である。このように、基板上におけるデンドリマー効果は、交互積層法を用いた分子デバイス構築に広く活用できるものであると期待できる。

謝辞

本研究を行うにあたり、終始丁寧なご指摘、ご指導を賜りました、奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科 菊池純一 教授に深く感謝致します。

また、本研究全般にわたって、熱心にご指導頂きました、奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科 池田篤志 助教授、同 佐々木善浩 助手、同 橋詰峰雄 助手に深く感謝致します。

さらに、丁寧かつ的確な助言を賜りました奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科 河合壯 教授、同 垣内喜代三 教授ならびに柳久雄 教授に厚く御礼申し上げます。

研究生活全般にわたって苦楽を共にした諸先輩方、同輩諸氏、後輩諸君に感謝致します。

最後に、研究活動に対して理解し、多大な支援をしていただいた家族に感謝致します。

論文目録

学位論文の主たる部分を公表した論文

Shin OGASAWARA, Atsushi IKEDA, and Jun-ichi KIKUCHI, “Positive Dendritic Effect in DNA/Porphyrin Composite Photocurrent Generators Containing Dendrimers as the Stationary Phase”, *Chem. Mater.*, **18**, 5982 (2006).

参考論文

Atsushi IKEDA, Youichi TSUCHIYA, Toshifumi KONISHI, Shin OGASAWARA, and Jun-ichi KIKUCHI, “Photocurrent-boosting by Intramembrane Electron Mediation between Titania Nanoparticles Dispersed into Nafion-Porphyrin Composites”, *Chem. Mater.*, **17**, 4018 (2005).