

平成23年1月31日

## 鈴木健二博士の業績紹介

独立行政法人 理化学研究所  
前田バイオ工学研究室  
専任研究員 細川和生

この小文では故・鈴木健二博士が理化学研究所前田バイオ工学研究室において行った研究のうち、主要なものを紹介する。鈴木さんがこの研究室に在籍した期間は二つに分かれているが、ここでは前半の3年間（2005年4月から2008年3月まで）に基礎科学特別研究員として行った仕事を時間軸に沿って説明する。後半のさきがけ研究者としての仕事は開始から1年ほどで闘病のため中断し、途中ごく短期間の復帰はあったものの、基本的には研究を再開できずに鈴木さんは帰らぬ人となってしまった。痛恨の一語に尽きる。

### 微細 DNA パターンの転写・縮小技術の開発

基板上に DNA 分子を固定化する際、その領域を微細に制御できれば、DNA チップの作製はもとより、いわゆるボトムアップ型のナノ加工などに応用が期待できる。マイクロコンタクトプリンティング ( $\mu$ CP) はそうした技術の一つであり、多くの研究がなされている。 $\mu$ CP では、微細加工したシリコーンゴムをスタンプとして、凸部に付着した DNA を目的の基板上に転写する（無論 DNA 以外にも応用可能である）。ゴムの弾性を利用することで、元のパターンを縮小して転写する  $\mu$ CP も既に報告されていた。

この研究では転写される側の基板にもシリコーンゴムを採用し、それを新しいスタンプとして次の段階の転写に使う（2代目以降のスタンプに凸部は必要ない）。各ステップで縮小操作を行うことで、オリジナルよりもはるかに微細な DNA パターンが得られる。実験では56%に縮小する転写を5回繰り返して、オリジナルのパターン寸法を5.3%にまで縮小することができた。面白いのは、縮小せずにこうした転写を繰り返した場合は、急激にパターンが薄くなってしまうことである。本法では縮小に伴う濃縮効果を巧妙に利用して、繰り返し転写を実現している。

（文献）Kenji Suzuki, Kazuo Hosokawa, Mizuo Maeda, Exponential size reduction of chemical patterns using repetitive microcontact printing, *Proc. Micro Total Analysis Systems 2006*, pp.19-21, Tokyo, Japan.

### 脂質二重層コート微粒子を用いた生体膜分子の電気泳動

膜タンパク質は重要な機能を持つものが多いにもかかわらず、可溶性タンパク質に比べ

て理解が進んでいない。膜タンパク質を分離・精製する統一的な手法がないことがその一因である。近年、膜タンパク質をリン脂質二重層 (LBL) 中でネイティブ状態のまま電気泳動する分離手法が提案されている。ただし実際の実験では、取り扱い容易な荷電リン脂質を生体膜分子のモデルとして用いている研究例が多い。これまでの方法では、平面基板上に形成された LBL で電気泳動を行うため、少量の生体膜分子しか分離できない上に、分離後の回収も困難であり、分析以外の目的に応用できる可能性は乏しかった。

この研究は上記生体膜分子の電気泳動法を拡張して、調製目的に応用できる道筋をつけたものである。LBL を平面基板上に形成するのではなく、ガラス微粒子表面上に形成した後、それら微粒子をガラス管内に充填して一種のカラムを作り、その中で荷電リン脂質を電気泳動した。微粒子を使うことで LBL の面積が立体的に増加するので、多量の生体膜分子が分離でき、さらに分離後の回収も容易である (微粒子ごと回収する)。本法の成否にぎる鍵は、隣接した微粒子間で LBL が融合して、カラム全域にわたって繋がるかという問題にあった。実際にそうなることが本研究で初めて見出された。

(文献) Kenji Suzuki, Kazuo Hosokawa, Mizuo Maeda, Electrophoresis of membrane-associated molecules in packed beds of bilayer-coated particles, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1542-1543.

#### 金ナノ粒子表面に固定化する DNA 分子の数および位置の制御

1996年 *Nature* 誌に2報の論文が同時掲載された。いずれも DNA 分子を固定化した金ナノ粒子 (AuNP) に関するもので、以後この材料が盛んに研究されることとなった。面白いことに、後続の研究は大部分がセンシングへの応用で、最初の2報がテーマとしていたボトムアップ型のナノ加工はさほど進展していない。問題は DNA を AuNP に複雑な配置で精密に固定化する技術である。DNA 分子数の制御だけなら簡単で、反応した AuNP を電気泳動して目的のバンドを回収すればよい。ただしこの方法では DNA 分子の位置は制御できない。逆に DNA の位置だけをラフに制御する方法も存在し、たとえば AuNP を一時的に平面基板上に吸着させれば、およそ半球面だけに DNA を固定化することができる。

この研究で提案したのは、AuNP 表面上に DNA をその分子数と位置を両方制御しつつ固定化する技術である。概略の手順を述べると、まず固定化する DNA の他に鋳型となる DNA を用意し、事前にそれらをハイブリダイズさせて剛性を持った構造体を作る。次にその構造体を AuNP 表面に固定化した後、温度を上げて鋳型 DNA だけを取り除く。実験では直径30 nm の AuNP に2本の異なる DNA 分子 (33塩基) を固定化した。結果を評価するためにそれら DNA を別の AuNP で標識し、電子顕微鏡で観察した。得られた AuNP の3量体は大部分が設計通りの構造を持っていた。一方、鋳型 DNA を用いずに行った対照実験では、標識用 AuNP の位置が全くランダムであった。以上の結果により、鋳型 DNA を用いるというアイデアの正しさが証明できた。

(文献) Kenji Suzuki, Kazuo Hosokawa, Mizuo Maeda, Controlling the number and positions of oligonucleotides on gold nanoparticle surfaces, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7518-7519.