

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K12521

研究課題名(和文) DNAナノ構造のマイクロ界面制御によるプログラマブルで動的な細胞型分子ロボット

研究課題名(英文) Dynamical cell-like molecular robots with programmability based on the control of DNA nanostructures on microinterface

研究代表者

瀧ノ上 正浩 (Takinoue, Masahiro)

東京工業大学・情報理工学院・准教授

研究者番号：20511249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、DNAナノ構造による分子機能制御とマイクロ流体工学による流体界面制御による細胞型分子ロボットの創製と制御を目指した研究を行った。DNAオリガミによる機能性の両親媒性DNA分子ナノデバイスをマイクロ油中水滴の界面に自己組織化させて細胞型分子ロボットを構築できた。期間全体を通じた研究により、分子センシングや自律的な運動などの機能を含めた、プログラマブルに、動的な機能をもつ細胞型分子ロボットを構築する基礎技術ができた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we studied the construction of cell-like molecular robots. The molecular robots were made of DNA nanostructures produced by bottom-up assembly of designed DNA, and the molecular robots were produced on an oil-water interface controlled by microfluidic technology. Here, the function was constructed with designed nanometer-sized DNA, which was usually generated by DNA origami technology. The DNA nanodevices were functionalized into amphiphilic molecules and were self-assembled on the oil-water interface of microdroplets. Finally, we developed some basic methods to programmably construct dynamical molecular robot with functions such as molecular sensing, self-propelled motions, etc.

研究分野：生物物理学，分子ロボティクス，DNAナノテクノロジー，マイクロ流体工学

キーワード：分子ロボット 人工細胞 DNAナノテクノロジー DNAオリガミ マイクロ油中水滴 マイクロ流体デバイス

1. 研究開始当初の背景

生命システムに見られる自己組織化や自律性を備えた現象の原理を解明し、それらの機能を模倣した人工システムを構築することは、科学的・工学的に重要な目標である。このような観点から、近年、生体分子を利用した分子ロボットの構築が盛んに行われている。分子ロボットは、自律的な運動や環境応答・情報処理ができる動的で機能性のある分子システムである。特に、細胞様の高機能なシステムを目指した膜小胞型の分子ロボット（人工細胞とも呼ばれる）が注目されている。人工的な細胞膜（脂質二重膜）の小胞に DNA ナノデバイスやタンパク質で機能を付与するのが一般的だが、脂質という単純な分子を利用しているため膜の性質としては非常に単純であり、機能は限定的である。さらに高度なシステムを構築することが求められている。また、自律的な運動機能の付与も重要となってくる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生命システムに見られるような、動的な自己組織化分子システムを設計・創製・制御するための革新的な技術の創出である。具体的には、DNA ナノ構造によるボトムアップ型の分子機能制御とマイクロ流体工学によるトップダウン型の流体界面制御により、機能性の DNA 分子ナノデバイスをマイクロスケールに自己組織化させた「プログラマブルで動的な細胞型分子ロボット」の創製と制御を目指す。

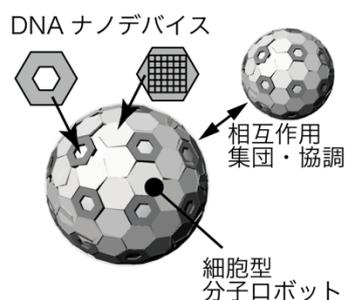


図 1. 細胞型分子ロボット

3. 研究の方法

本研究では、下記のような方法で研究を進めた。

(1) 細胞型分子ロボットの生成と機能付与

(1-1) 両親媒性 DNA ナノ構造の構築と細胞サイズ DNA 膜小胞の生成と制御

膜を構成する分子は、石鹸のように両親媒性がある。本研究では DNA（親水性）に疎水性の分子を結合することで実現した。数十塩基（数 nm）の短い化学合成 DNA と

疎水性分子を結合させただけでは親水・疎水のバランスが悪く安定な膜ができないので、DNA オリガミと呼ばれる 100nm 四方の巨大な板状の DNA ナノ構造に大量の疎水性分子を結合させた。この両親媒性 DNA ナノ構造を水・油混合液に混ぜて攪拌し、油中に水滴（エマルション）を生成させた。

(1-2) DNA 膜小胞に搭載する機能性 DNA

ナノ構造の構築と物性の評価・制御

膜小胞の基本的な性質は膜の分子透過性である。細胞膜はナノ孔タンパク質によって細胞内外の分子のやり取りを制御している。本研究ではナノ孔タンパク質を模倣した構造として両親媒性 DNA ナノ構造に孔のある構造を設計した。孔の物性は電気計測によって調べた。

DNA ナノ構造の一部を他の分子や光との応答（反応）で変形する構造にすることができる。この性質があると、環境応答したり、変形による運動が実現できたりする可能性がある。本研究では、このような分子を導入して顕微鏡によってダイナミクスを観察した。

(2) 自律的な運動機能の付与

次に、細胞型分子ロボットを含む、マイクロメートルサイズの物体の自律運動の方法を構築し、数理モデルも利用して解析した。マイクロメートルサイズの物体の運動には、化学反応を用いるもの、電気的なエネルギーを用いるものの 2 つを検討した。顕微鏡を利用して、運動をトラッキングするとともに、シミュレーションも実施した。

4. 研究成果

(1) 細胞型分子ロボットの生成と機能付与

(1-1) 両親媒性 DNA ナノ構造の構築と細胞サイズ DNA 膜小胞の生成と制御

研究の結果、DNA オリガミ技術によって構築した DNA ナノプレート構築して AFM 観察・電気泳動観察等によって物理化学特性の検証をおこなった。AFM 画像から、設計通りに DNA ナノプレートができていることが確認された。作製した DNA ナノプレートに疎水性分子を結合させて DNA ナノプレートの両親媒性化にも成功した。電気泳動観察によって、疎水性分子が結合できているであろうことが確認できた。両親媒性の DNA ナノプレートの作製と比較的高効率な回収手法の確立に成功し、それを用いて、油中水滴（ミネラルオイル中のマイクロ水滴）を安定化させることができることを実証した。界面張力測定によって、安定化の動的プロセスも確認できた。また、両親媒性化のために利用しているコレステロール分子数に依存して定量的に両親媒性の強さが増すことも確認した。さらに、界面に集積している DNA ナノプレートの界面上での動きやすさを、蛍光退色後回復測定法により調べた

ところ、動きがあまり見られず、しっかりと界面に集積していることも分かった。

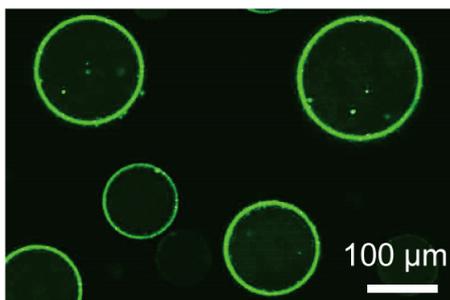


図2. DNA ナノプレートによる細胞型分子ロボット

(1-2) DNA 膜小胞に搭載する機能性 DNA ナノ構造の構築と物性の評価・制御

細胞型分子ロボットへの動的な挙動の付与を検討した。具体的には、外界の光や分子をセンシングする分子システムを膜に付与することを検討した。光の刺激によって、膜を構成する分子の構造が変わる分子を導入し、反応性があることを電気泳動等により確かめた。また、膜にナノスケールの孔を形成できる DNA 構造を混ぜることで、ナノスケールの孔の機能を実現した。孔の機能を調べるため、電気計測を行い、実際に孔が開いていることを確認できた。

さらに、DNA に光で切断する官能基を導入して、光に反応して DNA の疎水特性が変わることを確かめた。期間全体を通じた研究により、プログラブルに、動的な機能をもつ細胞型分子ロボットを構築する基礎技術ができた。

(2) 自律的な運動機能の付与

細胞型分子ロボットを含む、マイクロメートルの運動を実現させるために、化学反応のエネルギーを運動に変える方法を開発した。具体的には、ゲルでできたマイクロ粒子を非対称な構造にして、直線的・回転的な運動が実現できることを示した。

また、マイクロエマルションに電圧を印加することで、マイクロ物体の電気的な性質を変えて、方向性のある運動を得る方法を発展させた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① 黒川知加子, 柳澤実穂, 瀧ノ上正浩, “骨格で支えられた頑丈な人工細胞~DNA ナノテクノロジーによる精密設計”, 月刊化学, vol.73, no.1, pp.40-43 (2018), 査読無
 - ② Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Formation of DNA micro-skeleton structures in water-in-oil microdroplets”, Proc. microTAS, pp.159-160 (3C1-4), (2017), 査読有
 - ③ Daisuke Ishikawa, Yuki Suzuki, Chikako Kurokawa, Masayuki Ohara, Masamune Morita, Miho Yanagisawa, Ryuji Kawano, Masayuki Endo, Masahiro Takinoue, “Self-Assembled Microcapsule of Amphiphilic Janus DNA Nanoplates at the Water-Oil Interface”, Proc. microTAS, pp.116-117 (2C3-2), (2016), 査読有
 - ④ 瀧ノ上正浩, “生体内で働く分子ロボットの実現へ:情報媒体としての DNA 分子と DNA コンピューティング”, 情報管理(JST), vol. 60, no. 9, pp. 629-640 (2017), 査読無
 - ⑤ 石川大輔, 瀧ノ上正浩, “連載「DNA ナノテクノロジー」—構造をつくり, 計算し, ナノロボットを動かす—:第2回ナノテク材料としての DNA”, 現代化学, No.5, pp.48-53 (2016), 査読無
- [学会発表] (計 48 件)
- ① 土屋美恵, 石川大輔, 川野竜司, 瀧ノ上正浩, “光応答性 DNA オリガミの導入による細胞型分子ロボットの機能構築と解析”, 第1回分子ロボティクス年次大会, ポスター発表, 3月5-6日, 2018, 東北大学片平キャンパス, 宮城
 - ② 瀧ノ上正浩, “バイオソフトマターのナノ/マイクロ制御による人工細胞の構築”, 産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門・部門セミナー, 招待講演, 3月15日, 2018, 産業技術総合研究所つくば中央第二事業所, 筑波
 - ③ Masahiro Takinoue, “Artificial cell construction based on micro-scale control of bio soft matter”, Mini Workshop: New Frontiers of Supramolecular Chemistry in Non-equilibrium Systems, Invited Talk, January 11, 2018, Suzukake-dai campus, Tokyo Institute of Technology, Yokohama, Japan
 - ④ 瀧ノ上正浩, “温度冷却過程で油中水滴界面上で生成される DNA マイクロスケルトン構造”, Biothermology Workshop, 招待講演, 12月26日, 2017, 東京大学・本郷キャンパス, 東京
 - ⑤ 瀧ノ上正浩, “アクティブマテリアル研究としての人工細胞・分子ロボットの構築”, SMACTIVE マテリアルシンポジウム, 招待講演, 12月14日, 2017, 産業技術総合研究所つくば中央第二事業所, 筑波
 - ⑥ 瀧ノ上正浩, “細胞サイズの液滴界面での DNA ゲルの自己組織化とマイクロ相分離”, 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017), 招待講演, 3PW10-2 (ワークショップ:「サイズ」で斬る分子細胞生物学), 12月8日, 2017, 神戸ポートアイランド, 神戸
 - ⑦ 瀧ノ上正浩, “DNA ゲルマイクロカプセルのマイクロパターン形成の物理と分

- 子ロボット工学への応用 “, 第 78 回応用物理学会 秋季学術講演会, 招待講演, 5p-A203-6 (シンポジウム:最新動向:生体材料と先端デバイスをつなぐ学際的アプローチ), 9月5日, 2017, 福岡国際会議場, 福岡
- ⑧ Masahiro Takinoue, “Formation of DNA microcapsules and application to cell-like molecular robots”, 2nd Japan-Korea International Symposium on Cyborgnics: Integration between cell and electronics, Invited Talk, September 22, 2017, Ryotiku Bettei, Beppu City, Oita, Japan
- ⑨ Misato Tsuchiya, Daisuke Ishikawa, Yuki Suzuki, Masayuki Endo, Masahiro Takinoue, “DNA 分子ロボットのためのマイクロドロプレットの機械的安定性評価 (Evaluation of mechanical stability of microdroplet-based DNA molecular robots.)”, 第 55 回日本生物物理学会, ポスター発表, No. 1Pos209, 9月19-21日, 2017, 熊本大学黒髪北地区, 熊本
- ⑩ 土屋美恵, 石川大輔, 鈴木勇輝, 遠藤政幸, 瀧ノ上正浩, “両親媒性 DNA オリガミによるマイクロ油中水滴の画像解析による定量的安定性評価”, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 35 回研究会 (CHEMINAS35), ポスター発表, No. 1P28, 5月22-23日, 2017, 東京工業大学大岡山キャンパス, 東京
- ⑪ 早川雅之, 岸野友輔, 瀧ノ上正浩, “定常非対称ポテンシャルと排除体積効果により生じる自発運動の解析と数値モデルの構築” 第 26 回非線形反応と協同現象研究会, ポスター発表, No. P30, 12月10-11日, 2016, 明治大学中野キャンパス, 東京
- ⑫ Masahiro Takinoue, “Microfluidic droplet reactor for artificial/living cellular systems”, 第 54 回日本生物物理学会, 招待講演, No. 3SEA-03 (シンポジウム:多細胞合成生物学), 11月25-27日, 2016, つくば国際会議場, 茨城
- ⑬ Daisuke Ishikawa, Yuki Suzuki, Chikako Kurokawa, Masayuki Ohara, Misato Tsuchiya, Masamune Morita, Miho Yanagisawa, Ryuji Kawano, Masayuki Endo, Masahiro Takinoue, “プログラマブルな性質を有する DNA ナノプレートからなるマイクロカプセルの形成, Microcapsular compartments composed of programmable DNA nanoplates”, 第 54 回日本生物物理学会, ポスター発表, No. 1Pos121, 11月25-27日, 2016, つくば国際会議場, 茨城
- ⑭ Misato Tsuchiya, Daisuke Ishikawa, Yuki Suzuki, Masayuki Endo, Masahiro Takinoue, “両親媒性 DNA オリガミによる W/O マイクロエマルションの光応答性観察 (Photo-responsive water-in-oil microemulsion made of amphiphilic DNA origami.)”, 第 54 回日本生物物理学会, ポスター発表, No. 1Pos203, 11月25-27日, 2016, つくば国際会議場, 茨城
- ⑮ Masayuki Hayakawa, Yusuke Kishino, Masahiro Takinoue, “混み合い状況下におけるマイクロ粒子のラチェット輸送 (Ratchet transport of microparticles in crowded conditions.)”, 第 54 回日本生物物理学会, ポスター発表, No. 1Pos292, 11月25-27日, 2016, つくば国際会議場, 茨城
- ⑯ 石川大輔, 鈴木勇輝, 黒川知加子, 大原正行, 土屋美恵, 森田雅宗, 柳澤実穂, 遠藤政幸, 瀧ノ上正浩, “DNA ナノ構造体の油水界面集積によるマイクロカプセル形成”, 「細胞を創る」研究会 9.0, ポスター発表, No. P-57, 11月21-22日, 2016, 早稲田大学早稲田キャンパス・井深大記念ホール, 東京
- ⑰ 石川大輔, 鈴木勇輝, 黒川知加子, 大原正行, 森田雅宗, 柳澤実穂, 遠藤政幸, 瀧ノ上正浩, “疎水性を付与した DNA ナノプレートによるマイクロカプセル作製”, 「分子ロボティクス研究会」2016年6月 定例研究会, 口頭発表, 6月11日, 2016, 東京工業大学 田町キャンパス, 東京
- ⑱ 早川雅之, 岸野友輔, 瀧ノ上正浩, “ラチェット電場により引き起こされるマイクロビーズの集団運動”, 第 10 回自己組織化討論会, 6月25-26日, 2016, 山岸園, 静岡
- ⑲ 石川大輔, 鈴木勇輝, 黒川知加子, 森田雅宗, 柳澤実穂, 遠藤政幸, 瀧ノ上正浩, “油水界面を集積場として利用した DNA ナノ構造体のマイクロカプセル化”, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 33 回研究会 (CHEMINAS33), ポスター発表, No. 2P26, 4月25-26日, 2016, 東京大学生産技術研究所, 東京 (優秀研究賞受賞)
- ⑳ 瀧ノ上正浩, “バイオソフトマターのマイクロ制御による分子ロボティクス”, 理研シンポジウム「細胞システムの動態と論理 VII」, 招待講演, 4月14-15日, 2016, 理化学研究所 (和光), 埼玉

[図書] (計 0 件)
なし

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)
なし

○取得状況（計 0 件）

なし

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.takinoue-lab.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瀧ノ上 正浩 (TAKINOUE, Masahiro)

東京工業大学・情報理工学院・准教授

研究者番号：20511249

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

石川 大輔 (ISHIKAWA, Daisuke)

首都大学東京・大学院都市環境科学研究科・

特任助教

研究者番号：00722919

川野 竜司 (KAWANO, Ryuji)

東京農工大学・工学研究院・特任准教授

研究者番号：90401702

遠藤 政幸 (ENDO, Masayuki)

京都大学・物質-細胞統合システム拠点・准

教授

研究者番号：70335389

(4) 研究協力者

なし