

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2009

課題番号：19200023

研究課題名（和文）

分子計算の高精度化メカニズムとその評価系の構築

研究課題名（英文）

Mechanism of High-Precision Molecular Computing and its Evaluation

研究代表者

村田 智（MURATA SATOSHI）

東京工業大学・大学院総合理工学研究科・准教授

研究者番号：10334533

研究成果の概要（和文）：

本研究においては、DNA タイルを用いた分子計算の高精度化に向けて、いくつかの側面から研究開発に取り組んだ。まず、DNA タイルのセルフアセンブリによる分子計算プロセスの詳細なシミュレーションモデルを開発し、実験結果を精度よく説明することに成功した。また、T-motif と呼ばれる丁字型の DNA ナノ構造体用のモチーフが、基板上で平面拘束をうけながら品質の高い大規模平面に成長する現象を見出した。これをもとに基板上でのみ成長する新しいモチーフをいくつか設計し、同様の大規模成長が可能であることを実験により確認した。さらに 2 種の T-motif タイルによるアルゴリズムセルフアセンブリを基盤上で行って周期構造体を作製し、タンパク質分子を高精度配列させることに成功した。分子計算のための人工核酸の開発にも取り組み、汎用性の高いクロスリンカーとしてカルバゾールヌクレオシド(C^{NVK})を含む核酸の合成に成功し、各種の核酸構造物へ適用できることを見出した。作製時の環境制御技術として、マイクロ流体デバイス中に固定化した DNA を核として、段階的にセルフアセンブリを行う手法を開発し、蛍光測定による DNA 構造体のバルク評価を行った。

研究成果の概要（英文）：

In this project, aiming at realization of high-precision molecular computing, we have investigated several aspects of molecular computing system based on algorithmic self-assembly of DNA tile. 1) A simulation model capable to explain details of self-assembly process of DNA tile has been developed. 2) We found a new phenomenon called substrate-assisted self-assembly, which enables us to make a large 2D crystal on substrate surface with less error compared with conventional assembly method in free solution. We have succeeded in algorithmic self-assembly using two types of T-motif tile and applied it to fabrication of protein array. Artificial base called C^{NVK} is developed, and its usefulness to stabilize DNA nanostructures and to extend the varieties of DNA nanostructure is verified. Stepwise DNA self-assembly by using micro-fluidic device is also developed, and feasibility of bulk evaluation of DNA tile nanostructure with fluorescent measurement has been shown by the method.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	12,700,000	3,810,000	16,510,000
2008 年度	14,000,000	4,200,000	18,200,000
2009 年度	9,800,000	2,940,000	12,740,000
総計	36,500,000	10,950,000	47,450,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生命生体情報学

キーワード：DNA コンピュータ

1. 研究開始当初の背景

DNA タイルは、各タイル間の結合関係を DNA 分子の塩基配列設計によりプログラムすることが可能な分子計算素子であり、そのセルフアセンブリ(自己集合)過程がセルオートマトンによるさまざまな計算の過程に対応する。DNA タイルには粘着末端と呼ばれるほかのタイルと結合する部位が 4 つずつあり、タイル同士が一定のルールで結合(ハイブリダイズ)することにより望みの二次元パターンを作り出すことができる。すでに、単純な DNA タイルの集合体としては数百万タイル規模のものが得られており、その上の計算プロセスとしては、排他的論理和の繰り返し計算(シェルピンスキパターン)や二進加算計算(バイナリカウンタ)などのベンチマーク問題が、数百タイルから数千タイル規模で実装されている。

2. 研究の目的

これまでに行われた研究により、DNA タイルによる分子計算のいくつかの本質的な問題が明らかになってきている。すなわち(1)相補塩基対の結合は熱揺らぎに支配される統計熱力学的なプロセスであるため、欠陥のない結晶を得ることが難しい。(2)結晶化により多くの DNA 結晶断片が得られるが、ほとんどは意味のないランダム結晶片であり、正しい計算が行われている大きな結晶体の収率がきわめて低い(3)計算結果の読み出しは、原子間力顕微鏡(AFM)による直接走査像以外になく、手間がかかる上、再現性に乏しいことなどである。

本研究の目的は、これらの問題について、(1) DNA タイルの高精度計算メカニズム(2)マイクロ流体デバイスによる結晶化環境の精密制御(3) AFM を用いないバルク結晶欠陥評価技術を確立することである。

3. 研究の方法

DNA タイルのセルフアセンブリの高精度予測シミュレータの開発、エラーの少ない DNA タイルモチーフの設計、エラーが少なく、大規模な

DNA タイル結晶体を得るための環境制御技術、作製した DNA タイルのバルク評価技術の開発などの側面から、高精度の分子計算メカニズムの確立を目指す。

4. 研究成果

本研究における主な研究成果は以下のとおりである。

- DNA タイルのセルフアセンブリによる分子計算プロセスにおいて、各タイル種の濃度、温度などのパラメータを含む詳細なシミュレーションモデルにより、実際の DNA タイルによる実験結果(エラー率、成長速度、生成温度、分解温度等)を精度よく説明することができた。

- T-motif と呼ばれる T 字型の DNA ナノ構造体用のモチーフが、基板上で平面拘束をうけながら品質の高い大規模平面に成長する現象を見出した。これはこれまでに知られていない現象であり、DNA ナノ構造をデバイス等に応用する上で重要な知見である。さらに、この結果からの類推により、基板上でのみ成長する新しいモチーフをいくつか新規に設計し、同様の大規模成長が可能であることを実験により確認した。これにより、基板上成長に適した DNA モチーフの一般的設計条件が明らかになった。

- 2 種の T-motif タイルをもちいたアルゴリズムックセルフアセンブリにより得られた周期構造体にピオチン化 DNA をもちいてストレプトアビジンを高精度配列させることに成功した。

- 分子計算のための DNA モチーフ構築に向けて、汎用性の高いクロスリンカーとしてカルバゾールヌクレオシド(C^{NVK})を含む核酸の合成に成功した。さらにそれを発展させて、(1)ヘアピン構造の安定化への応用が可能であること、(2) RNA への操作へと拡張できることを見出した。これを、T-motif 構造体によるに適用し、光連結による安定化実験により耐熱性の向上が確認できた。

・マイクロ流体デバイス中に固定化した DNA を核として, DNA タイル成長のための種結晶を形成し, その周りに別の DNA タイルを含む溶液に置換することで段階的にセルフアセンブリを行う「ステップワイズ・セルフアセンブリ」の開発に取り組んだ. 作製した DNA 構造体のバルク評価として, 温度変化を加えた場合の結晶分解プロセスを蛍光量により間接的に測定することに成功した.

・ステップワイズ・セルフアセンブリの応用として, DNA を固定化したコロイド粒子(直径 1 μ m)および金ナノ粒子(直径 10nm)と微細加工(1 μ m 凹凸形状)を施したテンプレート基板を用い, 基板上で階層的にコロイド結晶を成長させる製作技術を考案し, 実際に2層のコロイド結晶の製作に成功した.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 17 件)

- ①Y. Yoshimura, H. Okada, K. Fujimoto
Photoreversible DNA end capping for the formation of hairpin sutuctures
Organic & Biomolecular Chemistry, 2010, 1523-526,査読有
- ②S. Hamada, S. Murata
Substrate-assisted assembly of interconnected single duplex DNA nanosutuctures
Angewandte Chemie (Int. Ed.) 48, 2009, 6820-6823,査読有
- ③K. Fujibayashi, S. Murata
Precise Simulation Model for DNA Tile Self-Assembly
IEEE Transactions on Nanotechnology, VOL.8, NO.3, 361-368, 2009,査読有
- ④K. Fujibayashi, D. Zhang, E. Winfree, S. Murata, Error suppression mechanisms for DNA tile self-assembly and their simulation,
Natural Computing, Vol.8, No.3, 589-612, 2009, 査読有
- ⑤Y. Yoshimura, T. Ohtake, Okada, K. Fujimoto
A new approach for reversible RNA photocrosslinking reaction: application to sequence-specific RNA selection
ChemBioChem,2009, 1473-1476,査読有
- ⑥村田 智
DNA 分子を素材とするナノ構造の作成技術
化学工業, 60-1, 2009, 1-5,査読無
- ⑦Kotaro Somei, Shohei Kaneda, Teruo Fujii and Satoshi Murata
Stepwise Assembly of DNA Tile on Surfaces
Lecture Notes on Computer Science, LNCS4848, 2008, 182-190,査読有
- ⑧K. Fujibayashi, R. Hariadi, S. Park, E. Winfree, S. Murata
Toward Reliable Algorithmic Self-Assembly of DNA Tiles: A Fixed-Width Cellular Automaton Pattern
NanoLetters, 8-7, 2008, 1791-7,査読有
- ⑨S. Hamada, S. Murata
T-motif: A Novel Non-crossover Motif for DNA Nanostructures
Proc. Foundation of NanoScience (FNANO 2008), 2008, 163,査読有
- ⑩Takahiko Nojima*, Takatoki Yamamoto, Hiroshi Kimura and Teruo Fujii
Polymerase chain reaction-based molecular logic gate coupled with cell-free transcription-translation as a reporter
Chemical Communications, 2008, 3771-3773,査読有
- ⑪Takahiko Nojima*, Hiroshi Kimura and Teruo Fujii
Cell-free protein synthesis conducted by template DNA with repetitive sequence
Chemistry Letters, 2008, 648-649,査読有
- ⑫Masayuki Ogino, Yuuta Taya and Kenzo Fujimoto
Highly selective detection of 5-methylcytosine using photochemical ligation
Chemical Communications, 2008, 5996-5998,査読有
- ⑬Yoshinaga Yoshimura and Kenzo Fujimoto
Ultrafast Reversible Photocrosslinking Reaction: Toward in Situ DNA Manipulation
Organic Letters, 2008, 3227-3231,査読有
- ⑭Takahiko Nojima, Shohei Kaneda and Teruo Fujii
On-chip capillary electrophoresis fractionation of DNA construct for cell-free protein expression
Chemistry Letters, 36-11, 2007, 1346-1347,査読有

⑮村田 智
DNA タイルのプログラム自己集積
日本結晶成長学会誌, 34-2, 2007,51-55,査読有

⑯Takahiko Nojima, Shohei Kaneda and Teruo Fujii
Application of on-chip capillary electrophoresis to cell-free preparation of recombinant DNA
Nucleic Acids Chemistry Symposium Series,51,2007, 87-88,査読無

⑰Shinzi Ogasawara, Takehiro Ami and Kenzo Fujimoto
Parallel Processable Light-driven DNA Logic Gate
Nucleic Acids Symp. Series, 51, 2007, 235-236, 査読有

[学会発表] (計 36 件)

①堀内浩太, 瀧ノ上正浩, 竹内昌治, 村田智
DNA マイクロカプセルの開発
第 22 回自律分散システムシンポジウム, 2010 年 1 月 30 日, 名古屋大学

②堀内浩太, 瀧ノ上正浩, 竹内昌治, 村田 智
DNA マイクロカプセルの開発
計測自動制御学会システム・情報部門学術講演会 SSI2009, 2009 年 11 月 26 日, 東京工業大学

③西本智史, 村田 智
DNA ナノ構造の基板上成長
計測自動制御学会システム・情報部門学術講演会 (SSI2009), 2009 年 11 月 26 日, 東京工業大学

④木村良範, 金田祥平, 藤井輝夫, 村田 智
DNA を用いたフォトニック結晶の階層的結晶成長制御
計測自動制御学会システム・情報部門学術講演会 (SSI2009), 2009 年 11 月 26 日, 東京工業大学

⑤村田 智
バイオナノエンジニアリングへの招待
計測自動制御学会システム・情報部門学術講演会 (SSI2009), 2009 年 11 月 26 日, 東京工業大学

⑥浜田省吾, 村田 智
自己集合モチーフによる DNA ナノ構造の作製技術～DNA タイルとその周辺～
計測自動制御学会システム・情報部門学術講演会 (SSI2009), 2009 年 11 月 26 日, 東京工業大学

⑦西本智史, 村田 智
DNA ナノ平面構造の任意位置への成長
結晶成長学会, 2009 年 11 月 12 日, 名古屋大学

⑧堀内浩太, 瀧ノ上正浩, 竹内昌治, 村田 智
アルギン酸ゲルビーズを用いた DNA マイクロカプセルの構築
細胞を創る研究会, 2009 年 10 月 2 日, 東京大学

⑨Y. Yoshimura, T. Ohtake, H. Okada, K. Fujimoto
Development of a rapid and reversible photocrosslinking of RNA
The Sixth International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, 2009 年 9 月 28 日
Takayama Public Cultural Hall

⑩藤本健造, 岡田孟, 大竹智子, 竹村有美子, 小笠原慎治
光応答性を有する核酸誘導体によるプログラマブルなナノシステムの創製(招待講演)
高分子討論会 2009, 2009 年 9 月 17 日, 熊本大学

⑪S. Murata, S. Nishimoto, S. Hamada
New Motifs for DNA Nanostructures (Invited talk)
International Conference on Materials for Advanced Technologies 2009 (ICMAT2009) Symposium M: DNA Nanoscience and Biophysics, 2009 年 6 月 29 日, Suntec Singapore Int'l Convention and Exhibition Centre

⑫藤本健造
光を用いた DNA/RNA 操作法の開発と応用(招待講演)
第 2 回ナノバイオ若手ネットワークシンポジウム, 2009 年 6 月 23 日, 関西セミナーハウス

⑬T. Ami, Y. Yoshimura, T. Matsuzaki, K. Fujimoto
Photochemical ligation of DNA probe prepared in click chemistry
The 26th International Conference of Photopolymer Science and Technology, 2009 年 6 月 1 日, Chiba Univ.

⑭堀内浩太, 村田 智
分子ロボティクスのための DNA 膜システムの構築
第 19 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 2009 年 5 月 28 日, 広島大学

⑮林中輝雄, 浜田省吾, 村田 智
基板成長に適した DNA 平面構造の設計
第 21 回自律分散システムシンポジウム, 2009 年
1 月 22 日, とりぎん文化会館(鳥取)

⑯村田 智
DNA 分子のプログラマブルな結晶化(招待講
演)
学習院大学計算機センター特別プロジェクト「結
晶成長の数理」第 3 回研究会, 2008.12.26, 学習
院大学

⑰野島高彦, 山本貴富喜, 木村啓志, 藤井輝
夫
Fluorescent green logic
第 11 回生命化学研究会, 2008 年 11 月 28 日
(金)-29 日(土), 水上館 (群馬県みなかみ町)

⑱浜田省吾, 村田 智
核酸を用いた新規構造体モチーフの設計
第 20 回自律分散システムシンポジウム, 2008 年
1 月 24-25 日, 長野, 上諏訪温泉

⑲村田 智
DNA ナノ構造のアルゴリズム結晶成長(招待
講演)
結晶成長国内会議 NCCG-38, 2008.11.4, 仙
台戦災復興記念館

⑳金田祥平, 野島高彦, 山本貴富喜, 藤井輝
夫
オンデマンド型微量液滴ハンドリングデバイスに
よる PNA プローブ法を用いた DNA 一塩基置換
検出の高速化
第 25 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」
シンポジウム, 2008 年 10 月 22 日(水)-24 日(金),
沖縄県宜野湾市沖縄コンベンションセンター(沖
縄県野湾市)

㉑Shohei Kaneda, Takahiko Nojima, Takatoki
Yakamoto, Teruo Fujii
A droplet on demand microfluidic device for
detecting DNA single base substitution using
PNA probe
The 12th International Conference on
Miniaturized Systems for Chemistry and Life
Sciences (microTAS2008), 2008 年 10 月 12 日
-16 日, San diego, California, USA

㉒S. Murata
Self-Assembly of DNA Nanostructures (招待講
演)
SAINT Seminar, 2008.10.9, SKKU(ソウル)

㉓S. Murata
Computing with DNA tiling (プレナリートーク)
International Workshop on Natural Computing
(IWNC 2008), 2008.9.23, 横浜国立大学

㉔野島高彦, 山本貴富喜, 木村啓志, 藤井輝
夫
PCR に基づく生化学ロジックゲート
第 3 回バイオ関連化学合同シンポジウム, 2008
年 9 月 18 日(木)-20 日(土), 東京工業大学す
ずかけ台キャンパス (神奈川県横浜市)

㉕村田 智
DNA タイルとその周辺(招待講演)
第 3 回バイオ関連化学合同シンポジウム生体機
能関連シンポジウム 若手フォーラム, 2008.9.17,
東工大すずかけ台

㉖村田 智
DNA タイルの自己組織化(招待講演)
日本結晶生長学会, 第 33 回結晶成長討論会,
2008.9.11, 秋保温泉(仙台)

㉗Yoshinaga Yoshimura, Genki Ozaki, Kenzo
Fujimoto
Development of template-directed reversible
DNA photocrosslinking
Joint Symposium of 18th International
Roundtable on Nucleosides, Nucleotides, and
Nucleic Acids and 35th International Symposium
on Nucleic Acid Chemistry, 2008 年 9 月 10 日,
Kyoto University

㉘金田祥平, 野島高彦, 山本貴富喜, 藤井輝
夫
DNA 増幅と遺伝子発現にもとづくロジックゲート
構築のこころみ
第 17 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会
(17th CHEMINAS), 2008 年 5 月 20 日(火)-21
日(水), 九州大学馬出キャンパス (福岡県福岡
市)

㉙S. Murata
Self-Assembly of DNA tiles –Measurement,
Simulation and Error Suppression (招待講演)
Bionano Symposium, 2008.5.7, 東工大すずか
け台

㉚網健裕, 吉村嘉永, 荻野雅之, 藤本健造
光クロスリンク反応による高感度遺伝子多型解
析
第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本
生化学会大会合同大会, 2007 年 12 月 11 日, パ
シフィコ横浜

①浜田省吾, 村田 智
核酸を用いた新規構造体モチーフ
「細胞を創る」研究会 0.0, 2007年11月26日
日本科学未来館

②野島高彦, 金田祥平, 藤井輝夫
オンチップ・キャピラリー電気泳動を用いて行う
無細胞遺伝子工学実験
第5回国際核酸化学シンポジウム (第34回核
酸化学シンポジウム), 2007年11月20-22日,
東京大学, 安田講堂(東京都文京区)

③野島高彦, 金田祥平, 藤井輝夫
DNA 分離回収用オンチップ・キャピラリー電気
泳動を用いる無細胞遺伝子工学実験
日本分析化学会第56年会, 2007年9月19-21
日, 徳島大学工学部 (徳島県徳島市)

④Kenichi Fujibayashi, Satoshi Murata
Thermodynamic simulations of DNA tile
self-assembly
2nd Intl. Conf. on Nano-Networks, 2007年9月
14-16日, Catania, Italy

⑤Shogo Hamada, Satoshi Murata
A New Motif for DNA-based Nanostructures
Caltech Self-Replicating Chemical Systems
Workshop, 2007年8月27-28日, Pasadena,
USA

⑥野島高彦, 金田祥平, 藤井輝夫
DNA 分離マイクロ流体デバイスを用いて達成す
る無細胞遺伝子操作
第15回化学とマイクロ・ナノシステム研究会
(15th CHEMINAS) 2007年5月25-26日, 東
北大学青葉山キャンパス (宮城県仙台市)

[図書](計3件)

①村田 智
エヌディーエス, DNA フラクタル構造体の創製,
トポロジーデザインー新しい幾何学からはじ
める物質・材料設計-, 印刷中

②村田 智
シーエムシー出版, DNA タイルのセルフアセン
ブリ, 山下一郎, 芝清隆監修, バイオナノプロセ
スー溶液中でナノ構造を作るウェット・ナノテク
ロジーの薦め, 2008, 147-156

③村田 智
エヌディーエス, DNA タイル・DNA オリガミ, 自己
組織化ハンドブック, 2008, 1-4

[産業財産権]
○出願状況(計2件)
名称:核酸構造体及びその核酸構造体を用い
た核酸構造物
発明者:浜田省吾, 村田 智
権利者:国立大学法人東京工業大学
種類:特許
番号:特願 2008-012050 号
出願年月日:平成 20年1月22日
国内外の別:国内

名称:核酸構造体及びその核酸構造体を用い
た核酸構造物, 並びにその核酸構造物の製造
方法
発明者:浜田省吾, 村田 智, 林中輝雄
権利者:国立大学法人東京工業大学
種類:特許
番号:国際出願番号 PCT/JP2009/050720
出願年月日:2009.1.20
国内外の別:国外

○取得状況(計0件)
なし

[その他]
ホームページ <http://www.mrt.dis.titech.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

村田 智(MURATA SATOSHI)
東京工業大学・大学院総合理工学研究科・
准教授
研究者番号:10334533

(2)研究分担者

藤本健造(FUJIMOTO KENZO)
北陸先端科学技術大学院大学・マテリアルサ
イエンス研究科・教授
研究者番号:90293894

藤井輝夫(FUJII TERUO)
東京大学・生産技術研究所・教授
研究者番号:30251474

野島高彦(NOJIMA TAKAHIKO)
東京大学・生産技術研究所・助教
研究者番号:00291930

(3)連携研究者

なし