

機関番号：12601

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20300106

研究課題名 (和文) 分子ダイアル錠とナノケージ

研究課題名 (英文) Molecular combination dial and nano-cage

研究代表者

萩谷 昌己 (HAGIYA MASAMI)

東京大学・大学院情報理工学系研究科・教授

研究者番号：30156252

研究成果の概要 (和文)：

複数の入力の順序により制御可能な「分子ダイアル錠」と、それと統合が可能な「ナノケージ」を開発した。

より具体的には、Mao らによって開発された DNA サッカーボール構造に光応答性の分子 (アゾベンゼン) を組み込むことにより、紫外線照射で分解可能な DNA カプセル (ナノケージ) の開発に成功した。また、コンピュータによる自動設計プログラムを利用することにより、紫外光と ATP の 2 つの入力の順序によって制御が可能な分子機械 (分子ダイアル錠) を構築した。

研究成果の概要 (英文)：

We developed a “molecular combination dial,” which can be controlled by the order of multiple inputs, and a “nano-cage,” which can be combined with the dial.

In detail, we successfully constructed DNA capsules that can be broken by UV light (nano-cage) by inserting a photo-controllable molecule (azobenzene) into DNA buckyballs developed by Mao. Moreover, we developed a molecular machine that can be controlled by the order of UV light irradiation and addition of ATP (molecular combination dial), with the use of a computer program for automatic design.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
2009年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2010年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：情報学

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：DNA 計算, DNA ナノテク, 三次元ナノ構造, 分子システム, AFM 測定

## 1. 研究開始当初の背景

開始当初は、構造制御が可能な三次元 DNA 構造体は実現されておらず、ドラッグデリバリーシステムなどの有用な工学的応用に結び付けることが難しかった。

そのため、多種の入力によって複雑な制御

が可能な DNA 構造体の開発が望まれていた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、光や小分子等の複数の入力信号の順序によってナノ構造の形態変化を制御する分子ダイアル錠の開発と、それと

統合可能なナノケージを構築することである。

### 3. 研究の方法

(1) 三次元 DNA 構造体に関しては、研究開始後ほどなく、複数のグループから様々なものが提案・開発された。そこで、その中でもっとも構造制御が容易と思われた、Mao らのサッカーボール構造に着目し、研究を推進した。

(2) 構造制御に用いる入力信号としては、光（紫外線）および ATP に着目し、これらの入力の順序で制御が可能なダイアル錠の設計・開発を行った。

### 4. 研究成果

(1) DNA クロスタイルと呼ばれる二次元構造体を対象に DNA 構造体の光制御について基礎実験を行った。DNA クロスタイルの結合部分にアゾベンゼンと呼ばれる光応答性の分子を組み込み、紫外光・可視光の照射でタイトルの結合が制御できるか否かを調査した。結果として、紫外光の照射によりアゾベンゼンを組み込んだ箇所の結合が不安定になるため、DNA クロスタイルの成長を妨げることが分かった。この結果は、紫外光の照射による分子システムの構造制御が実証されたという意義を持つ。

(2) Mao らによって開発されたサッカーボール状の DNA 構造にアゾベンゼンを組み込むことにより、紫外光を当てると分解する DNA カプセルを構築することに成功した。Mao らのサッカーボール構造は、三又の DNA 構造が 60 個結合してできたものである。本研究では、この三又構造の結合部分の DNA 配列中にアゾベンゼンを挿入し、①アゾベンゼンを挿入しても球状の構造を形成するか、②紫外光の照射によって期待通り DNA カプセルが分解されるか、という 2 点について検証を行った。ゲル電気泳動や原子間力顕微鏡 (AFM) を用いた実験により、アゾベンゼン入りの三又構造が正しく球状の構造を形成し、さらにそれが紫外光の照射で分解されることを確認した。また、三又構造に組み込むアゾベンゼンの数を変化させて実験を行ったところ、アゾベンゼンの数が増えると、DNA カプセルが短時間の紫外光照射で分解されることや、熱力学的に安定な構造になることが示された。

従来研究では三次元構造体を制御する手段として、入力 DNA との結合・配列交換を利用するのみであったが、本研究成果により、紫外光を用いて構造体を制御（分解）することが可能となった。また、カプセルに含まれるアゾベンゼンの数を増やすことにより、短時間の紫外光照射で分解できることを示

したが、これはドラッグデリバリーシステム等への応用を考えた際に非常に有用な特性である。さらに、紫外光への応答だけでなく、アゾベンゼンは DNA カプセル自体を安定化させることも示された。これは、多少の温度変化やイオン濃度の変化ではカプセルが分解されないことを意味しており、生体内などの様々な環境で使用できることが期待される。

(3) 光応答性 DNA カプセル分解のリアルタイム観察を行った。前項で構築した光応答性 DNA カプセルが、紫外光の照射によって分解していく様子を高速 AFM により観察した。その結果、DNA カプセルが分解される過程をリアルタイムに観察することができ、カプセルが分解する直接的な実験的証拠を得る事に成功した。

(4) 汎用的な設計論の確立を目指すため、進化計算的手法によって望ましい反応系を自動設計する試みを行った。対象として、設計が比較的容易と考えられる、酵素を用いない DNA 論理ゲートを選択した。結果として、OR ゲートに関しては既存のゲートと同様のものが自動設計され、AND ゲートに関しては既存とは異なるゲートが自動設計された。そこで、この AND ゲートを化学実験により検証した結果、シミュレーション通りに正しく動作することが確認された。設計されたゲートは簡単なものであったが、コンピュータが自動的に AND ゲートを設計したという意味で、分子システムを設計する新しい方法論の確立に成功したと言える。

(5) 分子ダイアル錠を設計・構築するため、アゾベンゼンと ATP アプタマーの 2 入力系を用いた分子ダイアル錠の構築を行った。ATP アプタマーとは、ATP と特異的に結合する性質を有している特別な塩基配列を持つ DNA 分子である。これらの分子を利用して、「紫外光の照射」および「ATP の投入」という 2 つの入力の順序によって制御可能な分子機械（ダイアル錠）の設計を試みた。ダイアル錠の設計は、ダイアル錠の挙動を予測するシミュレータを、前項の自動設計プログラムに組み込むことによって行った。設計されたダイアル錠の動作をゲル電気泳動および蛍光分光光度計により確認した結果、出力の濃度に改善の余地はあるものの、意図した通りにダイアル錠が動作することが確認された。

以上の成果により、従来のようにナノ構造を構築するだけではなく、それらを複数の入力信号の順序で制御することが可能となった。この技術は、ドラッグデリバリーや分子ロボット等への応用が期待されるものであり、申請時の研究目標は達成されたと考えられる。

## 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 6 件)

Miki Hirabayashi, Akio Nishikawa, Fumiaki Tanaka, Masami Hagiya, Hiroaki Kojima, and Kazuhiro Oiwa, DNA-based Crosstalk Nanorobot Mimicking Amoeba Type of Slime Funguses, IEEE NANO 2011, 査読有り, 未定 (採録決定)

Fumiaki Tanaka, Toshio Mochizuki, Xingguo Liang, Hiroyuki Asanuma, Shukichi Tanaka, Katsuyuki Suzuki, Shinichi Kitamura, Akio Nishikawa, Kumiko Ui-Tei, and Masami Hagiya, Robust and photo-controllable DNA capsules using azobenzenes, Nano Letters, 査読有り, Vol. 10 (9), 3560-3565, 2010

田中文昭, 分子ロボティクス研究のはじめ方, 日本ロボット学会誌 2010, 査読無し, Vol. 28 (10), 3-6, 2010

Ibuki Kawamata, Fumiaki Tanaka, Masami Hagiya: "Automatic Design of DNA Logic Gates Based on Kinetic Simulation" DNA Computing and Molecular Programming : 15th International Conference, Lecture Notes in Computer Science, 査読有り 5877, 88-96, 2009

Fumiaki Tanaka, Takashi Tsuda, and Masami Hagiya: "Towards DNA Comparator: The Machine That Compares DNA Concentrations" The 14th International Meeting on DNA Computing, Lecture Notes in Computer Science 5347. 査読有り, 11-20, 2009

Akio Nishikawa, Satsuki Yaegashi, Fumiaki Tanaka, Kazumasa Ohtake and Masami Hagiya: "Multi-fueled approach to DNA nano-robotics" Natural Computing Vol.7. 査読有り, 371-383, 2008

[学会発表] (計 13 件)

Masami Hagiya, Design and Evolution of Autonomous Molecular Systems in DNA Nanoengineering and Synthetic Biology, SICE 2010 Annual Conference, 2010/8/21, Taipei (Taiwan)

Ibuki Kawamata, Fumiaki Tanaka, and Masami Hagiya, Automatically Designed DNA Automaton, The 16th International Meeting on DNA Computing and Molecular Programming, 2010/6/16, Hong Kong

Fumiaki Tanaka, Akio Nishikawa, Ibuki Kawamata, Masami Hagiya: "Towards a controllable 3D DNA nanostructure" Foundations of Nanoscience 2010. (20100429). Snowbird (USA)

田中文昭, 川又生吹, 萩谷昌己: "DNA プログラミング~塩基配列設計からDNA ナノ構造・分子デバイスの設計まで~" 計測自動設計学会 システム・情報部門 学術講演会 2009. (20091126). 東工大

川又生吹, 田中文昭, 萩谷昌己: "DNA 反応系の自動設計に向けたモデリングの拡張" 計測自動設計学会 システム・情報部門 学術講演会 2009. (20091126). 東工大

萩谷昌己: "DNA ロボットの自動設計に向かって" 計測自動設計学会 システム・情報部門 学術講演会 2009. (20091125). 東工大

Fumiaki Tanaka: "DNA as a versatile programming language for nano-engineering" BIC-TA 2009. (20091017). Peking (China)

Miki Hirabayashi, Kazuhiro Oiwa, Akio Nishikawa, Fumiaki Tanaka, Masami Hagiya: "Toward Self-Assembly of Phage-Like Nanorobot" IEEE NANO 2009. (20090729). Genoa (Italy)

Ibuki Kawamata, Fumiaki Tanaka, Masami Hagiya: "Toward Automatic Design of DNA Logic Gates and Devices" 1st International Workshop on Bio-Design Automation. (20090727). San Fransisco (USA)

Fumiaki Tanaka, Ibuki Kawamata, Masami Hagiya: "Development of a DNA Machine That Compares Two Concentrations of DNA" 15th International Meeting on DNA computing and Molecular Programming. (20090609). Arkansas (USA)

Akio Nishikawa, Kazumasa Ohtake, Fumiaki Tanaka and Masami Hagiya: "Photo-control experiments on DNA tiles with photo-controllable sticky ends" Foundations of Nanoscience 2009. (20090422). スノーバード (アメリカ)

Akio Nishikawa, Kazumasa Ohtake, Fumiaki Tanaka and Masami Hagiya: "Towards Photo-controllable Self-assembly of DNA Tiles" The 14th International Meeting on DNA Computing. (20080604). プラハ

Akio Nishikawa, Kazumasa Ohtake, Fumiaki Tanaka and Masami Hagiya: "Towards Multi-fueled DNA walker on DNA trails" DNA-Based Nanodevice. (20080530). イェーナ (ドイツ)

[図書] (計 2 件)

小宮健, 瀧ノ上正浩, 田中文昭, 浜田省吾, 村田智, ナチュラルコンピューティング・シリーズ DNA ナノエンジニアリング, 202 ページ, 近代科学社, 2011

萩谷昌己・西川明男: "DNA ロボット生命のしかりで創る分子機械" 岩波科学ライブラリー153. 109 ページ, (2008)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

萩谷 昌己 (HAGIYA MASAMI)

東京大学・大学院情報理工学系研究科・教授

研究者番号: 30156252

### (2) 研究分担者

田中 文昭 (TANAKA FUMIAKI)

東京大学・大学院情報理工学系研究科・助教

研究者番号: 50456159

### (3) 研究協力者

平林 美樹 (HIRABAYASHI MIKI)

情報通信研究機構・研究員