

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12136

研究課題名(和文) 電場駆動型デジタル分子デバイスの開発

研究課題名(英文) Development of Electric Field Driven Digital Molecular Devices

研究代表者

村田 智 (Satoshi, Murata)

東北大学・工学研究科・教授

研究者番号：10334533

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：(1) 電場に応答して一方向へデジタル的にステップ移動する分子移動体(電場駆動型ロコモーション)と(2) 電場に応答して繰り返し演算が可能な分子計算素子(電場駆動型分子計算素子)を開発することを目標として、DNAナノ構造の電場応答に関する研究を行った。(1) DNAオリガミの手法を用いて、わずかな非対称性をもつ6つの接地点(足)をもった回転運動体を作製し、水平電場を印加しながら一分子蛍光観察が可能な系を開発し、運動体の移動を観測した。(2) 金ナノ粒子を修飾したDNA2重らせんを、電場をかけることにより引きはがす実験系を構築し、電場をかける方向により特性が全く異なることを定量的に明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Aiming at developing (1) a molecular moving body digitally stepping in one direction in response to an applied electric field and (2) molecular computing elements able to perform logic operation in response to an applied electric field, electric response properties of DNA is examined. (1) Using DNA Origami method, we developed a rotating vehicle with six feet with slight asymmetry and also developed an experimental system capable of single molecule observation under horizontal electric field. (2) An experimental system in which a DNA strand modified with gold nanoparticles is peeled off by applying an electric field is developed, and quantitative evaluation of the dehybridization behavior under electric field was conducted.

研究分野：分子ロボティクス

キーワード：分子ロボティクス 電場駆動型ロコモーション 電場駆動型分子計算素子

1. 研究開始当初の背景

近年、人工的に合成した DNA でさまざまな分子デバイスをつくる「DNA ナノテクノロジー」や、そうした分子デバイスをさらにシステム化する「分子ロボティクス」と呼ばれる学術分野が注目を集めている。これらの分子デバイス/分子ロボットの駆動には、DNA 鎖置換反応、光化学反応、酵素反応などが利用されているが、動きの速度や効率、生体の分子機械にはまだはるかに及ばないのが実状である。たとえば、DNA ウォーカーと呼ばれる平面基板上を「歩く」分子ロボットをみると、歩行範囲が DNA オリガミ上 (100nm 四方程度) に限られる上に、移動を DNA 鎖置換によっているために速度が非常に遅い (100nm/hr 程度)。

2. 研究の目的

電場に応答する DNA ナノ構造を用いて (1) 水平な電場入力により、ナノメートル刻みでデジタルに移動する分子マシン

(2) 電場入力により内部状態が書き換えられ、繰り返し演算が可能な分子計算素子の開発を行うことを目的とする。

このような手法により、DNA ナノテクノロジーと電子技術とを融合させ、分子マシンを高速でデジタル駆動する方法論は真に革新的であり、DNA ナノテク、分子ロボティクス、分子計算の適用範囲を広げることが期待される。

3. 研究の方法

(1) 電場駆動型ロコモーション

電場で駆動される DNA ナノ構造を設計し、ロコモーションに関わるパラメータを最適化する。また、全反射蛍光顕微鏡を用いたロコモーションのリアルタイム測定技術を開発する。

具体的には、DNA オリガミの手法を用いて円環状の分子移動体を設計した (図 1)。この移動体は、DNA とマイカ基板の間に働く静電引力により、マイカ表面に弱く吸着している。これに水平電場を印加することで、移動体を横方向に加振する。この移動体は接地のための足を持っており、接地部の形状が左右非対称であるため、一定の電場パルスに対して一歩だけ進むような条件があると期待される。

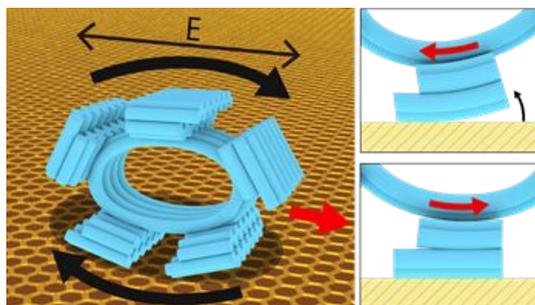


図 1 電場駆動型ロコモーションのための DNA オリガミ構造体 (回転体) の設計

(2) 電場駆動型分子計算素子

電場により内部状態の書き換えが可能な分子計算素子を開発し、その計算機能を評価する。具体的には、電場による配向を利用することで、DNA 分子のハイブリダイゼーション状態が変化するデバイスを考える。印加する電場の方向により、2 種類のヘアピン DNA のうちのひとつだけが開裂し、ヘアピン内の一本鎖が露出することにより、新しい分子状態に遷移する。この反応は可逆であるので、繰り返し書き換えることができることが期待される (図 2)。

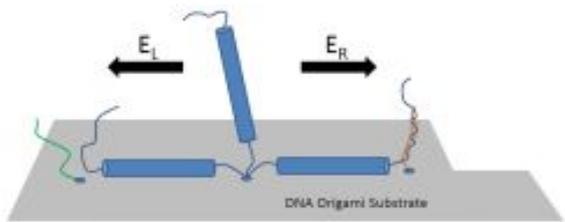


図 2 DNA オリガミ上に固定した電場駆動型の DNA 計算デバイスの実装例

4. 研究成果

(1) 電場駆動型ロコモーション

DNA ナノ構造体の作製

非対称性を持つ 3 次元オリガミ構造を DNA オリガミにより作製し、電気泳動法、原子間力顕微鏡、電子顕微鏡により構造評価を行った。電気泳動の結果からは、M13mp18 と staple の結合、筒状構造の形成を示唆する結果が得られた。原子間力顕微鏡、電子顕微鏡結果からは、設計と同じ大きさの構造が形成されている結果が得られた。しかし、非対称性を持つ脚の構造確認には至らず、凝集物も多数観測された。

マイカ基板上の一分子運動観測系構築

DNA ラチェットの運動評価のため、TIRFM によりマイカ基板上を一分子観測するための観測系を構築した。また、観測系が妥当であるかを評価するため、蛍光ビーズ試料を観測した。その結果、全反射照明時には背景光の影響が少なくなったため、構築した観測系が妥当であることが分かった。

・マイカ基板上の電場応答性

直流電場印加下でマイカ基板上の DNA の移動が見られるかを評価したが、移動は見られなかった。吸着を抑制するため、高濃度 NaCl、低濃度 MgCl₂ 条件においても評価を行ったが、同様に移動が見られないという結果が得られた。また、高濃度 NaCl 条件では熱の発生により観測が困難になった。このことから電場駆動用の基板として、マイカは適当でないことが分かった。

脂質膜上の電場応答性

マイカ基板と同様に、直流電場印加下で脂質膜上の DNA が移動するかを評価した結果、正電荷性脂質を多く含む脂質膜上で移動が観察された。また、正電荷性脂質の濃度を変更することで DNA と脂質膜の吸着を制御でき、高濃度の正電荷性脂質を含む膜上では表面摩擦が増加するという結果が得られた。そして、DNA ラチェットに交流電場を印加した際、一方向へ移動する輝点が観測された(図3)。ただし、定量的な特性を評価するためには、実験の再現性が十分でない

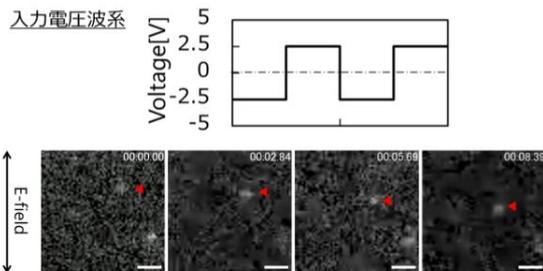


図 4.21 交流電場印加下の DNA ラチェットの移動 (スケールバー: 1 μm)
矩形波, $V_{pp}=5\text{ V}$, 電極間: 2 cm, DOTAP: DOPC=2:8

め、今後計測条件をさらに検討していく必要がある。

図 3 設計した DNA オリガミ移動体の脂質膜上の移動の様子 (交流印加時)

(2) 電場駆動型分子計算素子

計算素子の設計のために、電場駆動により DNA 2重らせんがどのようにはがれるか、定量的な研究を行った(図4)。そのため、金ナノ粒子を修飾した DNA 2重らせんが、ナノ

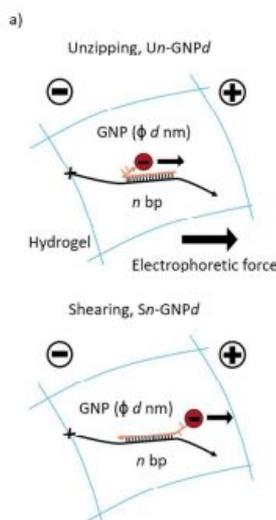


図 4 アクリルアミドゲルに固定された DNA サンプル。ベースとなる一本鎖(黒)はアクリルアミドに固定され、その部分的な相補鎖に対して金ナノ粒子を介して引きはがしの力がかかる。金ナノ粒子を 3' に固定するか、5' に固定するかで 2 つの引っ張りモードがある。

粒子に電場をかけることによりはがされる系を考えた。この系では、電場をかける方向により、Unzipping と Shearing という 2 つのモードで 2 重らせんのかい離が起こる。シミュレーション研究などにより、Unzipping モードのほうがかい離しやすいことが予想されているが、実際にこれを実験した例はなく、その挙動は明らかでなかった。

構築した実験系(図5)は、DNA をポリアクリルアミドゲルにアンカーしたものと、金ナノ粒子を修飾した DNA をハイブリダイズさせたものをガラスキャピラリーに充てんして、電場をかけるシステムとなっている。電極をキャピラリーから遠ざけることにより電極面で生じる電気分解による pH や温度変化の影響を極力抑え、DNA のハイブリダイゼーション率は、CCD カメラにより直接金ナノ粒子を観測(赤く見える)することにより測定した。電圧印加と同時に、少しずつ金ナノ粒子がゲル中を移動して拡散する様子が観察され、一定区間における金ナノ粒子の密度の時間変化を評価することにより、DNA かい離率を算定することができる。その結果、印加する電圧、DNA の鎖長、Unzipping か Shearing か、金ナノ粒子の粒径などに依存して、かい離の挙動が異なることが分かった。(図6)。5nm の金ナノ粒子によりかい離させる場合、Unzipping であっても印加電圧としては 100V 程度が必要であり、分オーダーの時間がかかるため、計算素子の駆動に電場を使うためには、電極配置やバッファ条件に工夫が必要である。

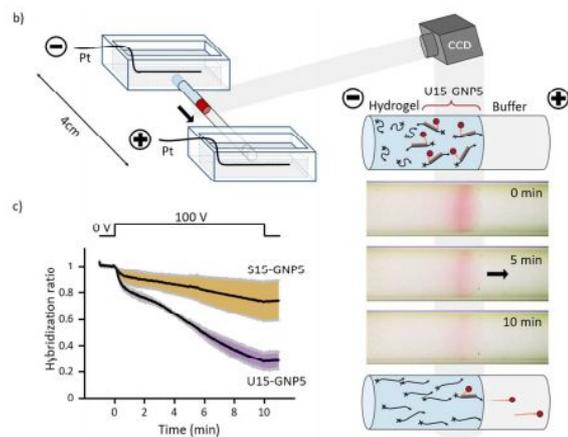


図 5 実験系の構成。ガラスキャピラリーの片側(-側)にアクリルアミドゲルを充てんし、その端部に金ナノ粒子着きの DNA 鎖をブレ電気泳動により固定しておく。白金線電極で電場をかけ、金ナノ粒子の運動を CCD カメラで記録する。DNA かい離率は計測区間内の色強度で評価する。

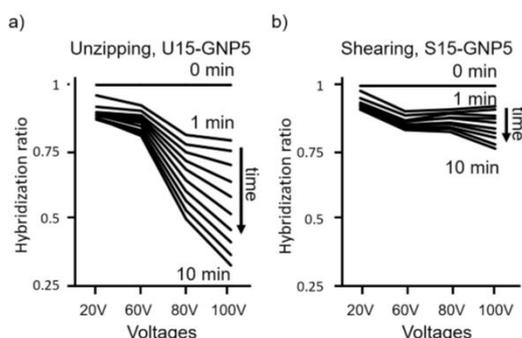


図6 電場によるDNAかい離特性 Unzippingモードの方がかい離しやすい。

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1件)

Keitel Cervantes, Ibuki Kawamata, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Unzipping and Shearing of DNA with Electrophoresed Nanoparticle in Hydrogel, Physical Chemistry Chemical Physics, 2017, in press.

〔学会発表〕(計4件)

Keitel Cervantes-Salguero, Ibuki Kawamata, Shin-ichiro Nomura and Satoshi Murata: Design and Construction of Reusable DNA Logic Gates Based on Electric Field Actuation, TPNC 2016 仙台国際会議場(宮城県)2016年12月12日~13日

津澤卓, 川又生吹, 村田智, 電場駆動されるDNAナノ構造体の基板における運動観測, 計測自動制御学会システム情報部門学術講演会2015, 函館アリーナ(北海道)2015年11月18-20日

石原瑛暉, 川又生吹, 村田智, シーケンス制御を行うDNAデバイスによる構造体のステップ動作, 計測自動制御学会システム情報部門学術講演会2015, 函館アリーナ(北海道)2015年11月18-20日

Keitel Cervantes-Salguero, Ibuki Kawamata and Satoshi Murata. Hydrophobicity control of DNA nanostructures, DNA20 (Kyoto), 京都大学(京都府)2014年9月22-26日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

- 出願状況(計0件)
- 取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

村田 智 (MURATA, Satoshi)
 東北大学・大学院工学研究科・教授
 研究者番号 10334533

(4)研究協力者

川又生吹 (KAWAMATA Ibuki)
 津澤 卓 (TSUZAWA Masaru)
 Keitel Cervantes-Salguero