

令和元年6月4日現在

機関番号：22604

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K12774

研究課題名(和文)力学的にチューニング可能なDNAネットワーク集積体の創製

研究課題名(英文) Mechanically tunable mesh-like DNA film self-assembled at the air-water interface

研究代表者

石川 大輔 (Ishikawa, Daisuke)

首都大学東京・都市環境科学研究科・特任助教

研究者番号：00722919

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、DNAナノ構造体の気水界面における集積により、力学的に圧縮・拡張可能な界面膜の開発を目指した。DNAオリガミ技術により環状のDNAナノユニットを作製し、部分的に疎水化することで疎水相(油相)と親水相(水)の界面に集積させることに成功した。また、DNAナノユニットは水溶液中において柔らかく変形することが視覚的に確認できた。期間全体を通して、DNAの塩基配列設計によるプログラマビリティに基づく、外力によって変形可能な柔らかいナノ構造体の作製手法とその集積技術を提示できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、センチメートルスケールのサイズをもつ気水界面の異方性を利用したボトムアップによる、DNAナノ構造体のマクロスケール集積と、また力学的チューニングというマクロスコピックな動作でナノスコピックな構造体を制御する技術の創出という2つの学術的な意義を有する。さらに、力学的に形状変化可能な材料に対し、様々な機能をDNAのプログラマビリティを活かして選択的に付与し、それをマクロな力学的動作によってチューニングするという新規技術や、外部から受ける微小な力に応答する新規材料創製への展開も期待できる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to develop a dynamically compressible and expandable interface film by the self-assembly of DNA nanostructures at the air-water interface. A circular DNA nanounit was prepared by the DNA origami technique and partially hydrophobized to be accumulated at the interface between the hydrophobic and the hydrophilic phases. The soft deformation the prepared DNA nanounits in the aqueous solution was visually confirmed. A method of fabricating soft nanostructures that can be deformed by external force and their assembly techniques were presented based on the programmability by DNA.

研究分野：界面科学

キーワード：DNAナノテクノロジー DNAオリガミ 界面膜 気水界面 Langmuir-Blodgett膜 油中水滴 メカノケミ  
ストーリー 力学的チューニング

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ナノスケールの分子構造に由来する機能を力学的に操る技術である力学的チューニングでは、光スイッチングのように分子のもつエネルギーを離散的に変化させるのではなく、連続的に変化させることができる。したがってこの技術は、有機化合物、高分子化合物のような柔軟な構造体のある物質に対して最適なかたちに変化させる必要がある分子認識科学において、既存のスイッチング概念に代わるシステムを創り得る。従来のマクロな動作で分子にエネルギーを与えるメカノケミストリーでは、三次元結晶やゲルなど等方的な物体に対して外力を加え、内部の分子にエネルギーを与えている。しかし、ここで与えられた力学的なエネルギーから内部分子が得るエネルギーの効率はその等方的な環境ゆえに非常に低く、力学的な力によってナノレベルの分子・構造体のかたちを正確に制御することは困難である。したがって、力学的な力というマクロスコピックな力を、ナノスケールの分子や構造体に対して効率的かつ正確に伝達するためには、異方的なマクロスケール空間にそれらを配置する新規技術が必要である。

### 2. 研究の目的

本研究は、マクロスコピックな力学的刺激によって、ナノサイズの構造体の形状と機能を精密に操作できる技術を創出することを目的とする。具体的には、DNAの有するプログラマビリティを駆逐することで、複数の機能(ソフトウェア)付与が容易かつ選択的に可能なDNAナノ構造集積体(ハードウェア)を作製し、さらにその出力を力学的に調整可能なチューニング材料を新規創製することを目指す。

### 3. 研究の方法

DNAオリガミ手法を用いて、力学的な力によって変形可能なナノ構造体(DNAナノユニット)を作製し、これを二次元の気水界面に配置して単分子薄膜を形成する。これを一軸方向から圧縮、拡張することで、DNAナノ構造体がマクロスコピックな力によって変形可能であることを示す。具体的には以下の手順に従う。

- (1) コンピュータソフトウェア(caDNAo)を用いて、DNAナノユニットを設計する。
- (2) 設計に基づいて合成したステープル1本鎖DNAとスキヤフォールド1本鎖DNAを加熱・冷却処理(アニーリング)することでDNAナノユニットを作製する。形状可変DNAナノ構造体の形成を負染色したサンプルを透過電子顕微鏡(TEM)観察から確認する。TEM観察には、クライオTEMおよび負染色TEM観察を行い、より分解能の高い画像から内角の定量評価を採用する。
- (3) DNAナノユニットに両親媒性を付与するため、その上部のみに疎水基を導入する。疎水基の導入は、正規直交配列を利用して極めて選択的に行う。疎水基導入の成否はアガロースゲル電気泳動および、疎水基導入DNAナノユニットを含む油中水滴エマルジョンの共焦点レーザー顕微鏡観察から評価する。
- (4) 両親媒化DNAナノユニットを気水界面に展開して単分子膜(Langmuir膜)を作製する。圧縮前後でこの気水界面膜を転写し、原子間力顕微鏡(AFM)観察から表面形態を観察する。

### 4. 研究成果

- (1) 形状可変のDNAナノユニットとして、四隅が柔らかく変形する四角形のDNAナノ構造体を実験した。DNAナノユニットの熱力学的安定構造は、ウェブソフトウェアCanDo [<https://cando-dna-origami.org/>]から予測した。
- (2) DNAナノユニットは三次元のDNAナノ構造体であり、作製する際の(i)アニーリング条件(冷却速度)および(ii)バッファ溶液中の二価、一価の塩(カチオン)濃度の最適化が重要である。これは、DNAの二重らせん形成に基づくナノ構造体形成を、熱力学的に最安定な状態へと導くためと、またリン酸基が有する負電荷が構造体内で反発することによって安定な構造体形成を阻害することを防ぎ、かつナノ構造体同士の凝集を避けるための最適な塩濃度が必要だからである。そこで本研究では、DNAナノユニット作製における最適な(i)アニーリング条件(特に冷却速度)と(ii)塩(カチオン)濃度のアガロースゲル電気泳動から決定した。最適化した条件で作製したDNAナノユニットの形成をクライオおよび負染色の2種のTEM観察の結果、負染色TEMの方がDNA二重らせん1本を識別できるほど分解能が高かったため、こちらを採用した。DNAナノユニットに形成を負染色TEM観察から確認し、さらにDNAナノユニットの内角(鋭角)の定量評価を行った。結果、設計通りの形状が確認され、またDNAナノユニットの内角は約 $60 \pm 20^\circ$ と、力の印加されていないバルクにおいては広い範囲の角度を取ることが明らかとなった(図1)。
- (3) 上部のみに16, 32, …108本の疎水基を導入したDNAナノユニットを作製し、これらの比較によって必要十分な疎水基の本数を決定した。アガロースゲル電気泳動では疎水基の本数による差が確認できなかった。一方、DNAナノユニットを含む油中水滴エマルジョンを共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、DNAナノユニットが油水界面に集積している様子が見られたため、油水界面近傍の蛍光強度からDNAナノユニットの疎水性を評価し、必要十分な疎水基本数を決定した(図2)。
- (4) DNAナノユニットのみではLangmuir膜の作製に大容量のサンプルが必要になるため、マ

トリクス分子として 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine (DOPC) および 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC) を用いることで、DNA ナノユニット-脂質分子混合膜の作製を行った。この転写膜の AFM 観察から、DNA ナノユニットの力学駆動の挙動が明らかとなってきた。

以上の成果は、親水性生体高分子である DNA からなるナノ構造体を親水-疎水界面に集積し、それをマクロスコピックな力学的刺激によって駆動させるという先進的な研究の端緒である。DNA ナノユニットの内部は、特定の分子のトラップ、あるいは酵素導入などを、DNA の塩基配列設計によるプログラマビリティを利用することで原理的に可能である。したがって、DNA の構造柔軟性に基づいた、外力の印加によって駆動するホスト-ゲストシステムや微小反応場など本研究を足場とする動的システムの構築が期待できる。

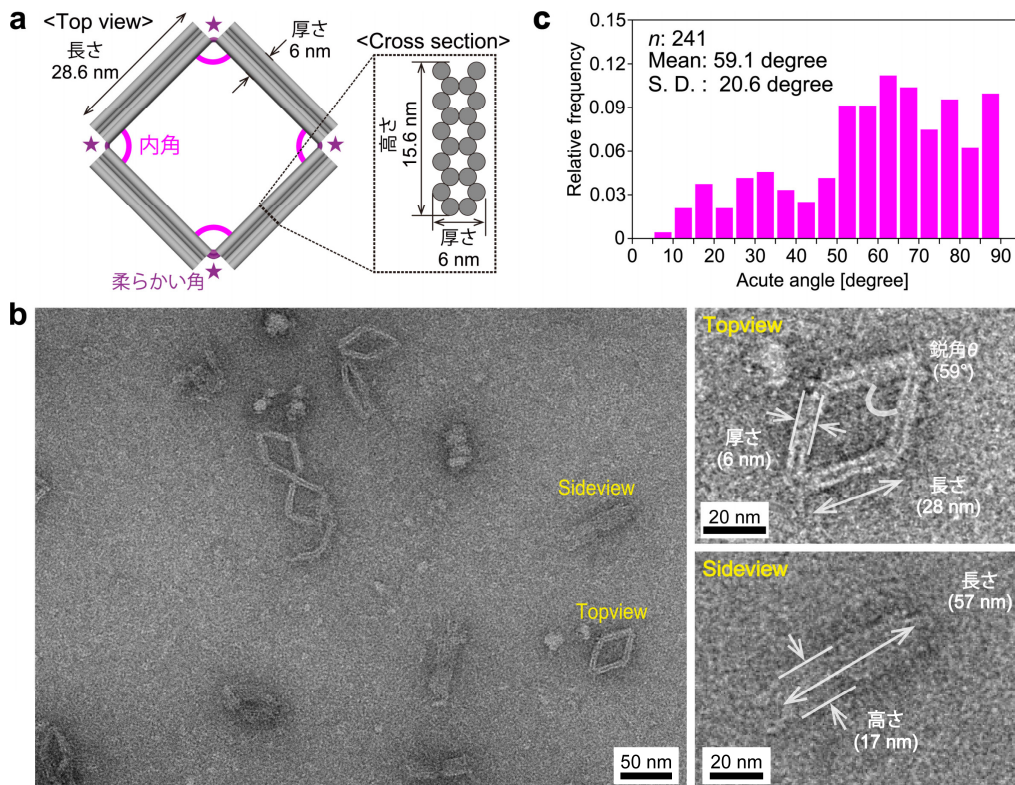
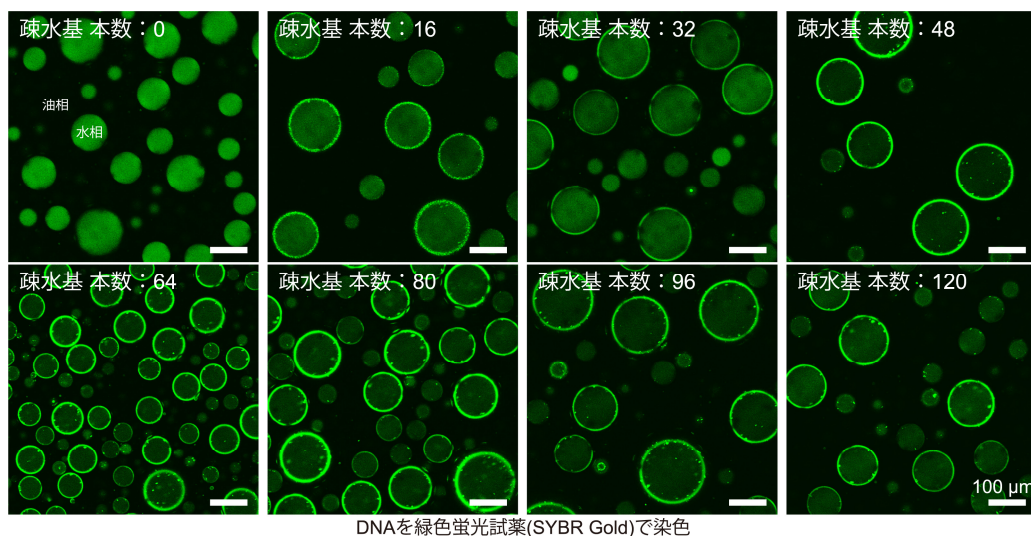


図 1 (a) DNA ナノユニットの設計上サイズ. (b) DNA ナノユニットの負染色 TEM 像. (c) 負染色 TEM 像における DNA ナノユニットの形状から測定した内角(鋭角)の分布. 内角平均:  $59.1^\circ$ , 標準偏差(standard deviation: S. D.):  $20.6^\circ$ .



DNAを緑色蛍光試薬(SYBR Gold)で染色

図 2 疎水基導入 DNA ナノユニットを含む油中水滴エマルジョンの蛍光顕微鏡像. 48 本の疎水基本数で十分な両親媒性を DNA ナノユニットに付与することが可能である.

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Masanari Okuno, Daisuke Ishikawa, Waka Nakanishi, Katsuhiko Ariga, Taka-aki Ishibashi, “The Symmetric Raman Tensor Contributes to Chiral Vibrational Sum Frequency Generation from Binaphthyl Amphiphile Monolayers on Water - Study of Electronic Resonance Amplitude and Phase Profiles”, *The Journal of Physical Chemistry C*, 121, 11241-11250 (2017).

[学会発表] (計 10 件)

- ① 石川大輔, 瀧ノ上正浩, 村山 徹, 春田正毅, “DNA ゲル粒子の金触媒担体および人工細胞構成素材への利用”, 第 2 回分子ロボティクス年次大会, 東京工業大学大岡山キャンパス, 3 月 14, 15 日, 2019 年, ポスター発表.
- ② Daisuke Ishikawa “DNA nanoplate-based functional microdroplets furnished with ion-channel function”, International Congress on Pure & Applied Chemistry Langkawi (ICPAC Langkawi) 2018, Langkawi, Malaysia, October 31, 2018, Invited talk.
- ③ 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, 川野竜司, 遠藤政幸, 瀧ノ上正浩, “両親媒化 DNA ナノプレートの界面自己集積によるカプセル空間形成”, 第 1 回分子ロボティクス年次大会, 東北大学片平キャンパスさくらホール, 3 月 5, 6 日, 2018 年, 口頭およびポスター発表. (若手研究奨励賞受賞)
- ④ 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, 東北大学片平キャンパスさくらホール, 3 月 5, 6 日, 2018 年, ポスター発表.
- ⑤ 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, 9 月 19-21 日, 2017 年, 熊本大学黒髪北地区, ポスター発表.
- ⑥ 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, 川野竜司, 遠藤政幸, 瀧ノ上正浩, “DNA 構造化粒子の油中水滴界面への集積によるカプセル形成”, 第 16 回関東ソフトマター研究会, 東京農工大学 小金井キャンパス 科学博物館, 8 月 22 日, 2017 年, ポスター発表.
- ⑦ 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, 川野竜司, 遠藤政幸, 瀧ノ上正浩, “構造化 DNA の球状集積体を用いた動的反応場構築に向けて”, 新学術領域「分子ロボティクス」最終公開シンポジウム, 7 月 15 日, 2017 年, ポスター発表.
- ⑧ 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), 5 月 22, 23 日, 2017 年, 東京工業大学大岡山キャンパス, ポスター発表.

[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

<https://www.haruta-masatake.ues.tmu.ac.jp/>

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者 無し

(2) 研究協力者 無し

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。