

令和 3 年 5 月 27 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K18144

研究課題名(和文) DNAオリガミ超分子の合理設計に向けた新規プラットフォーム開発

研究課題名(英文) Development of novel platform to rationally design DNA origami

研究代表者

川又 生吹 (Kawamata, Ibuki)

東北大学・工学研究科・助教

研究者番号：30733977

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：DNAオリガミナノ構造体について、(1)設計情報のデータベース、(2)複合体の設計ソフトウェア、(3)シミュレーションプラットフォーム、の三点を開発した。いずれのツールも、ウェブブラウザで使用可能であり、専門家でなくても容易に利用できると期待される。さらに、本研究で培ったノウハウを活用することで、様々なDNAオリガミ構造体を作製し、その機能を実験的に評価することに成功した。上記の成果は、論文や学会において報告した。また、DNAオリガミに関する書籍を2021年5月に出版する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発したDNAオリガミナノ構造体のためのソフトウェアや、本研究期間中に執筆したDNAオリガミに関する書籍は、分野への新規参入者に対する障壁を最小化し、自己組織化を用いた分子ナノテクノロジーの発展に寄与するものと考えている。その例題として申請者は、細胞の膜モデルに穴を開ける筒状のDNAナノ構造や、変形と結合の様式をプログラム可能なDNAオリガミ分子材料などの開発に成功した。これらの研究は将来的に、スマートな投薬制御や、自己修復材料の創発につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：In this research about DNA origami nanostructure, (1) a database of design information, (2) a software to design a complex DNA nanostructure, (3) a platform of simulation, were developed. All the tools run on a web browser, which may enable non-experts to benefit from them in a simple manner. Moreover, using the know-how obtained by the research, various DNA origami structures were successfully made and the functionalities of them were experimentally evaluated. The results of them are published in research paper and presented in academic conferences. A book about DNA origami is also planned to be published in May, 2021.

研究分野：DNAナノテクノロジー

キーワード：DNAオリガミ DNAナノテクノロジー DNAコンピュータ データベース 設計ソフトウェア 分子ロボティクス 分子サイバネティクス

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

DNA オリガミ技術はナノスケールの分子構造を設計する手法である。DNA オリガミは直径 2nm の DNA 二重らせん構造から構成されており、ナノメートルスケールの解像度で精密に目的分子(金属原子や生体分子など)を配置できる利点がある。さらに動的に変化する DNA 反応を組み合わせることで、開閉可能な箱型分子構造などを作製でき、分子スケールのロボットやドラッグデリバリーシステムへの応用が期待されている。

DNA オリガミ技術では、数千という塩基(DNA の構成要素)の配列を設計する必要があり、通常は計算機による設計支援が行われる。従来の設計支援手法により実現される単一の DNA オリガミ構造体の大きさは、最大で百ナノメートルのスケールである。この制約は、現実的に入手可能な材料(DNA)の配列長が約 8000 塩基を上限とすることに由来する。これ以上スケールの大きい分子構造を作製する場合は、パーツとなる複数の構造体を組み合わせる必要がある。実際、同一の DNA オリガミ分子を繰り返し連結したホモ多量体を作製する手法は多数提案されている。一方で、異なる形状の DNA オリガミ分子を合体させたヘテロ多量体を作製する汎用的な手法は提案されておらず、現状では経験に基づいた試行錯誤による最適化が必要である。

そのような試行錯誤により DNA オリガミ超分子を設計する際には、一般に既存の DNA オリガミ構造体をパーツとして使用する。既存の DNA オリガミヘテロ多量体としては、構造相補性を利用した研究が挙げられる。しかしながら、結合・分離を実現するためには、既存の設計ソフトウェアを使用して非直感的な設計図を描く必要があり、職人技のような設計スキルが要求される。また DNA オリガミの設計図は画像形式でしか入手できず、追試実験を行う場合は、自分の力で同様の設計図を描く必要があり、研究の障害となる。これは DNA オリガミの情報を共有するための規格化やパーツライブラリの整備が不十分であることが原因であると言える。

本研究で対象となる DNA オリガミ超分子を設計する際には、原子から超分子まで広がる多階層性が重要となる。これは、各原子座標などの低次情報を元に、千万原子にもおよぶ高次の超分子構造を構築するためである。具体的には、単位となるナノメートルスケールの DNA 二重らせんを立体的に矛盾なく配置し、数百ナノメートルにも及ぶ超分子を作製する必要がある。計算機上でどのように DNA 分子を簡略化するか、どのように立体的に整合性の取れた分子配置を決定するか、の二点は、DNA オリガミ超分子を設計する上で避けられない課題である。

構造の多階層性は天然の生体分子にも見られる。例えばタンパク複合体の場合、文字列として表現される 1 次構造(アミノ酸配列)、基本ユニットとなる 2 次構造(ヘリックス、シート)、複数のユニットから作られる 3 次構造(タンパク質)、複数のタンパク質が合体した 4 次構造の階層がある。生体分子では立体構造が機能に直結しており、例えばファージウィルスでは、進化の過程で獲得した特徴的な形状が、ゲノムの運搬や宿主への感染を引き起こす役割を担っている。将来天然に匹敵する機能を持つ人工分子を創発する上で、多階層性を持った立体的 DNA オリガミ超分子を合理設計する手法を確立することは、本質的に重要である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、複数の DNA オリガミ分子が立体的かつ巧妙に合体した超分子を、計算機の支援により最小の試行錯誤で合理設計する手法を開発することである。単一構造の作製を目的としている DNA オリガミ設計支援ツールや、経験に基づいた試行錯誤による DNA オリガミ超分子の作製などの既存研究とは方向性が異なり、DNA オリガミによって天然生体分子に見られる階層性の実現を目指すものである。将来的には、新規参入者でも容易に DNA オリガミ超分子の設計が可能なプラットフォームを構築し、DNA を基盤としたナノテクノロジーの研究を加速することで、天然の生体分子のような機能・構造を持つ人工分子の創発が期待される。

3. 研究の方法

本研究では、DNA オリガミ超分子を直感的に設計するために最適化された新規の設計支援ソフトウェアを開発し、化学実験によってコンセプトを実証する。具体的には、以下の 4 点の内容を並行して研究し、提案手法の評価を行った。

(1) DNA オリガミヘテロ多量体作製のための、DNA 分子のモデル化・データ構造実装

DNA オリガミヘテロ多量は、DNA オリガミの単量体を複数結合させて作製される。標準的な DNA オリガミは約 50 万にもおよぶ原子から構成されており、それらを複数結合させると、1000 万にも原子数が及ぶことが予想される。一つ一つの原子を取り扱おうと、データ量が大きくなり、計算機において高速に扱うことができず、直観的な設計ができない。また、原子のまとまりである塩基を単位としても、1 つの DNA オリガミが約 8000 にもおよぶ塩基から構成されているため、複数の DNA オリガミを扱うことは現実的ではない。そこで本研究では、DNA 分子を大胆に単純化させたモデルを考案する。具体的には、約 50 程度の塩基からなる二重らせん DNA を、円柱構造と

して近似し、その特徴点である端点のみを情報として記録する。本モデルの重要な特徴の一つは、単純化により情報がほとんど欠落しない点である。つまり、規格化された DNA の立体構造に基づいて、端点の情報から元の原子配置を復元することが可能である。このようなモデルを使ったソフトウェアを開発することで、DNA オリガミのヘテロ多量体を設計可能にする。

(2) DNA オリガミ構造のパーツライブラリの構築

一つ一つの DNA オリガミ単量体を毎回自作するのでは、車輪の再発明のような無駄が発生し、設計の効率が悪い。そこで本研究では、標準的な形状の構造については、あらかじめパーツライブラリとして、カタログを準備する。具体的には、様々なサイズの四角形、ロッド、直方体の DNA オリガミ構造を、スクリプトを使って自動的に設計し、誰でも利用可能なデータベースとして公開する。このデータベースには、論文として報告された複雑な形状の DNA オリガミも登録され、標準形状と組み合わせることが可能であると考えられる。さらにユーザーが自分の設計図を登録する機能を追加することができれば、利用価値の高いデータベースになると期待される。

(3) 合体のための連結アルゴリズムの実装

本研究のソフトウェアは、既存のソフトウェアが持つ問題点を克服し、直観的なグラフィカルユーザーインターフェースを備え、様々な向きで配置された DNA を構成要素として使用することが可能である。さらに、DNA オリガミヘテロ多量体を設計するために、単量体構造を望みの位置に回転や平行移動により配置することができる。その際、単に複数の DNA オリガミを近づけただけでは不十分であり、適切に DNA どうしを分子的に結合した状態にする必要がある。具体的には、距離が十分近い DNA の 5' 末端と 3' 末端を結合させる。提案のソフトウェアは、幾何学的に無理なく結合できる DNA を抽出するアルゴリズムが実装されており、効率よく設計支援を行う仕組みを備えている。

(4) 開発したソフトウェアによる DNA オリガミヘテロ多量体の設計、実験的作製・観察

提案手法の有効性を検証するために DNA オリガミヘテロ多量体を実際に設計し、実験的に作製し、できたナノ構造を観察する。具体的な形状として、様々な形状を設計した。例えば、4 枚の台形形状と四角い筒が結合した構造、弓のような変形モジュールが 19 個連結した構造、7 枚の四角い板が結合した柔軟な七角形構造、などを設計する。筒構造は、脂質二重膜に穴を開け、分子を通過させる人工チャネルとして機能させる。モジュールが連結した構造は、小さな変形を蓄積させ、直線から U 字型に変形する分子アクチュエータとして機能させる。七角形構造は、辺の柔軟性や他の構造との結合の可否を制御することで、様々な形態を形成させることができるプログラマブルなモジュールとして利用する。いずれの構造も実験的に作製し、その機能を確認する。

4. 研究成果

DNA オリガミの設計データを蓄積するデータベースを開発し、申請者が様々な標準形状の設計図を登録した。例えば、480 を超える様々なサイズの四角形構造、110 を超える 4 ヘリックスバンドル、30 を超える 6 ヘリックスバンドル、500 を超える正方格子を使った直方体、180 を超える八ニカム格子を使った直方体が登録されている。そのほか、論文として報告された構造が 10 以上登録されている。本研究成果は 2020 年度の CBI 学会で報告した。データベースはすでにオンラインにあるものの、現在はパスワードをかけてアクセスを制限している。今後は論文報告を行い、データベースを公開する予定である。

データベースの開発と並行して、DNA オリガミ複合体を設計するためのソフトウェア開発を行った。ソフトウェアは上記(1)の単純化した DNA のモデル化を採用しており、高効率に DNA オリガミ分子を扱うことができる。さらにソフトウェアには、複数の設計図の読み込み、構造体の平行および回転移動、構造間の結合、塩基配列の出力、構造のグループ化、などの機能を実装した。本ソフトウェアはデータベースともリンクしており、専門家だけでなくも容易に利用可能である。この研究の成果は、2021 年度の計測自動制御学会に投稿および発表する予定である。

上記のソフトウェアに加え、DNA オリガミの粗視化分子動力学シミュレーションを行うウェブサーバーを構築し、初心者でも容易に構造の安定性などを解析できる環境を整えた。ウェブサーバーは簡易なインターフェースを持つウェブページにより、ユーザーから DNA オリガミの設計データおよび温度パラメータなどを受けとり、内部で自動的にシミュレーションとその解析を行う。粗視化分子動力学シミュレーションには、oxDNA と呼ばれる既存のパッケージを利用することで、信頼のおける精度で予測が行える上に、開発時間の大幅な短縮が可能となった。この成果は論文としてまとめ、Chem-Bio Informatics Journal に投稿し、採択が決定した。

本研究で培ったノウハウを活用することで、様々な DNA オリガミ構造体を作製し、その機能の評価することに成功した。例えば、微小な変形を蓄積し、環境応答して直線状から U 字に湾曲するような DNA ナノ構造体を作製し、Angewandte Chemie 誌において発表した。2 例目として柔軟な七角形状の構造体を作製し、その柔軟さや結合関係を制御することで、複数のモードにプログラム可能であることを、原子間力顕微鏡を用いて証明した。この成果は Micromachines 誌に掲載され、表紙に選ばれた。3 例目として、脂質膜を貫通し穴を開けることが可能な、筒と面が結合し

た DNA オリガミ構造体を作製し、蛍光分子が透過することを、蛍光顕微鏡を用いて証明した。この成果は、Chemical communications 誌に掲載され、裏表紙に選ばれた。さらに、DNA オリガミの研究を広めるため教科書「DNA origami 入門」を執筆し、2021 年 5 月に出版される予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Keita Abe, Satoshi Murata, Ibuki Kawamata	4. 巻 -
2. 論文標題 Cascaded pattern formation in hydrogel medium using the polymerisation approach	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Soft Matter	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yudai Yamashita, Kotaro Watanabe, Satoshi Murata, Ibuki Kawamata	4. 巻 21
2. 論文標題 Web Server with a Simple Interface for Coarse-grained Molecular Dynamics of DNA Nanostructures	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chem-Bio Informatics Journal	6. 最初と最後の頁 28-38
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1273/cbij.21.28	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Iwabuchi Shoji, Kawamata Ibuki, Murata Satoshi, Nomura Shin-ichiro M.	4. 巻 57
2. 論文標題 A large, square-shaped, DNA origami nanopore with sealing function on a giant vesicle membrane	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 2990-2993
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/d0cc07412h	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Karna Deepak, Stilgenbauer Morgan, Jonchhe Sagun, Ankai Kazuya, Kawamata Ibuki, Cui Yunxi, Zheng Yao-Rong, Suzuki Yuki, Mao Hanbin	4. 巻 32
2. 論文標題 Chemo-Mechanical Modulation of Cell Motions Using DNA Nanosprings	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 311-317
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.bioconjchem.0c00674	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shiyun Liu, Satoshi Murata, Ibuki Kawamata	4. 巻 11
2. 論文標題 DNA Ring Motif with Flexible Joints	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 micromachines	6. 最初と最後の頁 987
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi11110987	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yuki Suzuki, Ibuki Kawamata, Kohei Mizunom Satoshi Murata	4. 巻 59
2. 論文標題 Large deformation of a DNA origami nanoarm through the cumulative actuation of tension-adjustable modules	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 6230-6234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201916233	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taiki Watanabe, Yusuke Sato, Hayato Otaka, Ibuki Kawamata, Satoshi Murata, Shin-Ichiro M. Nomura	4. 巻 25
2. 論文標題 DNA Origami "Quick" Refolding inside of a Micron-Sized Compartment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules25010008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yusuke Sato, Ken Komiya, Ibuki Kawamata, Satoshi Murata, Shinichiro M. Nomura	4. 巻 55
2. 論文標題 Isothermal amplification of specific DNA molecules inside giant unilamellar vesicles	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 9084-9087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c9cc03277k	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Keita Abe, Ibuki Kawamata, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata	4. 巻 4
2. 論文標題 Programmable reactions and diffusion using DNA for pattern formation in hydrogel medium	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Systems Design & Engineering	6. 最初と最後の頁 639-643
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9ME00004F	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takuto Hosoya, Ibuki Kawamata, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata	4. 巻 37
2. 論文標題 Pattern Formation on Discrete Gel Matrix based on DNA Computing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New Generation Computing	6. 最初と最後の頁 97-111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00354-018-0047-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Thanapop Rodjanapanyakul, Fumi Takabatake, Keita Abe, Ibuki Kawamata, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata	4. 巻 97
2. 論文標題 Diffusion modulation of DNA by toehold exchange	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 52617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.97.052617	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Ibuki Kawamata, Yudai Yamashita, Kotaro Watanabe, Sho Aradachi, Satoshi Murata
2. 発表標題 Analysis of wireframe DNA nanostructure based on coarse-grained molecular dynamics simulated on a web server with simple interface
3. 学会等名 Chem-Bio Informatics Society (CBI) Annual Meeting 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川又生吹, 岩淵祥璽, 野村 M. 慎一郎, 村田智
2. 発表標題 筒状DNAオリガミ構造によるリボソーム内外の分子拡散にむけて
3. 学会等名 SIG-MBI
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ibuki Kawamata
2. 発表標題 Current and Future Trends of DNA Molecule Computation
3. 学会等名 SIG-NAC (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ibuki Kawamata, Sho Aradachi, Satoshi Murata
2. 発表標題 A database to store design information of DNA nanostructure
3. 学会等名 Molecular Robotics Session, Chem-Bio Informatics Society (CBI) Annual Meeting 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ibuki Kawamata, Shoji Iwabuchi, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata
2. 発表標題 Toward molecular diffusion through liposome membrane using DNA origami structure
3. 学会等名 Japanese Society for Cell Synthesis Research 12.0
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ibuki Kawamata, Sho Aradachi, Satoshi Murata
2. 発表標題 A database of cadnano file to store design information of DNA nanostructure
3. 学会等名 the 25th International Conference on DNA Computing and Molecular Programming (DNA25) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ibuki Kawamata, Sho Aradachi, Satoshi Murata
2. 発表標題 Toward making a database of design information of DNA nanostructure
3. 学会等名 Nucleic Acid Nanotechnology: from algorithmic design to biochemical applications (NANTECH2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ibuki Kawamata
2. 発表標題 Programming DNA reaction-diffusion system for pattern formation in hydrogel medium
3. 学会等名 Shaping Self-Assembled Mesoscale (Bio)Materials with Microengineering (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川又生吹.
2. 発表標題 基礎から学ぶ DNAナノ構造体の設計
3. 学会等名 分子口ボ若手会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ibuki Kawamata, Thanapop Rodjanapanyakul, Fumi Takabatake, Keita Abe, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata
2. 発表標題 Modulating diffusion speed of DNA by toehold exchange
3. 学会等名 The 45th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (ISNAC 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ibuki Kawamata, Satoshi Murata
2. 発表標題 Autonomous and Programmable Strand Generator Implemented as DNA Chemical Reaction Network
3. 学会等名 The Society of Instrument and Control Engineers Annual Conference (SICE 2018)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川又生吹
2. 発表標題 基礎から学ぶ DNAナノ構造体の設計
3. 学会等名 産総研BMRI若手会・新学術「分子ロボ」若手会ジョイントセミナー
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 川又生吹、鈴木勇輝、村田 智	4. 発行年 2021年
2. 出版社 オーム社	5. 総ページ数 272
3. 書名 DNA origami入門	

1. 著者名 川又生吹, 他 (分子ロボティクス研究会著), 村田智編	4. 発行年 2019年
2. 出版社 eBook Series No.3 情報計算化学生物学会 (CBI学会)出版	5. 総ページ数 312
3. 書名 分子ロボティクス概論 分子のデザインでシステムを創る	

1. 著者名 分子ロボティクス研究会	4. 発行年 2019年
2. 出版社 CBI	5. 総ページ数 302
3. 書名 分子ロボティクス概論	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------