

令和 2 年 6 月 26 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19834

研究課題名(和文) DNAナノ構造の階層的自己組織化による人工細胞核型分子ロボットの構築

研究課題名(英文) Hierarchical self-assembly of DNA nanostructures for the construction of artificial cellular nuclear molecular robots

研究代表者

瀧ノ上 正浩 (Takinoue, Masahiro)

東京工業大学・情報理工学院・准教授

研究者番号：20511249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：DNAマイクロゲルの技術を応用して、人工的な細胞核様構造を作り、分子ロボットとするため、DNAマイクロゲル自己組織化技術に関して研究を実施した。DNAマイクロゲルは、化学合成の短鎖DNAで作製したY字型のDNAナノ構造を会合反応によりネットワーク状に集積させてゲル状にして作った。DNAがゲル粒子状態だけでなく液滴状態になることを発見した。DNA液滴の相転移や相分離の挙動の配列依存的な特性の制御に関する実験に成功した。外部からの分子刺激(タンパク質)によって、DNAゲルが相分離するパターンや分裂する現象などを示した。以上により、人工細胞核型分子ロボットの構築と制御の基礎が固まった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、通常、ゲル構造しか作らないと考えられていたDNAナノ構造が、ある条件下では、液-液相分離により、塩基配列でプログラムなDNA液滴(DNA droplet)を形成したり、粘弾性相分離によってポーラス状のカプセル構造を形成できることが分かった。また、タンパク質を集積させたり、タンパク質刺激によって構造を変化させたりすることができるため、分子センサーや人工オルガネラなどの新奇バイオナノテクノロジーの開拓に成功した。

研究成果の概要(英文)：In order to apply DNA microgel technology to create artificial cell-nucleus-like structures for molecular robots, research was carried out on DNA microgel self-assembly technology. The DNA microgels were made by the hybridization of Y-shaped DNA nanostructures, which were made of chemically synthesized short-stranded DNA. It was discovered that DNA forms not only the gel particle state but also the droplet state. Experiments on sequence-dependent control of the phase transition and phase separation behavior of DNA droplets were successfully performed. The phase separation pattern and the splitting of DNA gel induced by external molecular stimuli (proteins) were demonstrated. In conclusion, we have developed the fundamental technologies for the construction and control of an artificial nuclear molecular robot.

研究分野：生物物理学

キーワード：DNAナノテクノロジー 分子ロボティクス 人工細胞工学 生物物理学 DNA液滴 人工細胞核 人工ク  
ロマチン 人工核様体

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。

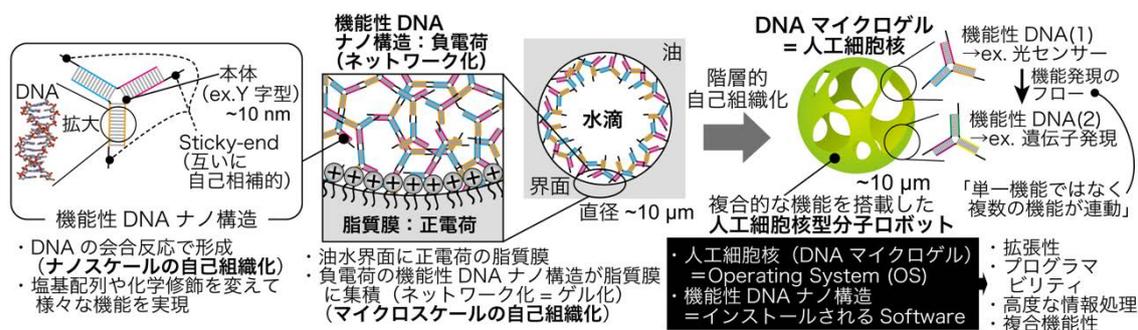
## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生命システムは情報と実体が一体化したシステムであるため、進化を通して高機能化し、超精巧なロボットといえるまでに発展した。しかしながら、このようなシステムを自在に設計・構築・制御するというレベルにはまだ到底及ばない。一方、近年 DNA ナノテクノロジーが発展し、DNA 分子コンピュータや DNA ナノ構造の構築ができるようになってきた。DNA はまさに情報と実体が一体化した工学的に容易に操作できるほぼ唯一の分子であり、DNA をベースに自律的な分子ロボットや人工細胞を構築する技術を開拓していくことは、生物物理学やポストシリコンを見据えた情報科学において非常に重要である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、生命システムのような動的な自己組織化分子システムを設計・創製・制御するための革新的な分子情報技術の創出を目指すことである。具体的には、DNA 会合反応による機能性 DNA ナノ構造のナノスケールでの自己組織化と、マイクロ水滴界面をテンプレートにしたマイクロスケールでの自己組織化を組み合わせ、DNA を階層的に自己組織化させた「人工細胞核型分子ロボット」の実現を目指す。この分子ロボットに搭載できる機能は、DNA 塩基配列のコンピュータ設計によりプログラマブルである。DNA コンピューティング反応による高度な分子情報処理に加え、ソフトマターとしての DNA の物理・化学特性により、環境応答や変形運動など動的な特性を出せる。さらに、人工細胞核型分子ロボットを発展させ、自律的マイクロ分子ロボットや、生細胞内で遺伝子発現等を制御する細胞制御分子ロボットなどへの応用のための基礎技術も開拓する。



### 3. 研究の方法

当研究室で開発してきた DNA マイクロゲル・DNA マイクロ液滴の技術を応用して、細胞核の階層的な自己組織化をモデル化した、人工的な細胞核様構造を作り、分子ロボットの本体とした。その後、人工細胞核を自在に制御するために、化学物質などへの刺激応答機構や、DNA 塩基配列として組み込んだ機能の発現を制御する機構などを人工細胞核に搭載できるようにする技術の開発を行った。また、これらの機能を統合し、複合的な機能を発揮できるようにし、人工細胞核型分子ロボットを実現した。DNA ナノテクノロジーの利点である、DNA 塩基配列プログラミングによる汎用化を目指して研究を行った。

機能性 DNA ナノ構造は、分子刺激応答などの機能を搭載する本体 (Y 字などの部分) と、その末端にある Sticky-end 配列からなる。Sticky-end は短い一本鎖配列部位であり、DNA ナノ構造同士を連結しネットワーク形成させ、DNA をゲル化させる。ここでは、マイクロゲルを作るために、マイクロサイズの油中水滴の界面に正帯電脂質を配しておくことで、負に帯電した DNA を集積させてカプセル状にゲル化させた。膜がなくてもゲル化することを確認した。このゲル状構造が、実際の細胞核と類似した構造を持つ (細胞核ではゲノム DNA がヒストンタンパク質でネットワーク化され核膜内壁に一種のゲル化した状態でクロマチン構造を作っている)。

上記の本体 (Y 字など) の部分に、分子刺激応答性 (分子センシング機能) の化学合成塩基 (ここでは RNA) を修飾したタンパク質 (RNA 分解酵素 RNase A) に応答して DNA マイクロ構造が分裂するような制御システムの構築を行った。さらに、本体の配列に RNA 転写ができる配列を組み込み、遺伝子 (RNA) の転写が可能なシステムを作った。

このように、DNA マイクロ構造 (人工細胞核) を基盤にプログラマビリティ・拡張性のある人工細胞核型分子ロボットの基盤技術を開発した。

### 4. 研究成果

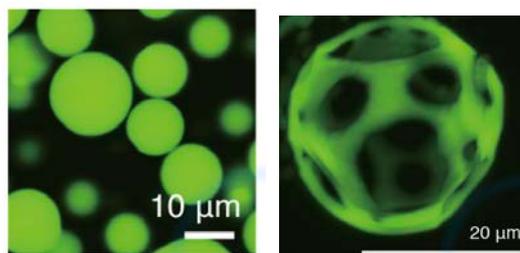
申請者が開発してきた DNA マイクロゲルの技術を応用して、人工的な細胞核様構造を作り、分子ロボットとするため、DNA マイクロゲル自己組織化技術に関して研究を実施した。DNA マイクロゲルは、化学合成の短鎖 DNA で作製した Y 字型の DNA ナノ構造を会合反

応によりネットワーク状に集積させてゲル状にして作った。Y字型 DNA ナノ構造は、将来的に光刺激・分子応答などの機能を搭載する本体の Y 字部分と、Y 字構造の末端にある Sticky-end (粘着末端) からなる。Sticky-end は数塩基の一本鎖配列部位であり、DNA ナノ構造同士を連結しネットワーク形成に寄与する。ここでは、マイクロゲルを作るために、2つの方法を利用した。

1つ目の方法では、バルクの水溶液中で核形成と成長によりマイクロゲルを構築した。2つ目の方法では、マイクロサイズの油中水滴の界面に正帯電脂質を配しておくことで、負に帯電した DNA を集積させてカプセル状にゲル化させた。

これらの方法を用い、以下のような成果が得られた。

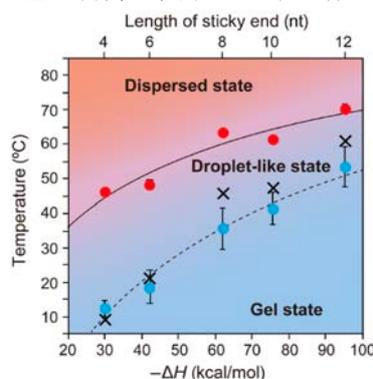
(1) DNA マイクロゲルが、マイクロ油中水滴界面で自己組織化する際に、液体的な振る舞いを示しながら、粘弾性的な相分離によって、ポーラスなカプセル構造を作ることが分かり、実験とともに、数理モデルによってその挙動を解析することができた。



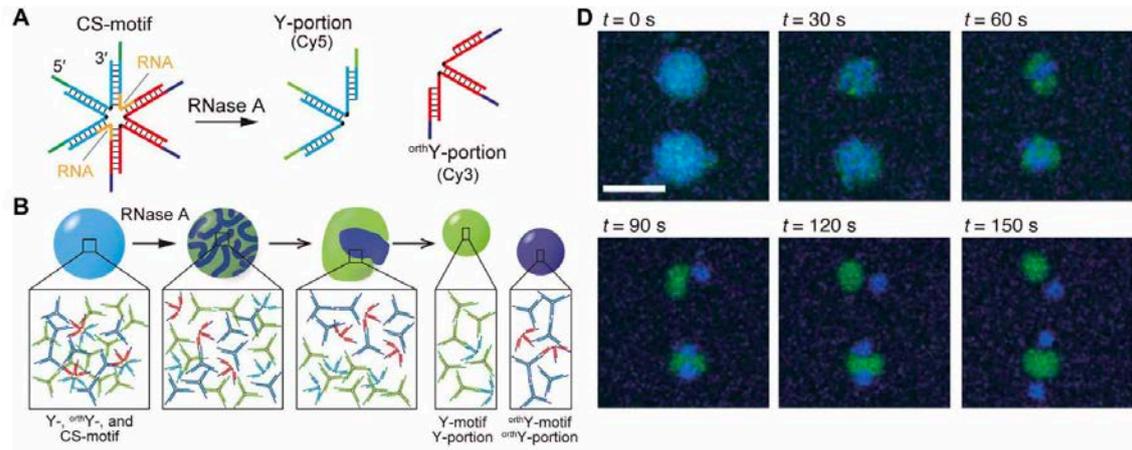
(2) 合成 DNA による細胞核様ゲル構造の形状や強度等の物性の制御を行った。Sticky-end の配列長を長くすることで安定なゲルができることが分かった。一方で、長すぎると、上記のポーラス構造ができにくくなるなど、熱力学的な安定性と、相分離の動的な挙動のバランスが重要であることが分かった。

(3) DNA に光架橋のための非天然塩基を組み込むことで、DNA マイクロゲルが安定化するとともに、実験のための回収が容易にできるようになることがわかった。

(4) DNA がゲル粒子状態だけでなく液滴状態になることを発見した。DNA 液滴の相転移や相分離の挙動の配列依存的な特性の制御に関する実験に成功した。

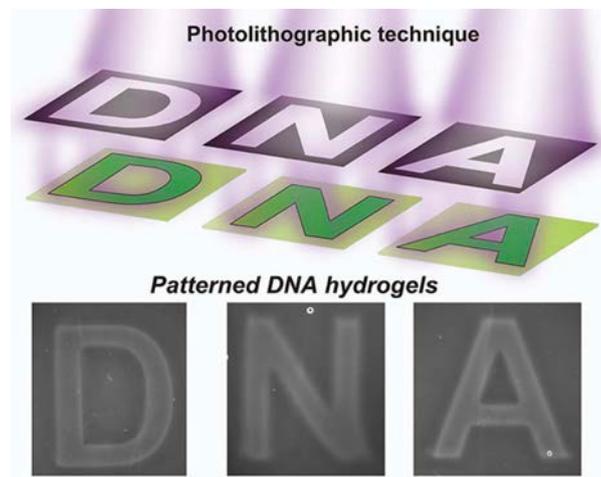


(5) 外部からの分子刺激 (タンパク質) によって、DNA ゲルが相分離するパターンや分裂する現象などを示した。



(6)さらに人工細胞核にタンパク質等の他の物質を導入できることを示すため、タンパク質を配列特異的に、DNAゲルの適切な場所への集積ができることも示した。

(7)DNAゲルのフォトリソグラフィ技術を確立し、複雑な形状の人工細胞核を作製することができるようになった。これにより、人工細胞核のためのマイクロゲル構造の量産化や均一サイズのものを利用することによる定量解析などができるようになった。



以上により、人工細胞核型分子ロボットの構築と制御の基礎が固まった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Sato Yusuke, Sakamoto Tetsuro, Takinoue Masahiro	4. 巻 6
2. 論文標題 Sequence-based engineering of dynamic functions of micrometer-sized DNA droplets	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaba3471
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aba3471	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 Hayakawa Masayuki, Kishino Yusuke, Takinoue Masahiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Collective Ratchet Transport Generated by Particle Crowding under Asymmetric Sawtooth Shaped Static Potential	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Advanced Intelligent Systems	6. 最初と最後の頁 2000031 ~ 2000031
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/aisy.202000031	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 Masukawa Marcos K., Hayakawa Masayuki, Takinoue Masahiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Surfactant concentration modulates the motion and placement of microparticles in an inhomogeneous electric field	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 8895 ~ 8904
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0RA00703J	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 Kasahara Yu, Sato Yusuke, Masukawa Marcos K., Okuda Yukiko, Takinoue Masahiro	4. 巻 4
2. 論文標題 Photolithographic shape control of DNA hydrogels by photo-activated self-assembly of DNA nanostructures	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 APL Bioengineering	6. 最初と最後の頁 016109 ~ 016109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5132929	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 Masayuki Hayakawa, Satoshi Umeyama, Ken Nagai, Hiroaki Onoe, Masahiro Takinoue	4. 巻 8
2. 論文標題 Controlled Construction of Stable Network Structure Composed of Honeycomb-Shaped Microhydrogels	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.3390/life8040038	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 Marcos Kunihiro Masukawa, Masayuki Hayakawa, Masahiro Takinoue	4. 巻 1
2. 論文標題 Electric control of microparticles based on surfactant adsorption: prospective actuation of soft robots	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc. microTAS 2018	6. 最初と最後の頁 352-354
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 Ishikawa Daisuke, Suzuki Yuki, Kurokawa Chikako, Ohara Masayuki, Tsuchiya Misato, Morita Masamune, Yanagisawa Miho, Endo Masayuki, Kawano Ryuji, Takinoue Masahiro	4. 巻 58
2. 論文標題 DNA Origami Nanoplate Based Emulsion with Nanopore Function	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 15299 ~ 15303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201908392	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, Masahiro Takinoue	4. 巻 10
2. 論文標題 Creation of artificial cell-like structures promoted by microfluidics technologies	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 216
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi10040216	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 Masayuki Hayakawa, Yusuke Kishino, Masahiro Takinoue	4. 巻 1
2. 論文標題 The Collective Transport of Microparticles under an Asymmetric Electric Field	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proc. MEMS 2019	6. 最初と最後の頁 43-46
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 佐藤 佑介, 瀧ノ上 正浩	4. 巻 18
2. 論文標題 配列設計と相転移に基づいた DNA マイクロ構造の構築と制御	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 化学とマイクロ・ナノシステム	6. 最初と最後の頁 24-27
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 無
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24件 (うち招待講演 8件/うち国際学会 6件)

1. 発表者名 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 Artificial cell-like molecular robots based on DNA self-assembly
3. 学会等名 Earth-Life Science Institute (ELSI) Colloquium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 DNA microgels and microdroplets toward artificial cell-like systems
3. 学会等名 Seminar of Laboratory Jean Perrin, University Pierre and Marie Curie (UPMC) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 DNA microgel/droplets technology toward artificial cells
3. 学会等名 Seminar of Prof. Simmel Lab., Technische Universitat Munchen (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 細胞型分子ロボットへ向けたDNAソフトマター物理学
3. 学会等名 新化学技術推進協会 電子情報技術部会 マイクロナノシステムと材料・加工分科会 講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤佑介, 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 配列設計と相転移の制御によるDNA液滴の創出
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会11.0
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 笠原悠, 佐藤佑介, 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 光照射によるDNAマイクロ構造体の形成と熱力学的特性の解析
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会11.0
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 MASUKAWA Marcos Kunihiro, 早川雅之, 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 Electric control of microparticles based on surfactant adsorption: prospective actuation of soft robots
3. 学会等名 22nd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤佑介, 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 DNAナノ構造の相転移制御による情報を持つ液滴の創出
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第38回研究会(CHEMINAS38)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中島 裕司, 笠原 悠, 瀧ノ上 正浩
2. 発表標題 Construction of DNA hydrogel microcapsules using water-in-oil droplet interface
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森田 雅宗, 瀧ノ上 正浩, 村田 智
2. 発表標題 Environment-dependent assembly of DNA nanostructures on phase-separated lipid bilayer membranes
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 笠原 悠, 瀧ノ上 正浩
2. 発表標題 Analysis of the thermodynamic property of DNA microstructures formed by photo-irradiation
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阪本 哲郎, 森田 雅宗, 瀧ノ上 正浩
2. 発表標題 Numerical simulation of phase separation-based formation of cell nucleus-like DNA gel capsule
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡邊 弘貴, 瀧ノ上 正浩
2. 発表標題 Design and analysis of DNA network with consciousness based on integrated information theory
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 Construction of cell-inspired molecular robots based on microfluidics of bio soft matter
3. 学会等名 International Symposium on SSS Laser Processing (3S-LP) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 Phase-separated DNA microdroplets controlled by base sequence information
3. 学会等名 アクティブマター研究会2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 化学振動反応の制御のためのドロップレットマイクロ流体デバイス
3. 学会等名 研究会「生物学・化学・数理科学から見抜くリズム現象の本質」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 DNAマイクロ構造における相転移と分子ロボティクスへの展開
3. 学会等名 日本学術会議「第4回理論応用力学シンポジウム」力学と新学術の融合(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masayuki Hayakawa, Yusuke Kishino, Masahiro Takinoue
2. 発表標題 The Collective Transport of Microparticles under an Asymmetric Electric Field
3. 学会等名 The 32nd IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤佑介, 阪本哲郎, 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 DNAナノ構造の自己集合と相転移による「DNA液滴」の創出と制御
3. 学会等名 第2回分子ロボティクス年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本陽大, 阪本哲郎, 佐藤佑介, 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 DNAゲル-液滴-溶解のメカニズム解明を目指した数理モデルの構築
3. 学会等名 第2回分子ロボティクス年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中島裕司, 佐藤佑介, 瀧ノ上正浩
2. 発表標題 機能性DNAゲルマイクロカプセルの構築
3. 学会等名 第2回分子ロボティクス年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 阪本 哲郎, 佐藤 佑介, 瀧ノ上 正浩
2. 発表標題 DNA液滴によるマイクロポーラス構造形成
3. 学会等名 第2回分子ロボティクス年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 MASUKAWA K. Marcos, 早川 雅之, 瀧ノ上 正浩
2. 発表標題 Manipulation of microparticles with electric fields modulated by surfactant as molecule-electrode interface
3. 学会等名 第2回分子ロボティクス年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 笠原 悠, 佐藤 佑介, 瀧ノ上 正浩
2. 発表標題 光照射によるDNAハイドロゲル形成の空間的制御
3. 学会等名 第2回分子ロボティクス年次大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

瀧ノ上研究室ホームページ <a href="http://www.takinoue-lab.jp">http://www.takinoue-lab.jp</a>
---

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