

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2016

課題番号：25706009

研究課題名(和文) DNAナノ構造体によるナノ粒子超構造の構造制御

研究課題名(英文) Nanoparticle Assembly mediated by Designed DNA Nanostructures

研究代表者

田川 美穂 (Tagawa, Miho)

名古屋大学・未来材料・システム研究所・准教授

研究者番号：40512330

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,700,000円

研究成果の概要(和文)：ナノ粒子の空間配置を高度に制御し、他の方法では成し得ない自由なナノ粒子超格子構造の設計・作成が可能となることを示した。

DNA正四面体を介在させたDNA-NPの結晶化の課題では、結晶性の向上により、間違いなくダイヤモンド構造ができていたことを小角散乱で示した。

二次元結晶化では、イオン濃度調整のみで正方格子と三角格子を構造制御できることを示した。また、基板となるSLBの相転移・相分離が吸着DNA-NPの結晶化に与える影響を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated the formation of lattice using DNA-functionalized nanoparticles (DNA-NPs) linked by DNA tetrahedral constructs. DNA tetrahedron has four symmetrical connecting bonds and plays a determining role in the inter-particle bonding; that allows for control of particles coordination. Using small angle x-ray scattering analysis, we observed and revealed the assembly of DNA-NPs into a diamond structure.

We also performed two-dimensional programmable assembly of nanoparticles on supported lipid bilayers (SLBs). Owing the high mobility of lipid molecules, two-dimensional diffusion of DNA-NPs on SLB was achieved. Using AFM imaging, we studied the morphology of the formation of DNA-NPs on SLB and its changes with annealing. We observed that DNA-NPs assemble into a densely-packed single-layered two-dimensional lattice through DNA hybridization.

研究分野：ナノバイオサイエンス

キーワード：DNA ナノ粒子 self-assembly 自己集合 超格子構造 コロイド結晶

1. 研究開始当初の背景

光学的、触媒的、電気的に特異な性質をもつナノ粒子の応用は学術的にも工業的にも期待が大きい。それらをどう組み立てるか、またその超構造をどう制御するかは重要課題である。ここで、ナノ粒子の特異的な性質を特性の揃った状態で利用するためには、粒子間の距離や方向を精密に制御した上で結晶化することが非常に重要となる。しかしながら、ナノ粒子の配置をプログラマブルに制御し、結晶化する方法は未だ確立していない。この問題を解決するための一つの方法は、構成粒子間の相互作用に“コード可能な”ものを利用することである。プログラム可能な性質を持ち、かつ比較的安定な生体分子である“DNA”は、最も有力な分子である。

ナノ粒子表面にDNAを結合させてコード化すると、DNAの相補性により粒子間の相互作用が制御され、超格子構造を形成する[1, 2]。DNAの長さや配列、ナノ粒子の大きさを変えることで、ナノ粒子超格子構造の結晶構造を変えることができる。しかしこの方法ではDNAの結合手の数を制御できないため、作成できる結晶構造に限りがある。

そこで研究代表者らは、ナノ粒子間の空間配置をより精密に制御し、超構造制御の自由度を広げようと、“DNAナノ構造体を介在させたDNA修飾ナノ粒子(DNA-NP)の結晶化”という新しい方法を考え出した[3]。DNAナノ構造体の設計自由度及びプログラマビリティを利用して結合の手の数や方向、距離、結合力等を制御することにより、鎖状のDNA分子のみで構造制御する方法よりもさらに精密な構造制御を行う方法である。

<引用文献>

D. Nykypanchuk et al., *Nature* 451, 549-552, 2008.

R. J. Macfarlane et al., *Science* 334, 204-208, 2011.

Oleg Gang, Fang Lu, Miho Tagawa, Rational Assembly of Nanoparticle Superlattices with Designed Lattice Symmetries, 出願番号 61/587,786, January, 2012.

2. 研究の目的

新規材料開発及びナノテクノロジーにおける重要課題の一つに、ナノ粒子等のナノ材料の結合/配置を精密制御し、プログラマブルかつボトムアップ的にアセンブリするための技術開発がある。本研究では、数本のDNAから成る“DNAナノ構造体”を介在させてナノ粒子を二次元、三次元の秩序的な構造へとプログラマブルにアセンブルし、ナノ粒子超構造を構築する技術を開発する。自由な構造設計が可能で特異的分子認識能力が高いDNAナノ構造体を介在させることにより、

ナノ粒子の空間配置を高度に制御し、他の方法では成し得ない自由な超構造設計が可能となることを示す。新規の構造と機能を創発し、新しい物理に基づいた新技术を興すことが目的である。

3. 研究の方法

研究の進展により、申請時に記載した実験計画から幾つか変更が生じたものの、ナノ粒子の空間配置を2次元・3次元で高度に制御し、他の方法では成し得ない自由なナノ粒子超格子構造の設計・作成が可能となることを示す、という当初の目的には変更がなかった。本研究では、DNA構造体及びDNA修飾ナノ粒子(DNA-NP)を用いた3次元のナノ粒子超格子構造の結晶化、及びDNAと基板担持脂質二重膜(SLB)を用いた2次元のナノ粒子超格子構造の結晶化を並行して行った。SLBを用いた2次元のナノ粒子結晶化に関しては構想自体が新しく、また二次元のナノ粒子の可逆的な構造制御という観点でも過去に例のない研究である。

4. 研究成果

(1) DNA修飾ナノ粒子(DNA-NP)の3次元結晶化

DNA正四面体を介在させたDNA-NPの結晶化の課題では、申請時には実現できていなかった結晶性の向上により、間違いなくダイヤモンド構造ができていることを小角散乱により示すことができた。また、何故ダイヤモンド構造になったかという疑問を徹底的に追求し、解明した。成果はサイエンス誌に掲載された。1つのDNA正四面体に4つのDNA-NPが配位する模式図を図1に示す。

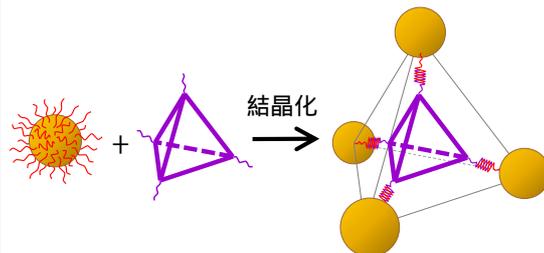


図1. DNA-NPとDNA正四面体の結晶化

また、DNA-NPの二次元結晶化において、陽イオン添加によりDNA-NPの隣接粒子数を変化させられることを発見した。これを3次元結晶に応用し、陽イオン添加時のDNA-NP超格子の構造変化を小角散乱により測定し、2次元とは異なる変化を示すことを解明した。

(2) 基板担持脂質二重膜(SLB)を用いたDNA-NPの2次元結晶化

DNA-NP表面に結合させるDNAの塩基配列設計だけでなく、添加する陽イオンの種類・濃度によって隣接粒子数を変化させ、2次元格子の構造を変えられることを発見した。イオン濃度調整のみで正方格子と三角格子を作り

分けられること、また DNA 配列設計により格子定数も変えられることを実験的に示した。また、基板となる SLB の相転移や相分離現象が吸着した DNA-NP の結晶化に与える影響を調べ、DNA-NP の拡散と二次元結晶化への影響を明らかにした。本課題で用いた DNA-NP の模式図を図 2 に示す。SLB 上で結晶化した後の AFM 像を図 3 に示す。

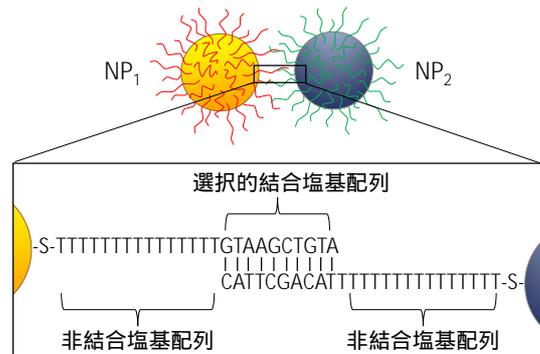


図 2 . 相補的な DNA が修飾された二種類の DNA-NP

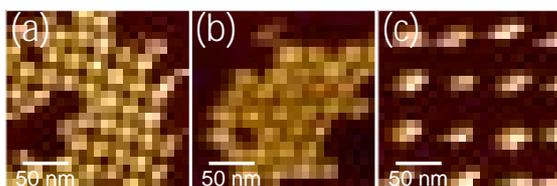


図 3 . SLB 上 DNA-NP の二次元超格子構造の AFM 像 . (a) 25 塩基 DNA, 50 mM Mg^{2+} 緩衝液内 (b) 25 塩基 DNA, 100 mM Mg^{2+} 緩衝液内 (c) 70 塩基 DNA, 100 mM Mg^{2+} 緩衝液内

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

Takumi Isogai, Sakiko Nakada, Naoya Yoshida, Hayato Sumi, Ryugo Tero, Shunta Harada, Toru Ujihara, Miho Tagawa, Phase transition process in DDAB supported lipid bilayer, *J. Cryst. Growth*, 2017, 査読有, in press .

田川美穂, ナノ粒子超格子のダイヤモンド系列, サイエンス誌に載った日本人研究者 (AAAS) P21, 2017 年 3 月, 査読無 .

Wenyan Liu, Miho Tagawa, Huolin Xin, Tong Wang, Hamed Emamy, Huilin Li, Kevin G. Yager, Francis W. Starr, Alexei V. Tkachenko, Oleg Gang, Diamond Family of Nanoparticle Superlattices, *Science*, 351, 6273, 582-586, 2016, 査読有 .

Takumi Isogai, Eri Akada, Sakiko Nakada, Naoya Yoshida, Ryugo Tero, Shunta Harada, Toru Ujihara, Miho Tagawa, Effect of magnesium ion concentration on two-dimensional structure of DNA-functionalized nanoparticles on supported lipid bilayer, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 55, 03DF11, 2016, 査読有 .

T. Isogai, A. Piednoir, E. Akada, Y. Akahoshi, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara, M. Tagawa, Forming two-dimensional structure of DNA-functionalized Au nanoparticles via lipid diffusion in supported lipid bilayers, *J. Cryst. Growth* 401, 494-498, 2014, 査読有 .

田川美穂, DNA と基板担持脂質二重膜とを用いたナノ粒子の結晶化, 応用物理学会有機分子・バイオエレクトロニクス分科会誌, 25, 2, 145-148, 2014, 査読無 .

〔学会発表〕(計 24 件)

Miho Tagawa, Nanoparticle Assembly mediated by Designed DNA Nanostructures, Programmable Self-Assembly of Matter, New York University, USA, June 30th-July 2nd, 2013 .

T. Isogai, A. Piednoir, E. Akada, Y. Akahoshi, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara, M. Tagawa, Two-dimensional crystallization of DNA-functionalized nanoparticles via lipid diffusion in supported lipid bilayers, 15th International Summer School on Crystal Growth (ISSCG-15), Gdansk University of Technology, Poland, August 4-10th, 2013 .

T. Isogai, A. Piednoir, E. Akada, Y. Akahoshi, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara, M. Tagawa, Forming two-dimensional structure of DNA-functionalized Au nanoparticles via lipid diffusion in supported lipid bilayers, 17th International Conference on Crystal Growth and Epitaxy (ICCGE-17), University of Warsaw, Poland, August 11-16th, 2013 .

磯貝卓巳, Agnes Piednoir, 赤田英里, 赤星祐樹, 手老龍吾, 原田俊太, 宇治原徹, 田川美穂, 脂質分子をキャリアとした DNA 被覆金ナノ粒子の 2 次元結晶化, 応用物理学会第 74 回応用物理学会秋季学術講演会, 同志社大学京田辺キャンパス, 2013 年 09 月 16 日 .

Miho Tagawa, DNA-mediated Nanoparticle Assembly, The 2nd International Workshop on Convergence in Condensed Matter and Nano Physics, Sungkyunkwan University, Korea, October 7-9th, 2013 .

田川美穂, ガング・オレグ, 磯貝卓巳, 赤田英里, 宇治原徹, 第 51 回日本生物物理学会年会シンポジウム・反応場デザインによる生命現象の再構成-創って知る生物物理-, 国立京都国際会館, 2013 年 10 月 29 日 .

勝野弘康, 田川美穂, 宇治原徹, ブラウニアン動力学法を用いた2次元2成分結晶の構造形成シミュレーション, 日本結晶成長学会第43回結晶成長国内会議(NCCG-43), 長野市生涯学習センター, 2013年11月08日.

田川美穂, DNAと基板担持脂質二重膜とを用いたナノ粒子の結晶化, 応用物理学会有機分子・バイオエレクトロニクス分科会研究会, キャンパスプラザ京都, 2014年6月21日.

Miho Tagawa, Oleg Gang, Takumi Isogai, Sakiko Nakada, Eri Akada, Shunta Harada, Toru Ujihara, DNA-mediated Nanoparticle Crystallization, Material Architectonics on Sustainable Action (MASA), NIMS, Tsukuba, July 19th, 2014.

中田咲子, 赤田英里, 磯貝卓巳, 手老龍吾, 原田俊太, 宇治原徹, 田川美穂, 脂質二重膜上におけるDNA被覆金ナノ粒子の拡散現象, 第75回応用物理学会秋季学術講演会, 北海道大学, 札幌, 2014年9月19日.

T. Isogai, E. Akada, S. Nakada, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara and M. Tagawa, Two-dimensional assembly of Au nanoparticles through DNA hybridization on supported lipid bilayer, 20th International Conference on DNA Computing and Molecular Programming (DNA20), Kyoto University, Kyoto, September 22-26th, 2014.

磯貝卓巳, 赤田英里, 勝野弘康, Piednoir Agnes, 赤星祐樹, 手老龍吾, 原田俊太, 宇治原徹, 田川美穂, 基板担持脂質二重膜を用いたDNA被覆金ナノ粒子の2次元結晶化, 日本化学会第94春季年会, 名古屋大学東山キャンパス, 2014年3月29日.

磯貝卓巳, 赤田英理, 中田咲子, 吉田直矢, 手老龍吾, 原田俊太, 宇治原徹, 田川美穂, 脂質二重膜上におけるDNA被覆金ナノ粒子のセルフアセンブリに対するイオンの効果, 第62回応用物理学会春季学術講演会, 東海大学 湘南キャンパス, 神奈川県, 2015年3月11日.

中田咲子, 赤田英里, 磯貝卓巳, 吉田直矢, 手老龍吾, 原田俊太, 宇治原徹, 田川美穂, 脂質二重膜の性質が膜上のDNA被覆金ナノ粒子に及ぼす影響, 第76回応用物理学会秋季学術講演会, 名古屋国際会議場, 愛知県, 2015年9月15日.

吉田直矢, 赤田絵里, 磯貝卓巳, 中田咲子, 原田俊太, 宇治原徹, 田川美穂, 2種のDNAを被覆したナノ粒子の構造体の粒子間距

離分布, 第76回応用物理学会秋季学術講演会, 名古屋国際会議場, 愛知県, 2015年9月15日.

田川美穂, DNAナノ構造体によるナノ粒子超構造の構造制御, 戦略目標「プロセスインテグレーションによる次世代ナノシステムの創製」3研究領域合同公開シンポジウム, コクヨホール, 東京都, 2015年9月29日.

磯貝卓巳, 赤田英里, 中田咲子, 吉田直矢, 手老龍吾, 原田俊太, 宇治原徹, 田川美穂, 脂質二重膜上のDNA被覆ナノ粒子の2次元配列に及ぼすマグネシウムおよび脂質膜形状の影響, 第45回結晶成長国内会議(NCCG-45), 北海道大学学術交流会館, 2015年10月19日.

S. Nakada, E. Akada, T. Isogai, N. Yoshida, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara, M. Tagawa, Lipid diffusion and phase transition: Influence on DNA-functionalised nanoparticle adsorbates., 5th International Colloids Conference, NH Amsterdam Grand Hotel Krasnapolsky, Amsterdam, The Netherlands, June 22, 2015.

T. Isogai, E. Akada, S. Nakada, N. Yoshida, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara, M. Tagawa, Effect of magnesium ion concentration on the two-dimensional structure of DNA-functionalized nanoparticles on supported lipid bilayer, 第8回有機分子・バイオエレクトロニクス国際会議(M&BE8), Tower Hall Funabori, Tokyo, June 22, 2015.

磯貝卓巳, 中田咲子, 赤田英里, 吉田直矢, 鷺見隼人, 手老龍吾, 原田俊太, 宇治原徹, 田川美穂, DDAB平面脂質二重膜の相転移過程の直接観察, 第63回応用物理学会春季学術講演会, 東工大大岡山キャンパス, 東京都, 2016年3月19日.

②1 鷺見隼人, 磯貝卓巳, 中田咲子, 吉田直矢, 原田俊太, 宇治原徹, 田川美穂, 超格子構造中のDNA被覆金ナノ粒子の融合に向けた粒子間距離収縮とナノ粒子融合, 第63回応用物理学会春季学術講演会, 東工大大岡山キャンパス, 東京都, 2016年3月19日.

②2 T. Isogai, S. Nakada, N. Yoshida, H. Sumi, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara, M. Tagawa, Phase transition process in DDAB supported lipid bilayer", the 18th International Conference on Crystal Growth and Epitaxy (ICCGE-18), Nagoya, August 9.

⑳ T. Isogai, N. Yoshida, H. Sumi, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara, M. Tagawa, Controlling two-dimensional structure of DNA-linked Au nanoparticle lattices on supported lipid bilayer, The 22nd International Conference on DNA Computing and Molecular Programming (DNA22), Munchen, September 4-8, 2016.

Brookhaven National Lab.

Starr, Francis
Wesleyan Univ.

㉑ 鷺見 隼人, 磯貝 卓巳, 吉田 直矢, 原田 俊太, 宇治原 徹, 田川 美穂, DNA 修飾ナノ粒子超格子を前駆体としたウルフ多面体型コロイド結晶の形成, 第 64 回応用物理学会春季学術講演会, パシフィコ横浜, 神奈川県 2017 年 3 月 17 日.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 超格子構造体、およびその製造方法
発明者: 鷺見隼人、田川美穂、宇治原徹
権利者: 名古屋大学
種類: 特許
番号: 2017-046570
出願年月日: 2017 年 3 月 10 日
国内外の別: 国内

取得状況 (計 1 件)

名称: 2 次元ナノ粒子構造体及びその製造方法
発明者: 田川美穂、宇治原徹、磯貝卓巳、赤田英里
権利者: 名古屋大学
種類: 特許
番号: 6086595
取得年月日: 2017 年 2 月 10 日
国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

http://profs.provost.nagoya-u.ac.jp/view/html/100006436_ja.html

<http://www.numse.nagoya-u.ac.jp/ujihara/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田川 美穂 (TAGAWA, Miho)
名古屋大学・未来材料・システム研究所・
准教授
研究者番号: 40512330

(2) 研究協力者

GANG, Oleg
Brookhaven National Lab.

Yager, Kevin