

## DNA タイルの高信頼度セルフアセンブリ技術の研究

村田 智 (東京工業大学)  
柳田保子 (東京工業大学)

### 1. 研究の目的

計算そのほかの機能を分子的に実現するシステムを構築することが分子プログラミングの目的になっているが、そのためには、多数の分子が複雑に作用しあうシステムを確実に動作させる方法論が必要である。本研究班では、DNA タイルの高信頼度セルフアセンブリを中心に、その方法論に関する研究に取り組む。DNA タイルは計算論的自己組み立て (Algorithmic Self-Assembly) が可能な分子素子であり、単純な計算 (排他的論理和や二進計数器) については、ある程度の素子の集積が可能なが実験的に確かめられている。しかしこれを实用レベル (数万タイル以上) にするためには、誤りのないセルフアセンブリプロセスを実現する方法論が必要である。このため、DNA タイルの複層化によるエラー率低減モデルの実装を行い、その効果を実験的に検証する。また、直接セルフアセンブリ環境を制御することによりエラー率を低減する方法として、マイクロ流体デバイス内のセルフアセンブリ環境の構築をおこなう。マイクロ流体デバイスについては、萩谷班の藤井 (東京大学) と共同で研究をすすめる。さらに、タンパク質などのナノ粒子をセルフアセンブリにより DNA の特定部位に結合することで、特定の機能を発現する技術の開発を行う。

### 2. 本年度の研究成果

#### 1) DNA タイルのセルフアセンブリの高信頼化

DNA タイル間の結合の特異性は接着末端の配列の相補性だけに基づいており、熱ゆらぎに支配されるため、意図したとおりの組立が難しい。特に、結晶欠陥 (タイルのミスマッチによる結晶欠陥の混入) とランダム凝集 (タイルの望まない凝集) が DNA タイルの実用化におけるボトルネックになっている。これら 2 つの問題点を抜本的に解決できる方法として、DNA タイルを 2 層化し、上層タイルが下層タイルの結合を制御する方式 (Layered Tile Model) の実装に向けて取り組んでいる (文献[1])。今年度は、LTM を簡略化した

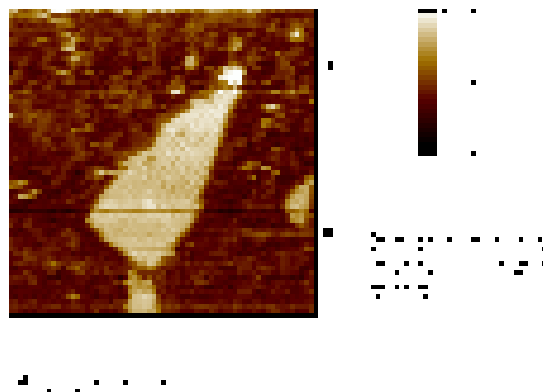


Fig.1 DNAorigami による正方形構造 (左下) の上にセルフアセンブリした DNA タイル (右上の三角形) (AFM 画像) (カリフォルニア工科大学ウィンフリー研究室の協力による)

PTM(Protected Tile Model)と LTM の数値シミュレーションを行い、得られるエラー低減率の精密な見積を行った。その結果、LTM はタイルを 4 分割する PRTM (Proofreading Tile Set)と同程度、PTM は何もエラー対策をしないタイルセットと LTM の中間程度のエラー低減率を持つことが明らかになった。

また、実際の DNA タイルをもちいたエラー率測定を行うため、最近開発された DNA-Origami の手法により 4 角形構造体を作成してバウンダリー構造とし、この上に調べたい DNA タイルをセルフアSEMBルする実験に着手した(Fig.1)。今後はこの構造体をベースに定量的な評価実験を進めてゆく。

DNA セルフアSEMBルのためのマイクロ流体デバイスについては、マイクロキャピラリーポンプを利用したデバイスを開発し、流体特性、温度特性など、基本的な機能の確認を行った (Fig.2) および文献[2]。さらに、このデバイス中の DNA 固定化技術、蛍光強度によるハイブリダイゼーションの測定など、DNA タイルのセルフアSEMBルに向けた基礎技術開発を行っている。

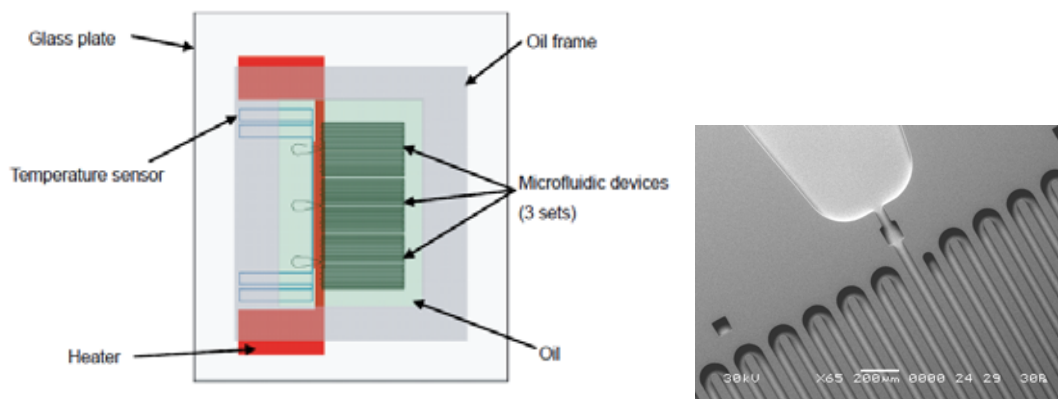


Fig. 2 高信頼度 DNA セルフアSEMBルのためのマイクロ流体デバイス (システム構成 (左), 反応部とキャピラリーポンプの SEM 画像 (右))

## 2) DNA 相互作用分子による機能発現

DNA 構造体上に、DNA 相互作用分子等の各種ナノ粒子を結合させることにより、一定の機能を有するシステムの構築を目指すことを目的とする。DNA は研究目的に即した塩基配列を自由に設計することができ、その配列を工夫することによりナノレベルの構造体を比較的容易に作製、複製できる。また DNA 結合タンパク質の中には、DNA の特定の塩基配列を認識して自己や DNA の構造を変化させるものがあり、それ自体がナノメートルサイズの分子機械と考えられる。中でも RecA タンパク質はニック形成や複製の際に生じた 1 本鎖 DNA とそれに相対な 2 本鎖 DNA 間の鎖の交換を ATP の加水分解のエネルギーを使って触媒し、DNA 鎖状に 3 本鎖 DNA 構造を形成する性質をもつ(Fig. 3)。本年度は 2 層化 DNA タイルを構成する DNA 塩基配列が周期的であることを踏まえ、繰り返し配列を有する鋳型 DNA を作成した。また RecA タンパク質と 1 本鎖プロンプ DNA 複合体による 3 本鎖領域の周期的配置構造が形成可能であることを確認した。

- ・ユニット DNA の調製：化学合成した 1 本鎖 DNA を 5 種類合成し、これを組み合わせ PCR 法により、鋳型とするターゲット DNA 配列の 1 周期分に相当するユニット DNA を調製した。

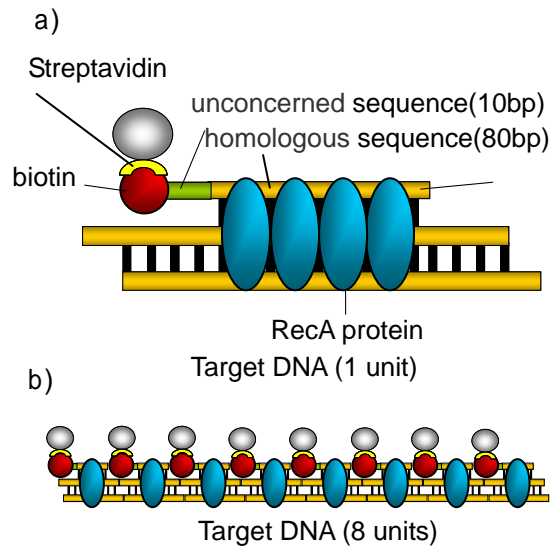


Fig. 3 Schematic of triple strand DNA with RecA-biotin labeled ssDNA complex

- ・ターゲット DNA の調製：大腸菌を用いたクローニング法を用いてユニット DNA を複数連結することにより，これを周期的に繰り返し配したターゲット DNA を調製した．
- ・RecA タンパク質複合体による 3 本鎖 DNA 構造の周期的形成：10bp のリンカー配列と，1 ユニット DNA 内の 1 箇所所で 3 本鎖形成部位を形成可能な 80bp の相同的な配列を有し，その 5' 末端側にビオチン分子を修飾した一本鎖 DNA を合成した．これと RecA タンパク質による複合体にターゲット DNA を混合することで，ターゲット DNA 上に 3 本鎖 DNA 形成部位が周期的に配置されるを，AFM を用いて観察した (Fig. 4) ．その結果太い塊状と細い塊状の構造体が周期的に配置していることを確認した．今後この周期的構造が 2 本鎖領域の約 120bp および 3 本鎖領域の 80bp に相当することを確認する．また 3 本鎖形成部位を基点として，ナノ微粒子をビオチン化プローブ DNA 上に位置特異的に結合できるかについて評価検討を行う．

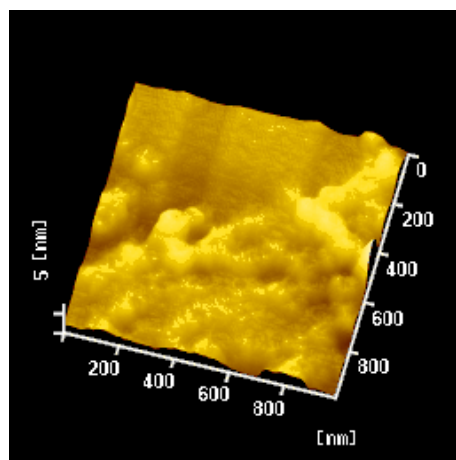


Fig. 4 AFM image of triple strand DNA with RecA-biotin labeled ssDNA complex. Bar 200nm.

### 3 . 研究発表

- [1] Kenichi Fujibayashi, Satoshi Murata, A method of error suppression for self-assembling DNA tiles. *LNCS 3384* (DNA10), 113-127, 2005.
- [2] Koutaro.Somei, Shohei Kaneda, Teruo Fujii, S.Murata, A Microfluidic Device for DNA Tile Self-Assembly, *Preliminary Proc. 10th International Meeting on DNA Computing (DNA11)*, 136-146, 2005. (添付)
- [3] 藤林健一, 村田智, DNAタイルの自己集合ダイナミクス, 第59回形の科学シンポジウム, 2005
- [4] Satoshi Murata, Kenichi Fujibayashi, David Zhang, Erik Winfree, Layered Tile Model - Error Reduction for DNA Tile Self-Assembly, The 2<sup>nd</sup> International Conference on Biocomputers, Seoul National University, 2005.9.28
- [5] 村田智, DNA 分子のセルフアセンブリ技術とその周辺, 準周期タイリングとその周辺研究会 (京都大学数理解析研究所共同研究), 2006.1.31 .
- [6] Yanagida Y., Mori H., Fujimori Y., Hatsuzawa T., Nano-particle positioning and bottom up structure formation on DNA strand; Pacificchem 2005, Honolulu, Hawaii, USA, December 15-20, 2005
- [7] DNAを用いたナノ粒子の位置決め-対合効率と長鎖化の検討- ; 小山内, 柳田, 初澤, 2005年精密工学会秋季大会学術講演会講演論文集, L03, pp.949-950(2005.9.15)