

論文内容の要旨

論文題目 Construction of two-dimensional DNA arrays for
programmable self-assembly of nanocomponents

(ナノ部品のプログラム可能なセルフアセンブリのための二次元 DNA アレイの構築)

氏名 田川美穂

分子やナノサイズの粒子等のナノ部品を、ナノスケールの精度で制御し配置する技術を確立することは、ナノテクノロジー分野における最も重要な課題である。従来からのトップダウン的なアセンブリ技術が限界に近づくのに伴い、近年、生体分子のセルフアセンブリを利用したボトムアップ的なアセンブリ技術が注目を集めている。特に DNA は、塩基配列を自由に設計し合成することが可能であり、比較的安定な分子であることから、ナノスケールのアセンブリを行うためのビルディングブロックとしての利用が期待されている。適切に配列設計された DNA は、熱処理過程を経て、その配列にコードされた情報に従って複雑な構造にセルフアセンブリすることができる。作成された DNA 構造体は、ナノ部品を特異的に配置するためのテンプレートとして利用できる可能性がある。

これまでに、DNA タイル (数本の DNA でできた DNA 構造体の最小単位) をビルディングブロックとしてセルフアセンブリし、ナノスケールの周期的な二次元 DNA アレイを形成する研究が多数報告されている。DNA のパターン構造、多面体等も作られるようになった。しかし、これらの構造体は常温では安定であるが、熱をかけると簡単に壊れてしまう。分子エレクトロニクス等の実際のナノテク技術として利用するためには、熱処理を繰り返してナノ部品を階層的に結合させる必要があるため、耐熱性の DNA 構造体が必要である。耐熱性を高めるためには、一般的なライゲーション方法である酵素によるライゲーションを行ってニックを繋げ、構造体の融解温度を高める方法が考えられる。しかし、DNA 構造体の様な複雑で狭い部分には酵素が入り込みにくく、ライゲーション効率が低かった。本研究 1 では、酵素を必要とせず、バッファー条件にも拠らず、高いライゲーション効率

が得られるフォトライゲーションにより DNA タイルを結合し、耐熱性 DNA アレイの形成を行った。

DNA のパターン構造を形成することができる“プログラム可能な DNA セルフアセンブリ”は、ナノスケールの複雑な構造またはシステムを構築するナノファブリケーションへの応用が期待されているため、耐熱性 DNA 構造体に並んで重要な課題である。これまでに報告されているプログラム可能なセルフアセンブリでは、DNA のビルディングブロックそれぞれ自身にアドレスを持たせていた。そのため、アドレスの数だけビルディングブロックを用意しなければならない、DNA 配列が異なるとビルディングブロックの形も微妙に異なってしまう設計通りの構造体形成ができない、という問題点があった。将来的に DNA 構造体をナノファブリケーションのテンプレートとして用いるためには、ナノ部品をナノスケールの精度で配置することができなければならない。そのためには、構造周期性を維持した上でアドレスを持ったテンプレートにしなければならない。本研究 2 では、基板の構造周期性と、基板上のアドレスの非周期化（異なるアドレスの配置）の両方を実現するプログラム可能なセルフアセンブリを行い、これまでの問題点を解決した。

研究 1：耐熱性 DNA アレイのセルフアセンブリ

マイクロスケールまで成長できる程平坦な構造で、かつフォトライゲーションにより生じるわずかな構造の歪みを吸収できる、double-crossover AB-staggered (DXAB) タイルという DNA タイルを考案した (図 1 a)。DXAB タイルは、6 箇所には粘着末端を有し、相補的な粘着末端同士 n と n' ($n=1,2,3$) が結合することにより二次元アレイを形成することができる (図 1 b)。タイルを構成する 9 本の DNA のうち 2 本の DNA の 5' 末端に、UV 感受性の 5-carboxyvinyl-2'-deoxyuridine (CVU) を導入した。CVU は、366nm の UV 光照射により隣り合う 3' 末端のチミンまたはシトシンと結合することができる。

DXAB タイルを構成する 9 本の DNA の混合溶液を、95 度から 25 度までゆっくり温度を下げ、溶液の一部を分注して 366nm の UV 光を照射した。ゲル電気泳動により、UV 照射後のサンプルはゲルに浸透しない程分子量が大きく、タイル同士がフォトライゲーションにより結合されたアレイが出来ていることが予想された。原子間力顕微鏡 (AFM) により、UV 照射前後のサンプルを画像化したところ、共にマイクロスケールの大きさまで成長した周期的な二次元アレイが形成されていた。UV 照射後もアレイ全体として構造変化を起していないことから、DXAB タイルがフォトライゲーションにより生ずるわずかな構造変化を吸収することで、ライゲーション後も周期的な二次元アレイを維持できたと考えられる。

UV 照射前後の DXAB アレイの熱耐性を調べるため、二種類の方法（溶液中、マイカ基板上に吸着した状態でバッファ液滴下）で熱処理を行った。この結果、溶液中熱処理では UV 照射前後で 10 度以上の熱耐性の向上が見られ、マイカ基板上に吸着した状態での熱処理に関しては、20 度以上の熱耐性の向上が確認された。UV 照射後のサンプルをマイカ基板上で 60 度に熱処理した後の AFM 像を示す (図 1 c)。60 度という温度は、アドレス

DNAと相補的なデータDNAに結合させたナノ部品の結合及び取り外しの操作を行うのに十分な温度である。

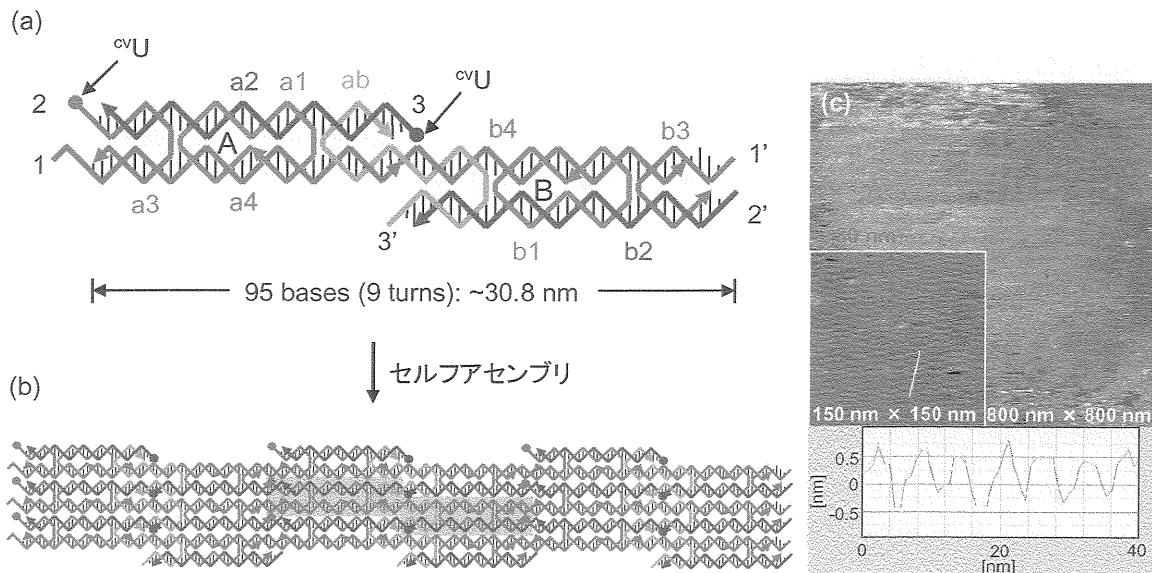


図1. 耐熱性DNAアレイのアセンブリ (a) DXABタイル (b) DXABアレイ (c) UV照射後、マイカ基板上で60度に熱処理した後のDXABアレイのAFM像と断面図

研究2：周期構造上に非周期アドレスを持つDNA構造体のプログラム可能なアセンブリ

生体内で行われているタンパク合成過程において、mRNAに書き込まれたコドンの情報に従って、わずか20種類のアミノ酸から多種多機能のタンパク質が合成されることに着目し、これに習った方法でプログラム可能なセルフアセンブリを行った。mRNAに相当するメッセンジャーDNA (mDNA) を用い、少ないタイルで複雑な構造を形成することを試みた。DNA構造体の基板を形成する部分はわずか二種類のタイル S_0 及び S_E から成り、アドレスタグ部分に固有のアドレスを持たせることで、構造周期性とアドレス化の両方を実現可能にした (図2)。一次元方向と二次元方向のタイルの並び順を決める mDNA₁, mDNA₂ によりアセンブリの順序が制御され、プログラム可能なアセンブリが行われる。mDNA₁ (図2aの赤線部分) は、アドレスタグの配列と、構造体の基板となるタイル S_0 及び S_E の一部の配列とから成る。一次元のタイルの配列を決める情報はアドレスタグ部分にコードされており、タイル部分にはアドレス配列が含まれない構造となっているため、基板の構造周期性が保たれる。mDNA₁の端は、アンチコドン配列 aC_1 となっており、mDNA₂にコードされた相補的なコドン配列 C_1 に結合することが出来る。

本実験では、mDNA₁に6種類のアдрес $A_N (N=1-6)$ をエンコードし、mDNA₂は共通のコドン配列 C_1 を4つエンコードして、一次元方向に6種類固有アドレス持つ 6 (row) \times M (column) DNAアレイのプログラム可能なアセンブリを行った。AFM測定により、幅が

約 100nm の DNA アレイが確認された (図 2b 断面図下段)。これはアレイに結合した mDNA₂を含めると、ほぼ設計通りのサイズに相当する。また、mDNA₂に平行な断面図より、周期的な構造であることが確認された (図 2b 断面図上段)。形成された $6 \times M$ DNA アレイは、一次元の非周期パターンを形成することができる。

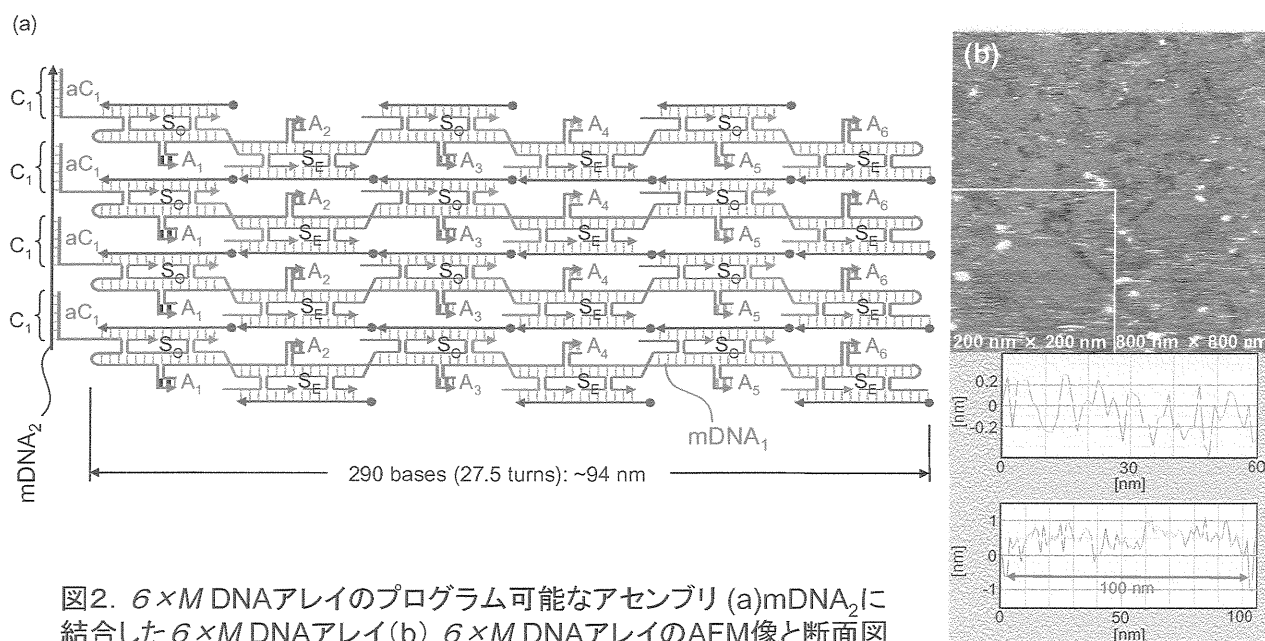


図2. $6 \times M$ DNAアレイのプログラム可能なアセンブリ (a)mDNA₂に結合した $6 \times M$ DNAアレイ (b) $6 \times M$ DNAアレイのAFM像と断面図

本研究のプログラム可能なアセンブリとフォトライゲーションを組合せれば、位置アドレスを持った (各部にアドレスタグを持った) 耐熱性の DNA アレイを作成し、ナノファブリケーションのテンプレートとして利用することができる。アドレスタグの配列に相補的な配列を持ったデータ DNA をナノ部品に結合し、これを付いたり外したりしながら階層的アセンブリをすることにより、溶液中で浮遊状態では合成不可能な複雑な構造体またはシステムを構築することが可能となるであろう。

また、フォトライゲーションとプログラム可能なアセンブリにより作成した耐熱性の DNA 構造体を部品として、再び熱処理によりアSEMBルすることで、今までに不可能であった複雑な構造を作ることも可能になるであろう。これらは、微細な電子回路を形成するナノエレクトロニクスの分野だけでなく、バイオロジー、ドラッグデリバリー、マテリアルサイエンス等の分野への応用が期待される。