

## ナノ・バイオテクノロジー：第2回

# *DNA-origami*: DNAでナノ構造を作る

- "*Dynamic DNA devices and assemblies formed by shape-complementary, non-base pairing 3D components*"  
T. Gerling et al., *Science*, **347**, 1446-1452 (2015).
- "*Casting inorganic structures with DNA molds*"  
W. Sun et al., *Science*, **346**, 125836 (2014).
- "*Three-Dimensional Structures Self-Assembled from DNA Bricks*"  
Y. Ke et al., *Science*, **338**, 1177-1183 (2012).
- "*Self-assembly of a nanoscale DNA box with a controllable lid*"  
E.S. Anderson et al., *Nature*, **459**, 73-76 (2009).
- "*Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns*"  
P.W.K. Rothemund, *Nature*, **440**, 297-302 (2006).

ナノテクの進歩 → ナノ構造のもつ優れた特徴が明らかに

- ・高い活性をもつ優れた触媒(少量使えば多量の生成物)
  - ・電気伝導率や熱伝導率の高い素材(配線や放熱)
  - ・高効率な発光, 高感度の光検出(発光素材, センサー)
  - ・ナノマシン
  - ・特定の分子を検出する化学センサー
- etc.

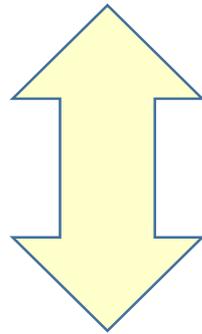
ナノ構造を自在に作る事が出来れば, 高機能なモノが作れる!

.....でも, どうやって量産すればいい?

ナノ材料の実用化は, 量産の困難さとの戦い

## 実験室レベル(先端研究レベル)での試料作成

- 手間がかかっても良い
- 多数のうち、いくつか使えるモノがあれば良い
- 高額な装置で、ごく一部の特性が測れれば良い



大きなギャップ  
(凄い発見があっても、実用化  
できない大きな原因)

## 実用化段階(量産段階)での試料作成

- 手早く、安く作れないといけない
- 大部分が使えるモノでなくてはならない

- ・ナノサイズで
- ・決まった形状の物質を
- ・安く
- ・多量に

作成する手段, が必要

はたして, そんな方法は本当に存在するのか？

実は、世界にはナノマシンを安価に量産しているシステムがすでに存在する。

それが「生物」である。

生物の基本要素：DNA & RNA, タンパク質

→ これらはまごう事なき「ナノマシン」である。

- ・ナノサイズ
- ・様々な機能を持つ
- ・量産性が高い

なかでも、DNAは非常に優れたナノ材料

- 決まった配列を、人間が合成できる
- PCR法により、1～数時間ごとに倍に増殖  
(量産が容易 & 全く同じものが簡単に生成)

## ※PCR法

- DNAは2本鎖がペアになって二重螺旋になっている。  
(水素結合でほどほどに強くくっついている)
- 高温(90~100 °C)では, 2本の鎖がほどけて分離
- 生体内には, ほどけているDNAにくっついて, そのペアを作成する酵素(DNAポリメラーゼ)が存在する。  
※別途, DNAの原料(バラバラの部品)が必要

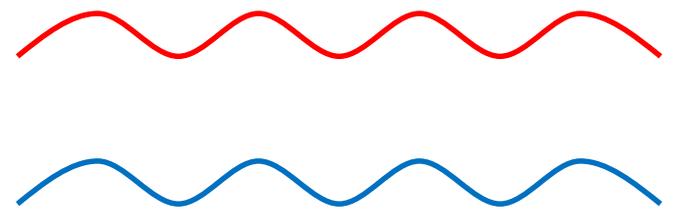
DNA(二本鎖)



加熱



DNA(単鎖)



少し冷却

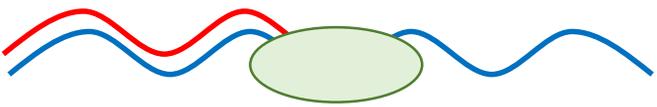
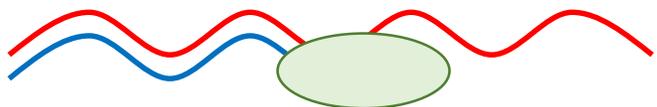
(ポリメラーゼ結合)



複製完了



複製開始



1サイクルで倍, 10サイクルで1000倍,  
100サイクルで100万倍に増える.

しかし、1次元の構造しか作れないという弱点も

※生体中では、タンパク質を使うことで様々な3次元構造が作られているが、目的の形(好きな形)のタンパク質を作るのは難しい。

DNAで、2次元や3次元の構造を作れないか？

# 「DNA Origami」

*"Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns"*

P.W.K. Rothemund, *Nature*, **440**, 297-302 (2006).

DNAを折りたたむことで、任意の2次元形状を作成

DNAの核酸塩基は、特定の相手とだけ結合できる。

A(アデニン)  T

G(グアニン)  C

C(シトシン)  G

T(チミン)  A

# 例：単鎖「ATATATATGGGGGGGGCTAGCTAG」の場合

A-T-A-T-A-T-A-T-A-T-G-G-G-G-G-G-G-G-C-T-A-G-C-T-A-G



この部分は  
「T-A-T-A-T-A-T-A」  
と結合できる



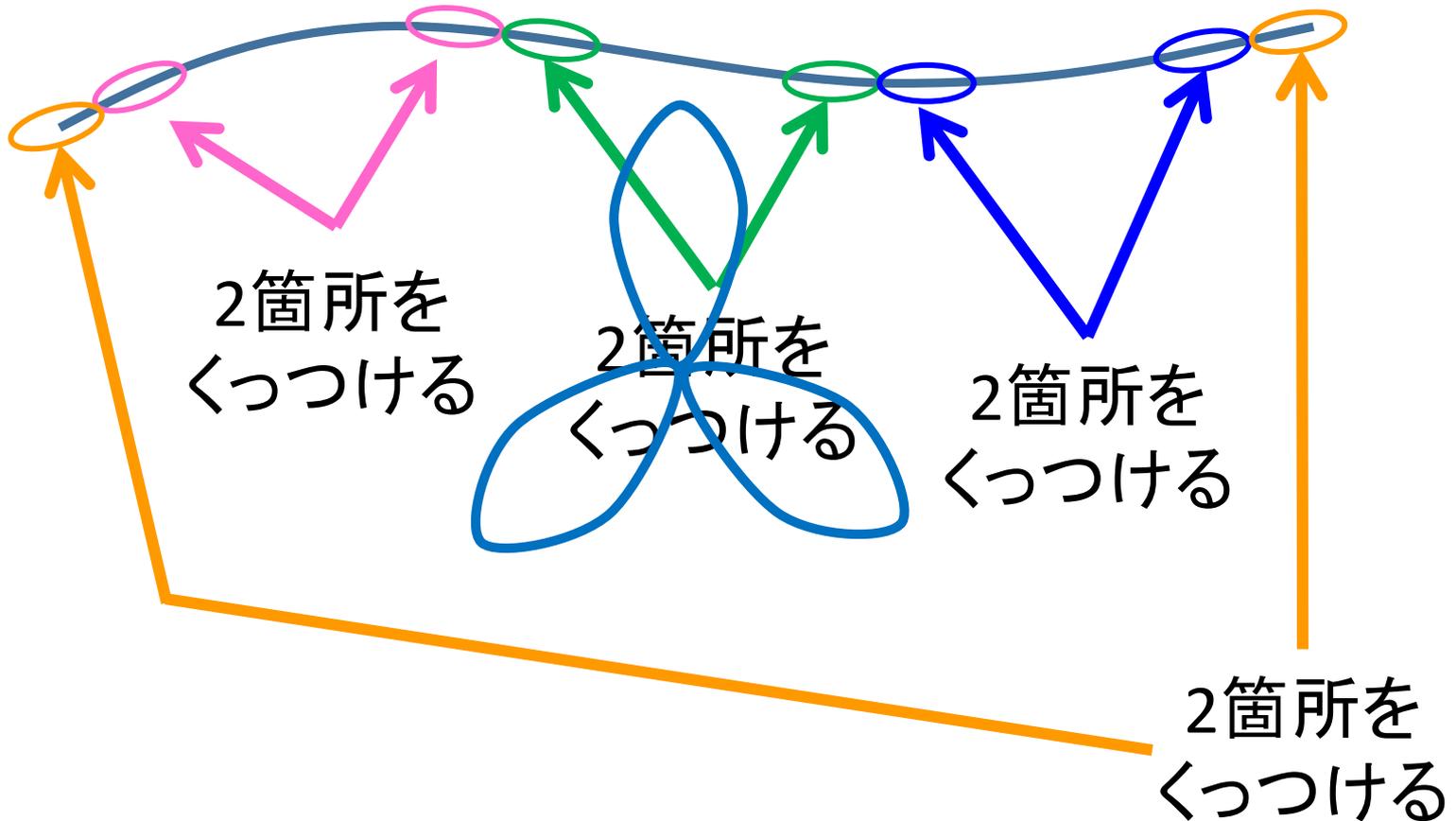
この部分は  
「C-C-C-C-C-C-C-C」  
と結合できる



この部分は  
「G-A-T-C-G-A-T-C」  
と結合できる

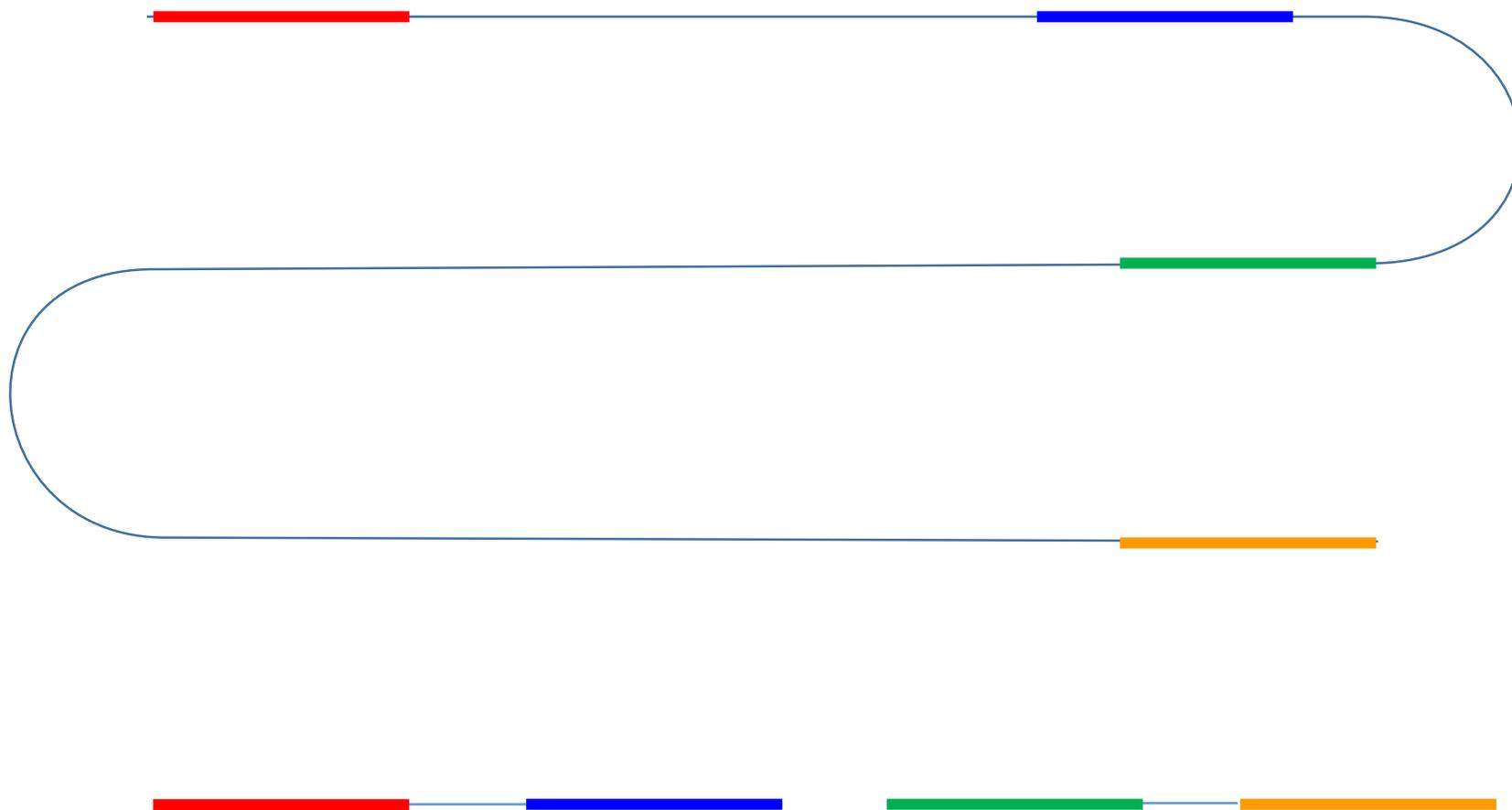
Rothemundの発想:

「これを使って単鎖DNAの色々なところを結びつけていけば、複雑な形状が作れるのでは？」



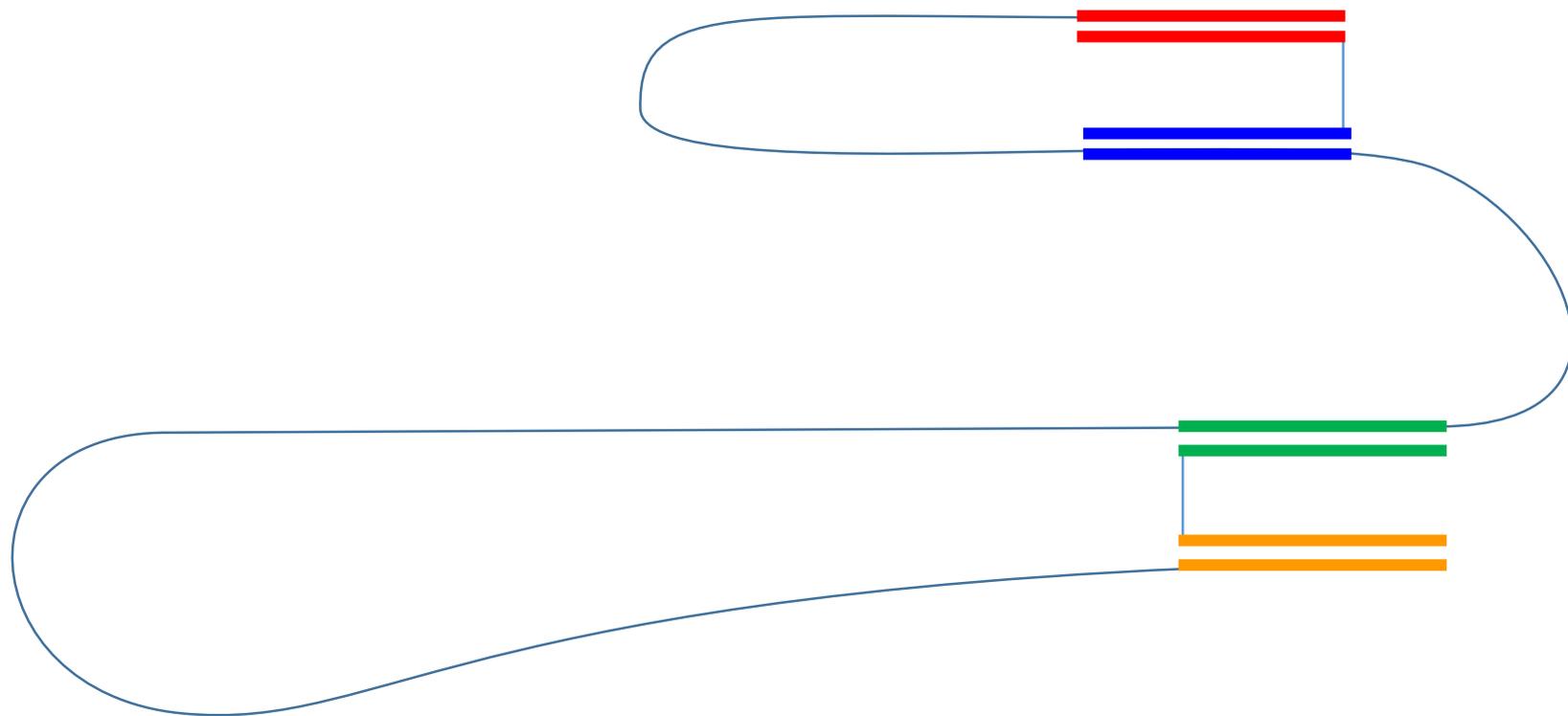
具体的に、どうやったのか？

長い単鎖DNAと、各所を結ぶ「糊」となる短いDNAを使う



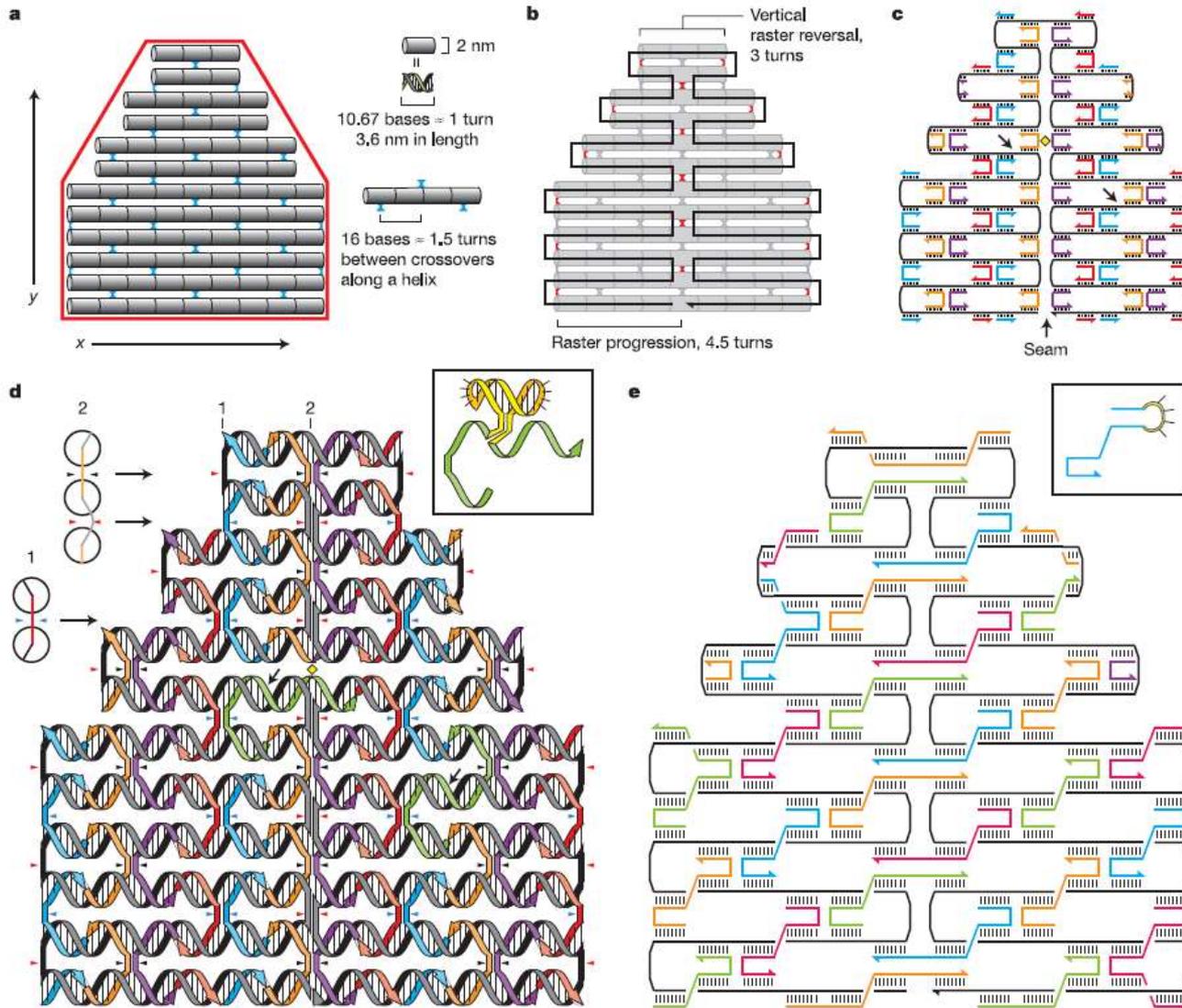
# 具体的に、どうやったのか？

長い単鎖DNAと、各所を結ぶ「糊」となる短いDNAを使う



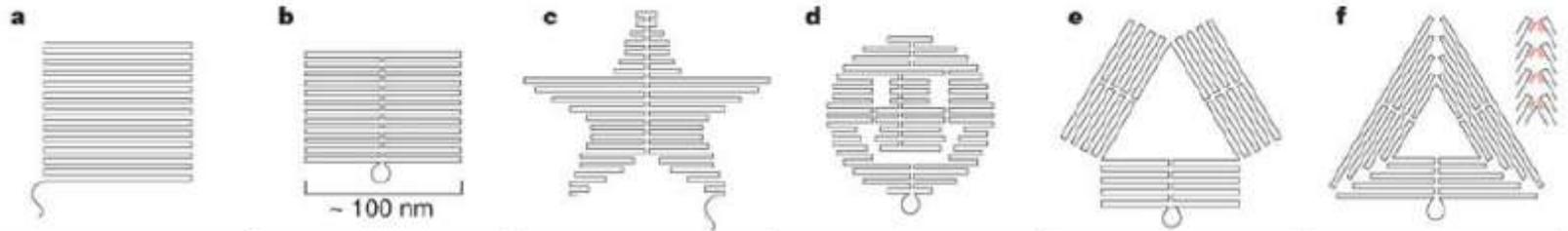
この「糊での接着」を、非常に多数の場所で行えば、色々な形を作ることができる！（はず）

# 実際の設計 (平面を1本鎖に分解し, 各所を接着)

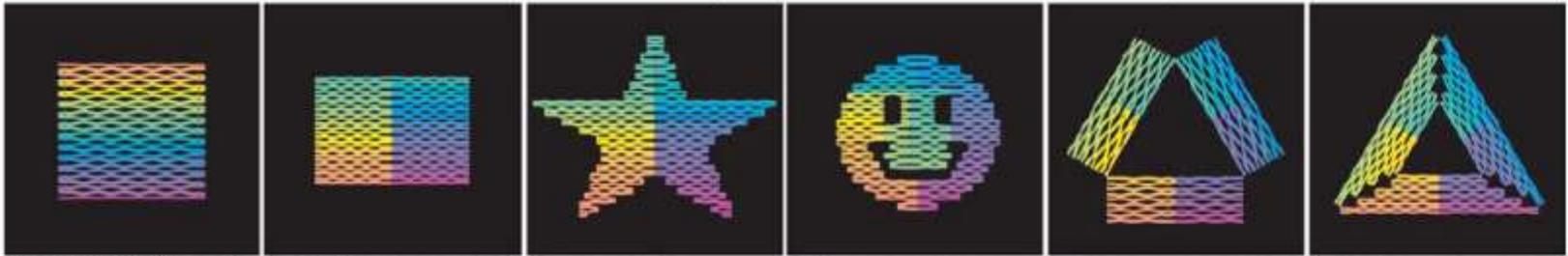


# 実物の画像(原子間力顕微鏡で観察)

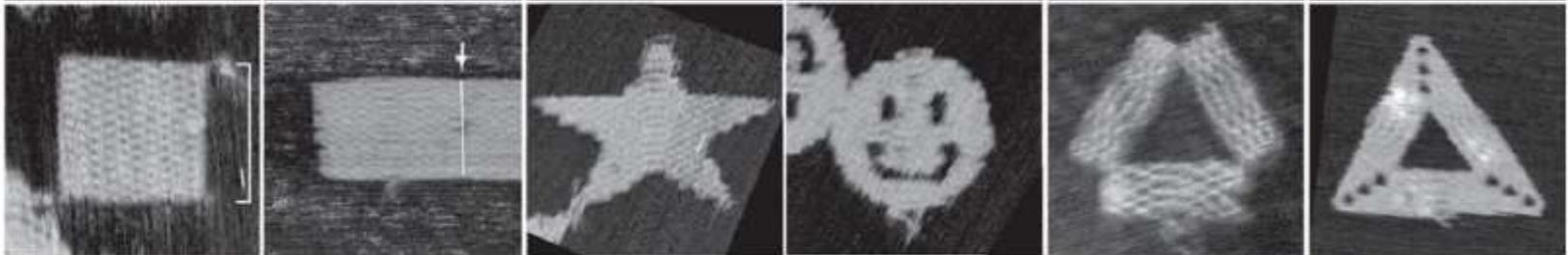
設計



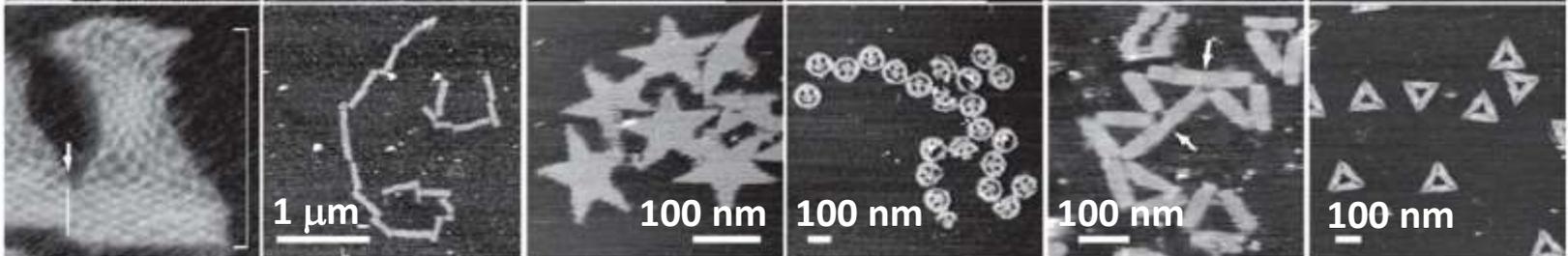
らせん  
モデル



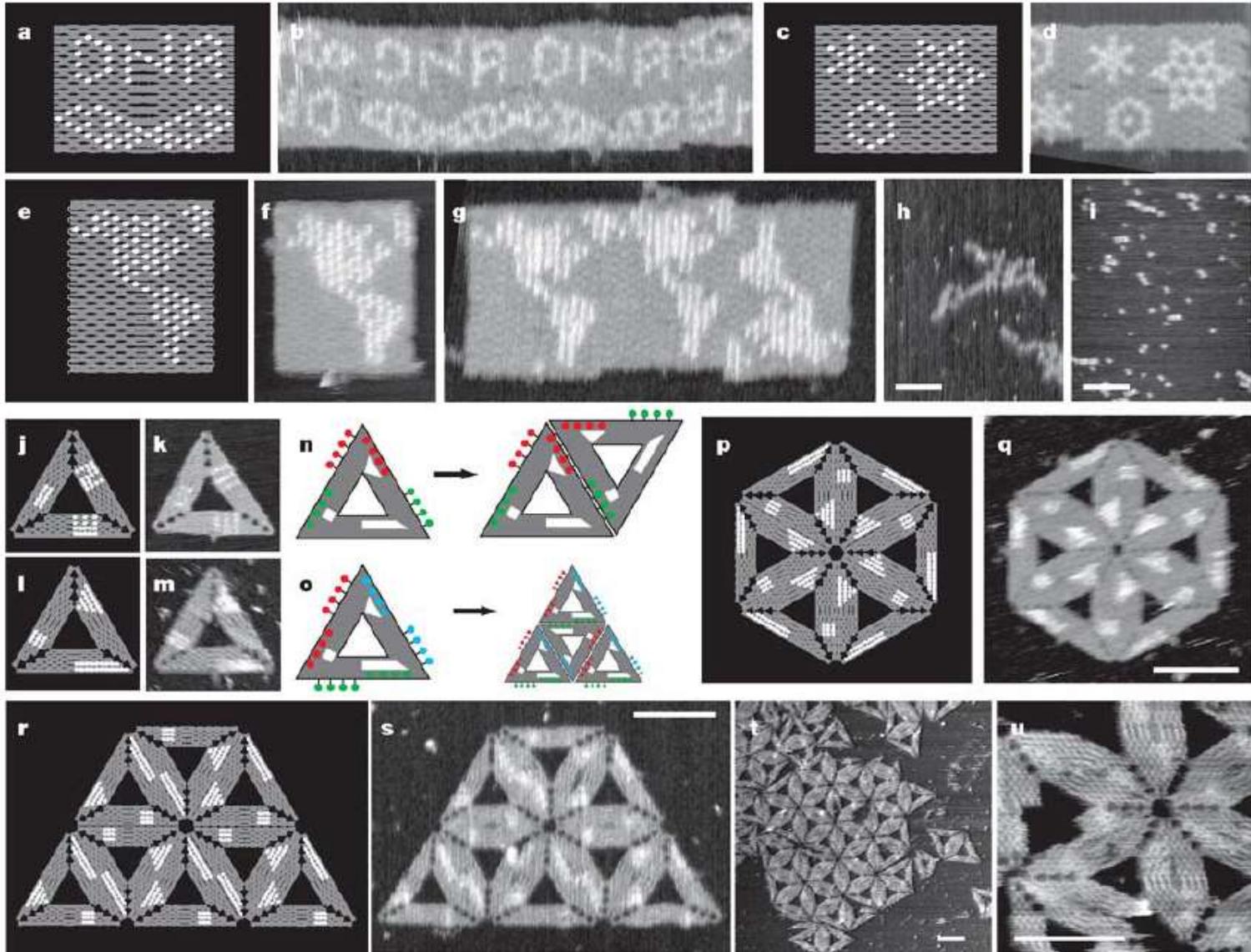
実物



広視野



末端のDNAが飛び出た部分(隣とくっつきやすい)を利用し、より大きな平面構造(繰り返し構造)も作成可能.



この「DNA origami」の手法は世界に衝撃を与え、  
その後の数年で様々な発展が起きる。

DNAでナノ「マシン」を実現  
"DNAで作られた、鍵付の箱"

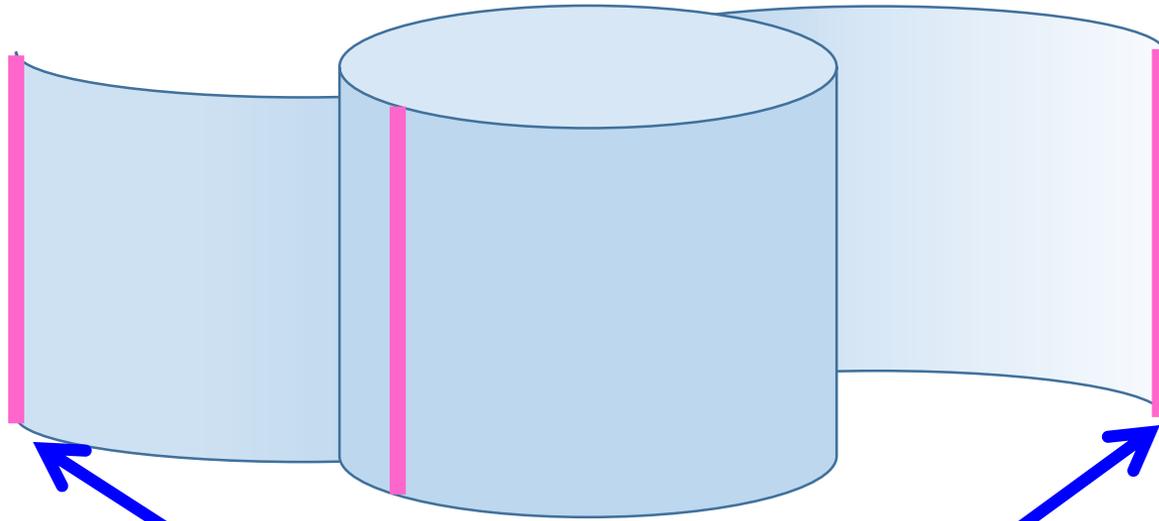
*"Self-assembly of a nanoscale DNA box with a controllable lid"*  
E.S. Anderson *et al.*, *Nature*, **459**, 73-76 (2009).

任意の二次元構造を作れるようになったのは大きな進歩ではあるが、実際に何かに利用するには、もう少し進歩が必要だ。

- できれば、3次元構造も作りたい
- 何かの機能を発揮できなければ意味が無い

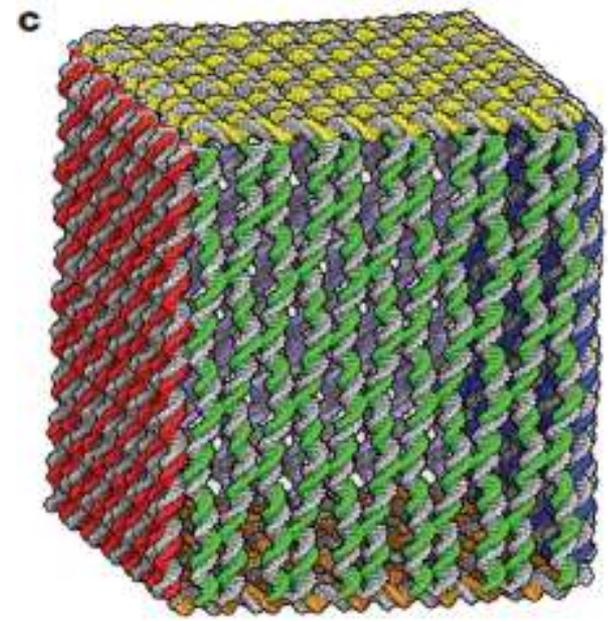
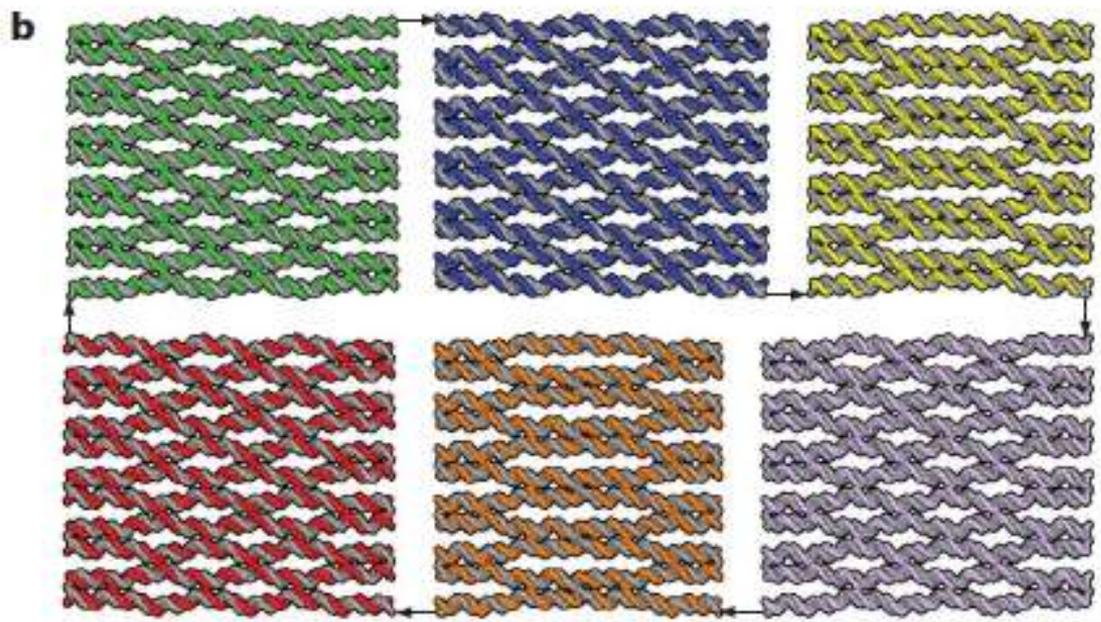
3次元構造も作りたい

→ 平面を折りたためれば、立体が作れる

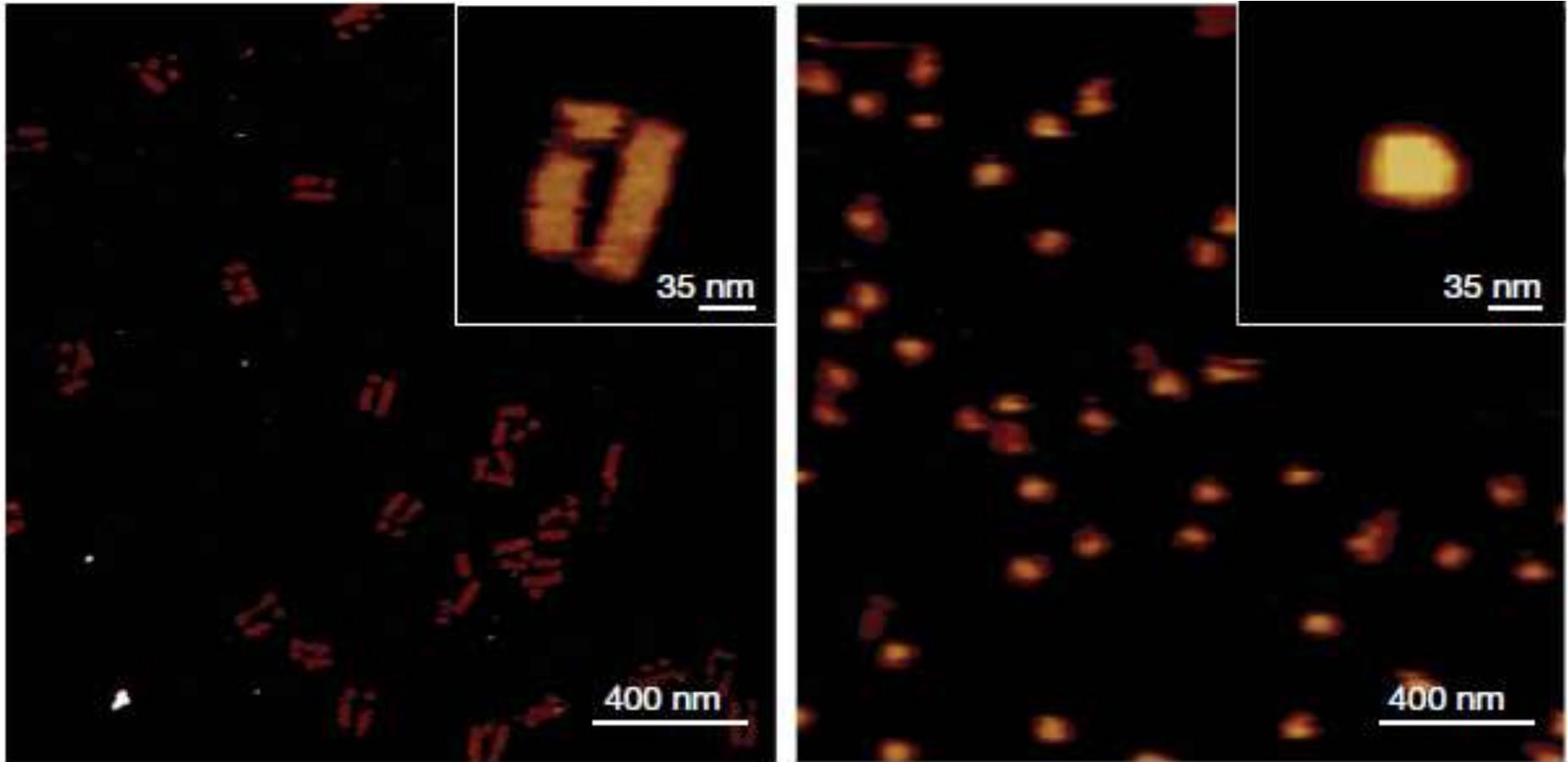


この2箇所を  
くっつければ.....

6枚の板(頂点で連続)の「辺」の部分で「糊」で繋いでいくと、中空の直方体が出来上がる。



↓「糊」で繋がらないとき(6枚の板)

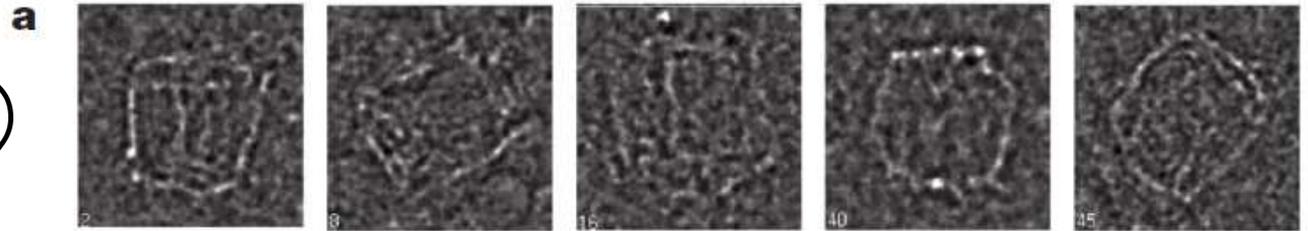


「糊」でとめたとき(中空の箱)↑

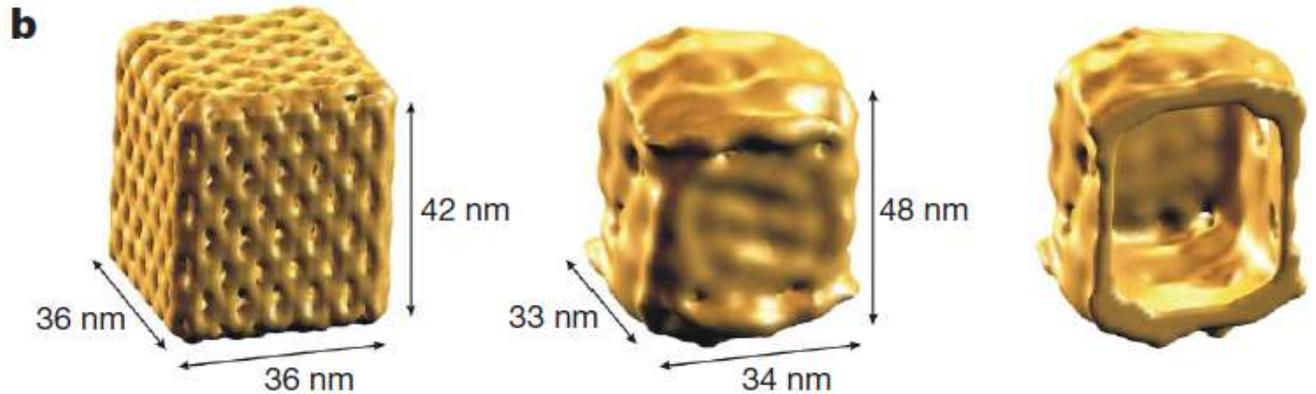
本当に中空の「箱」になってるの？

→ 透過電顕で確認

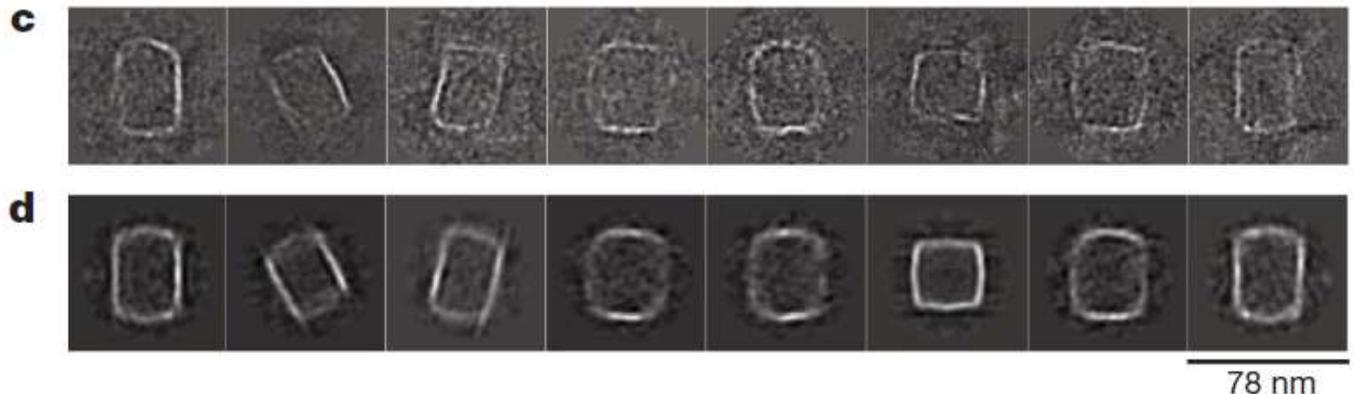
実測(多方向)



実測からの  
再現(中・右)



多数粒子の  
平均像(上)  
と計算(下)  
の比較



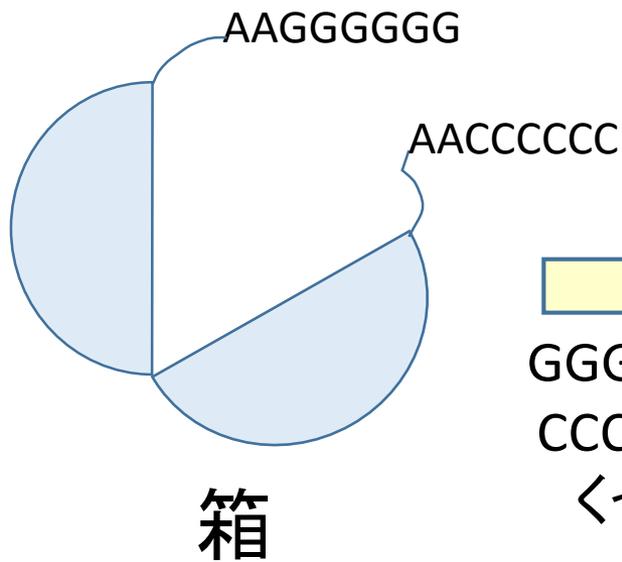
さらに、機能を持たせたい

→ とりあえず、開閉させてみよう(可動)

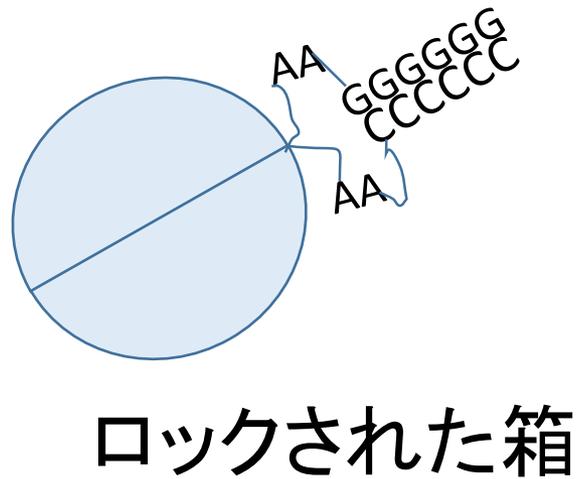
どうやる？

→ 蓋の部分だけ、緩くとめておく

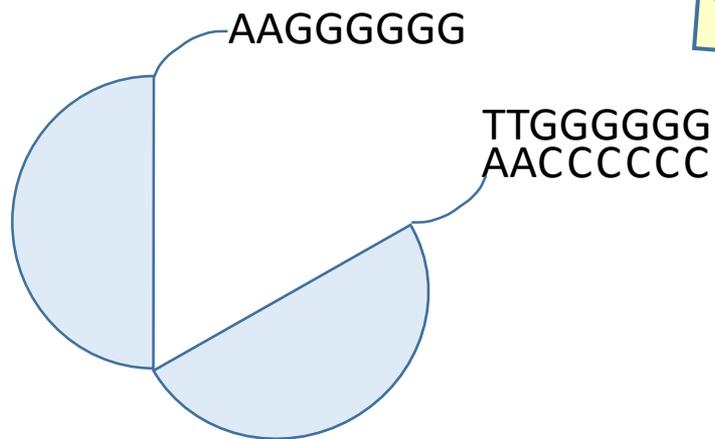
もっと強くくっつくものが来ると、外れる



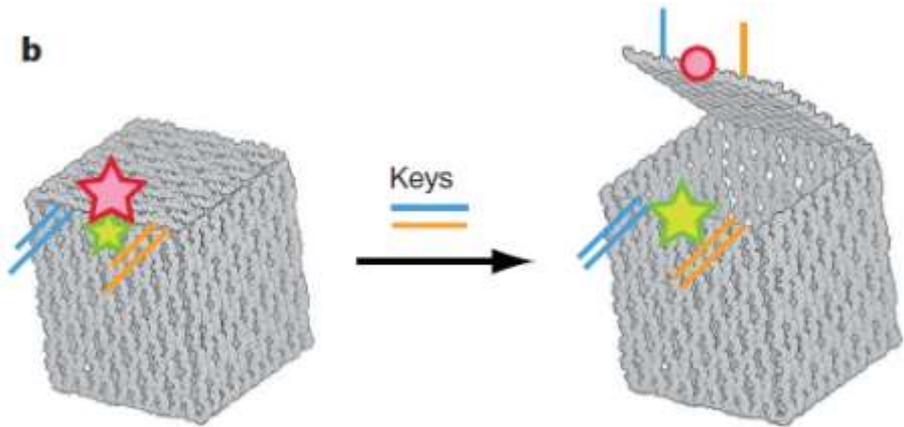
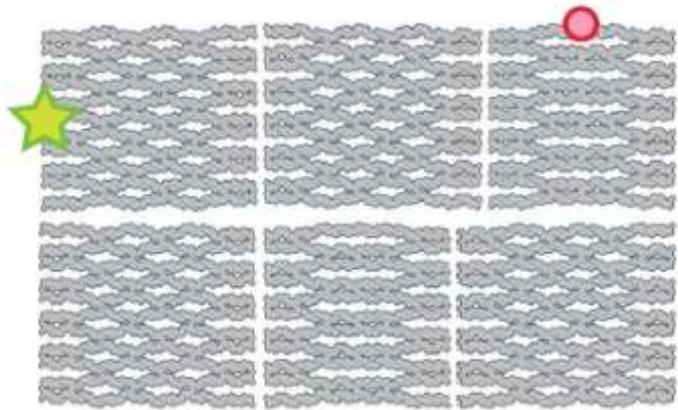
GGGGGGGと  
CCCCCCCが  
くっつく



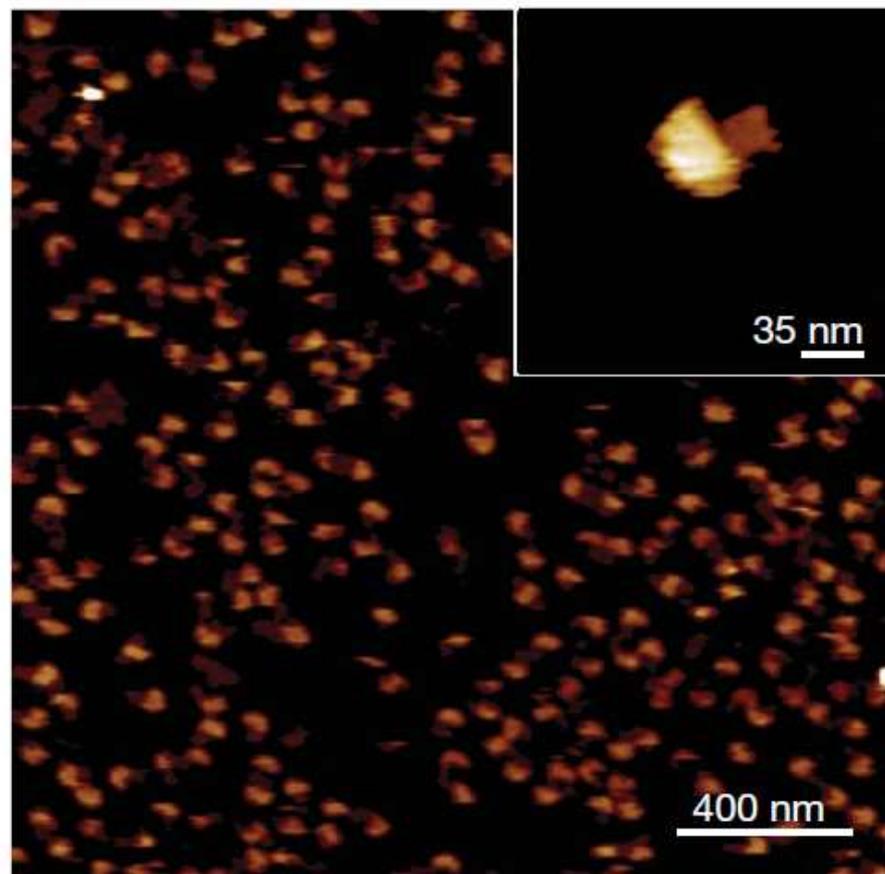
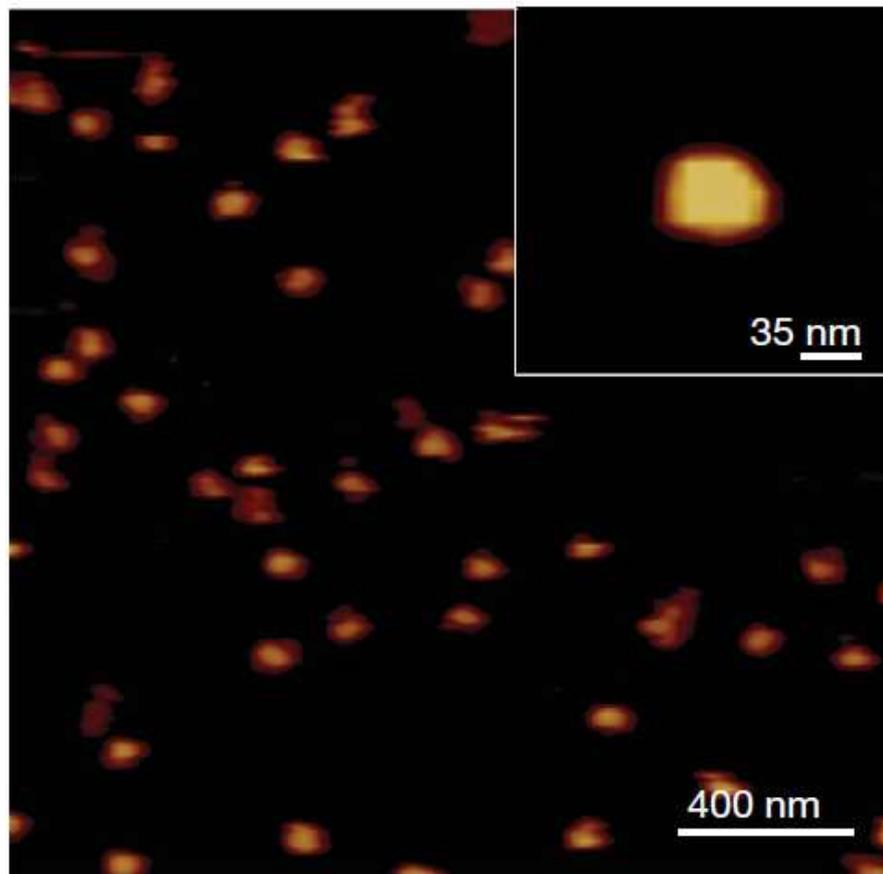
AACCCCCCにもっと強力にくっつくTTGGGGGGGを投与



ロックが解除され  
中身が放出される

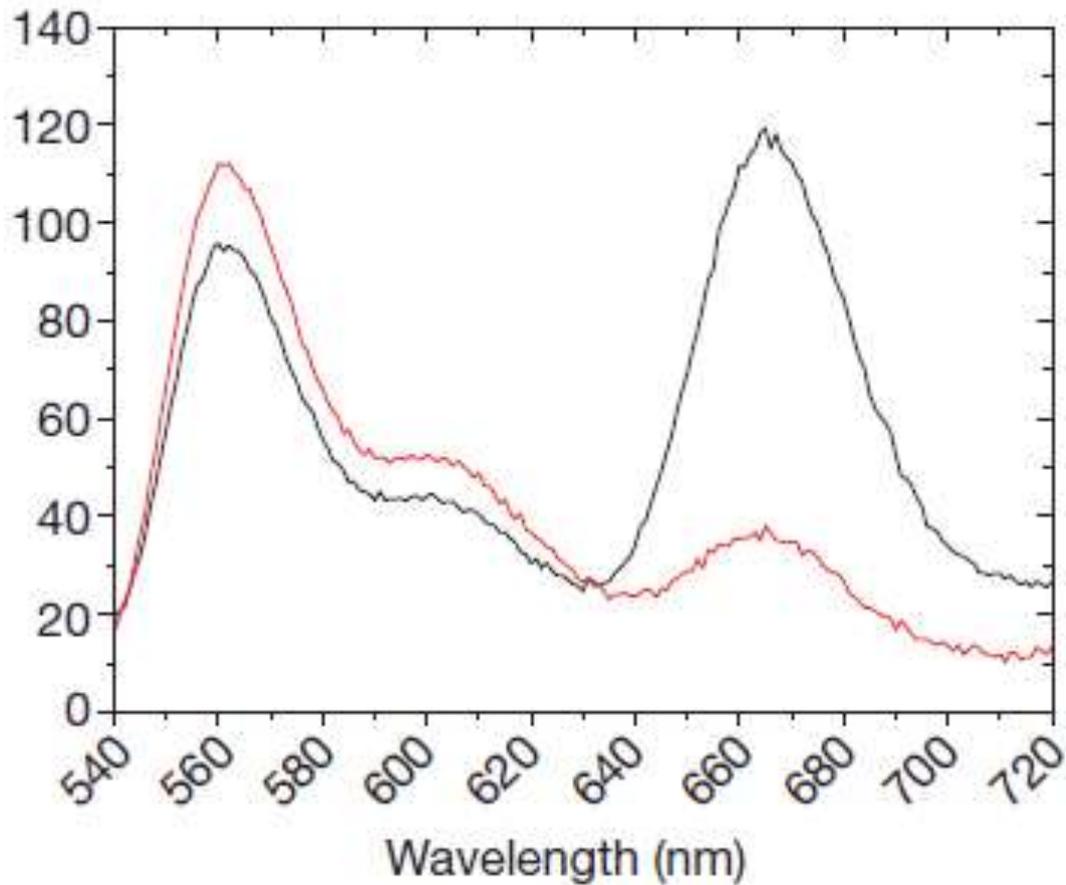


↓「鍵」を加える前



「鍵」を加えた後↑

# 蛍光による「中身」の放出の確認



赤:「鍵」投与前, 黒:「鍵」投与後

こういった技術は,

- ・特定の場所(病巣)でのみ薬剤を放出  
(副作用の低減, 薬効の増大)
- ・体内の変化に合わせて薬剤を自動投与  
(体内での自動的な診断と投薬)

等の, ドラッグデリバリー系への応用が期待される

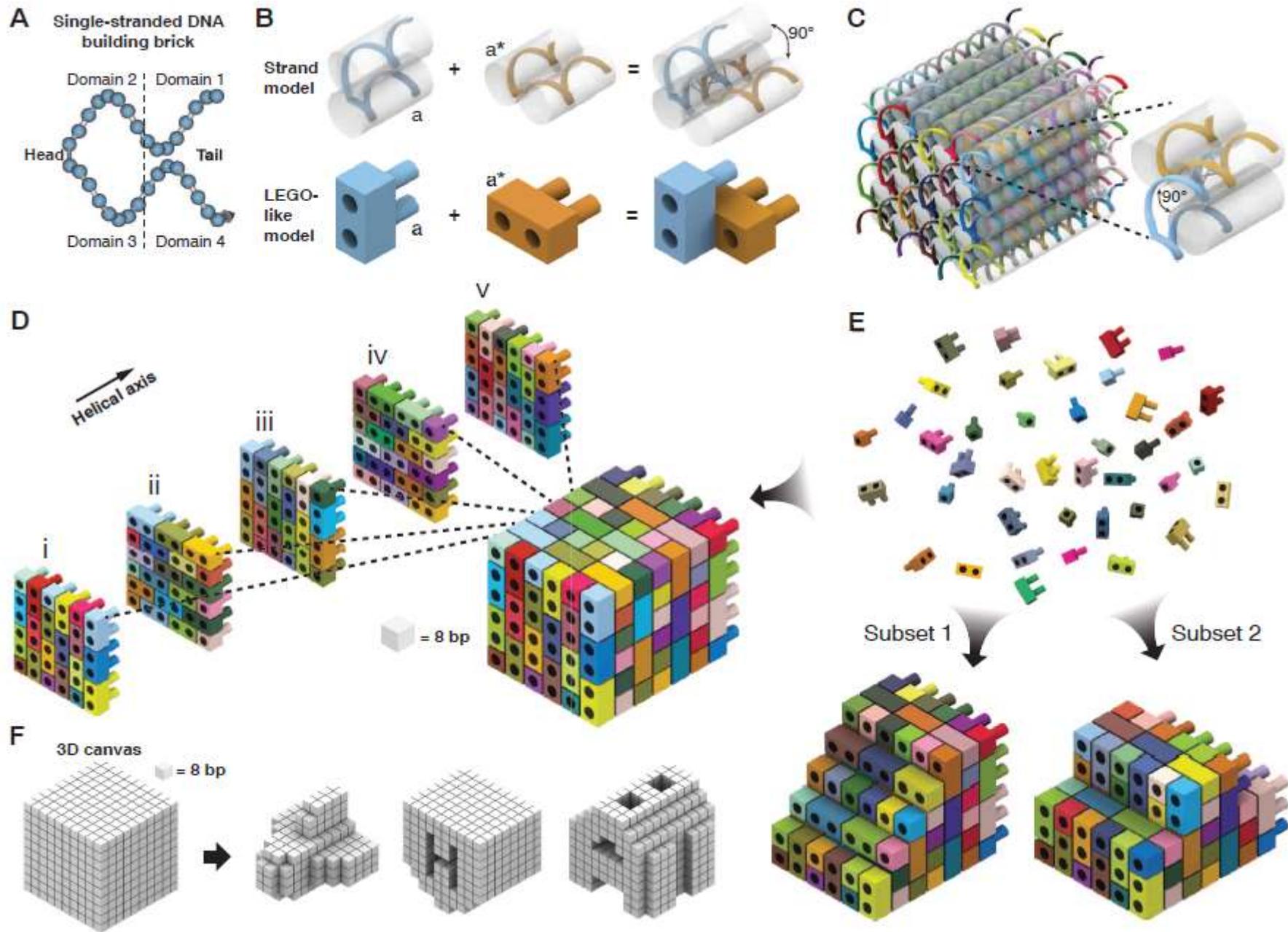
より大きな立体構造へ  
"DNAのレゴブロック化"

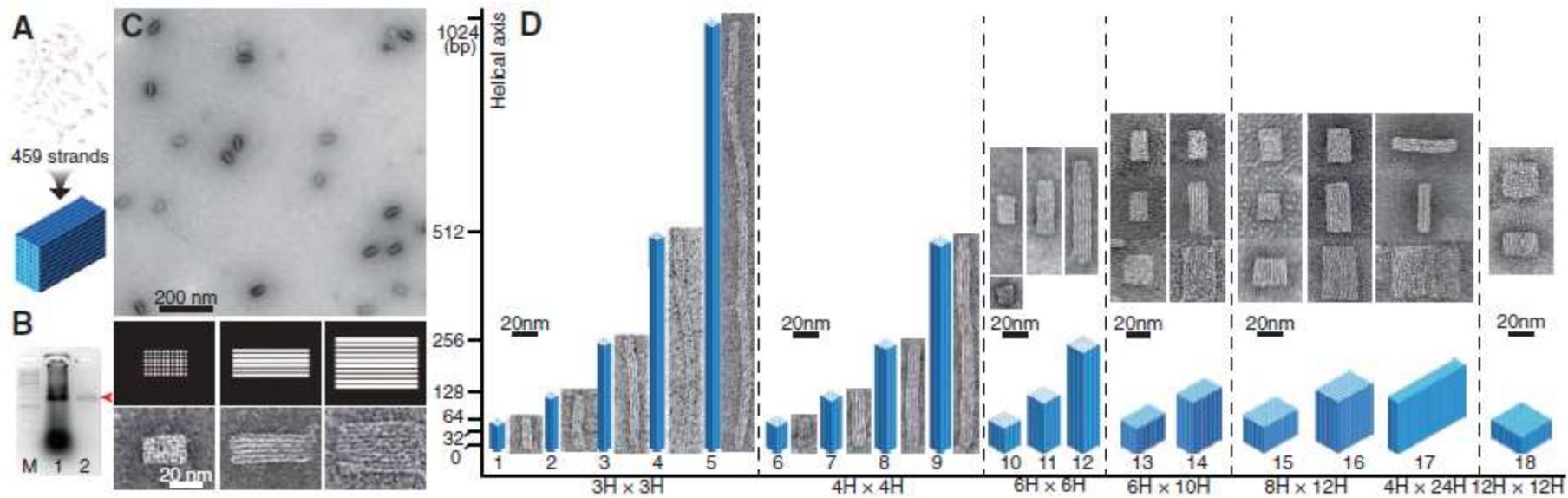
*"Three-Dimensional Structures Self-Assembled from DNA Bricks"*  
Y. Ke *et al.*, *Science*, **338**, 1177-1183 (2012).

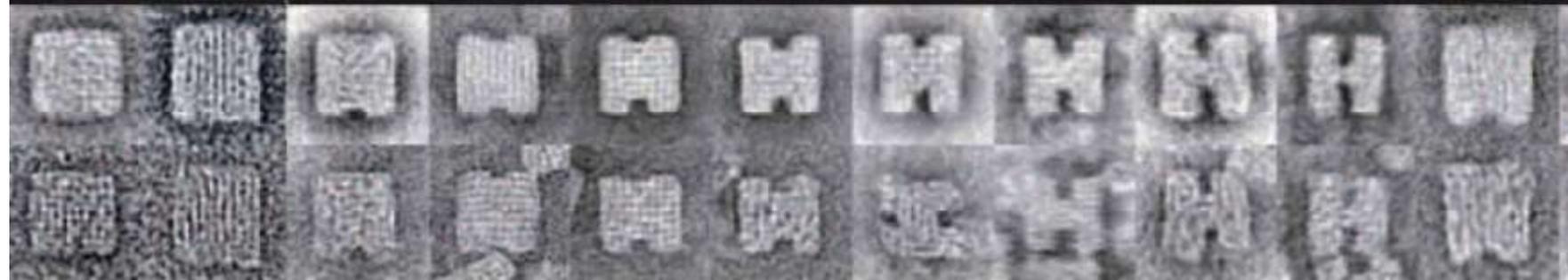
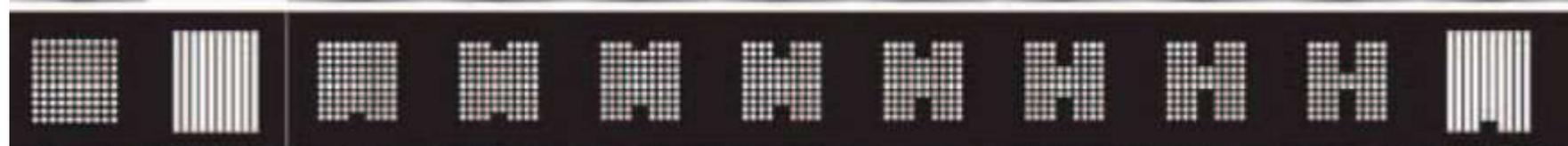
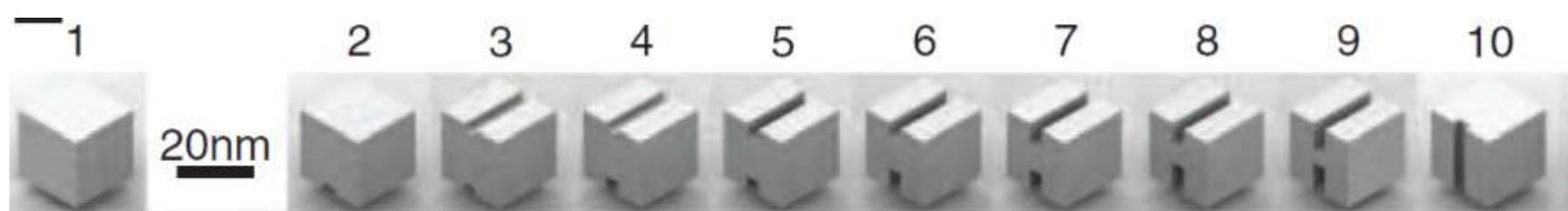
DNA origamiでも3次元構造を作る事に成功したが、もっと簡単に、さまざまな形の3次元構造を作れないものだろうか？

単鎖DNA → 特定の配列の相手とだけくっつく  
ということは、ジョイントとして利用可能.

レゴブロックのように、小さな部品を組上げられる？







19

20

21

22

23

24

25

26

27

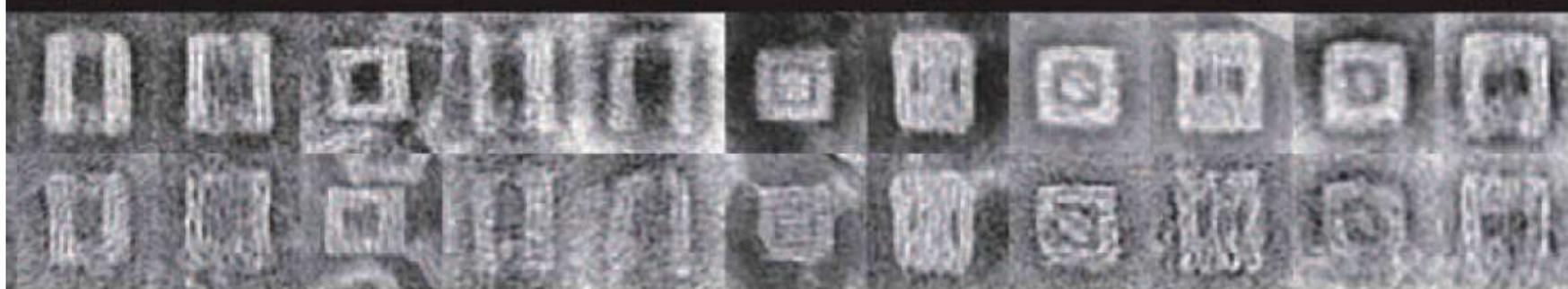
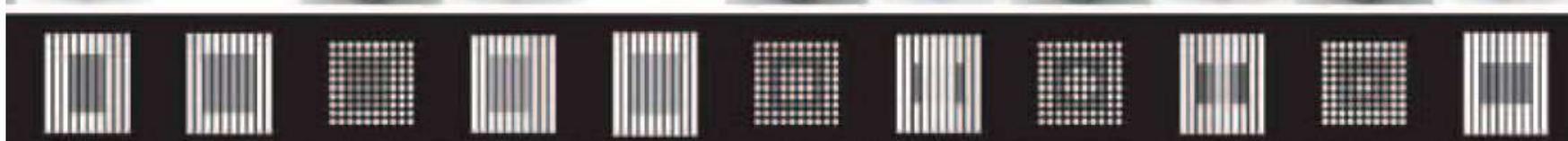


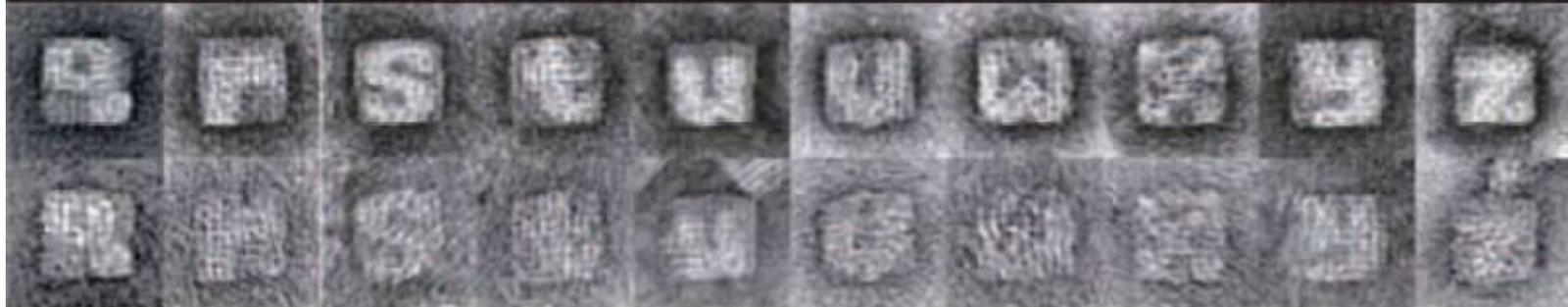
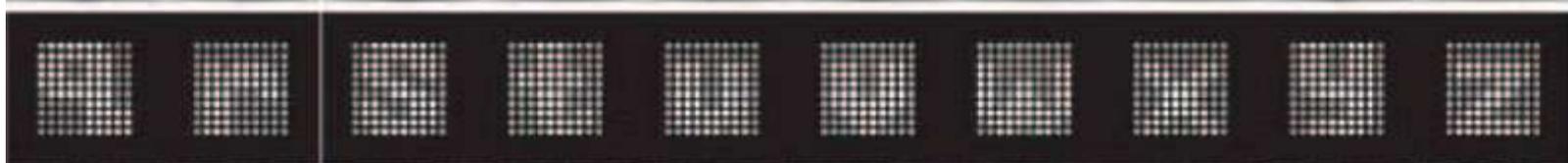
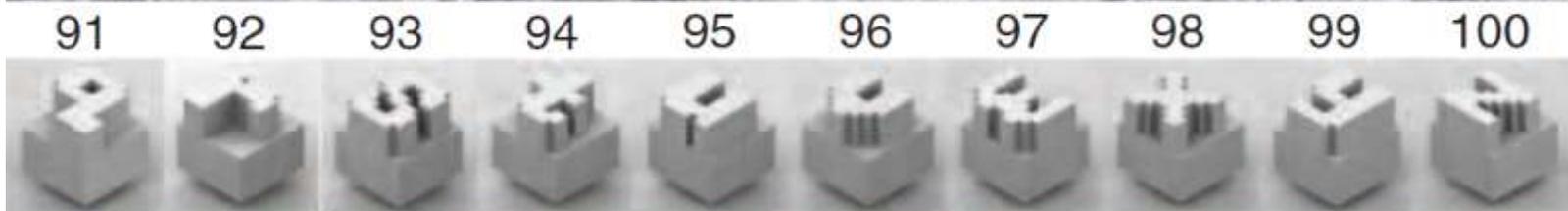
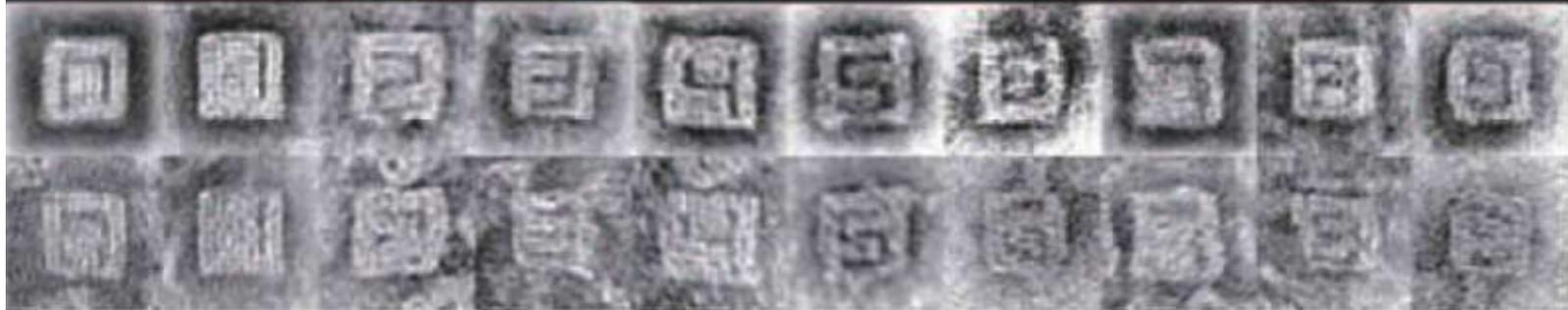
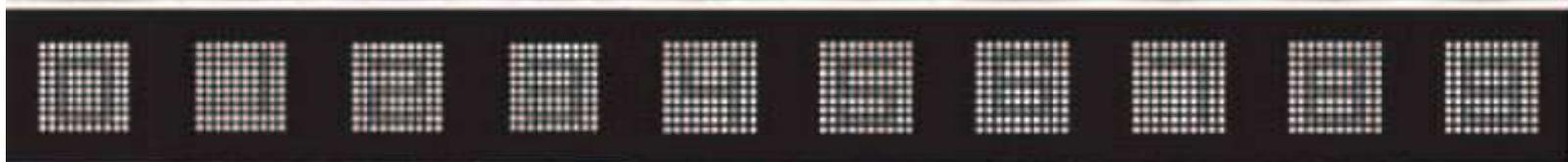
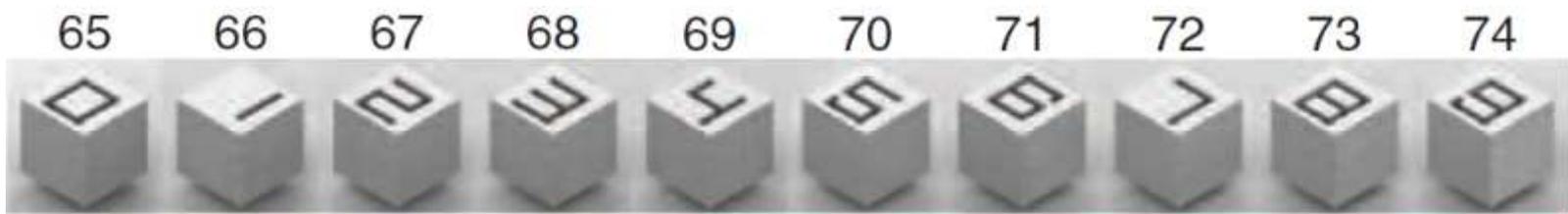
37

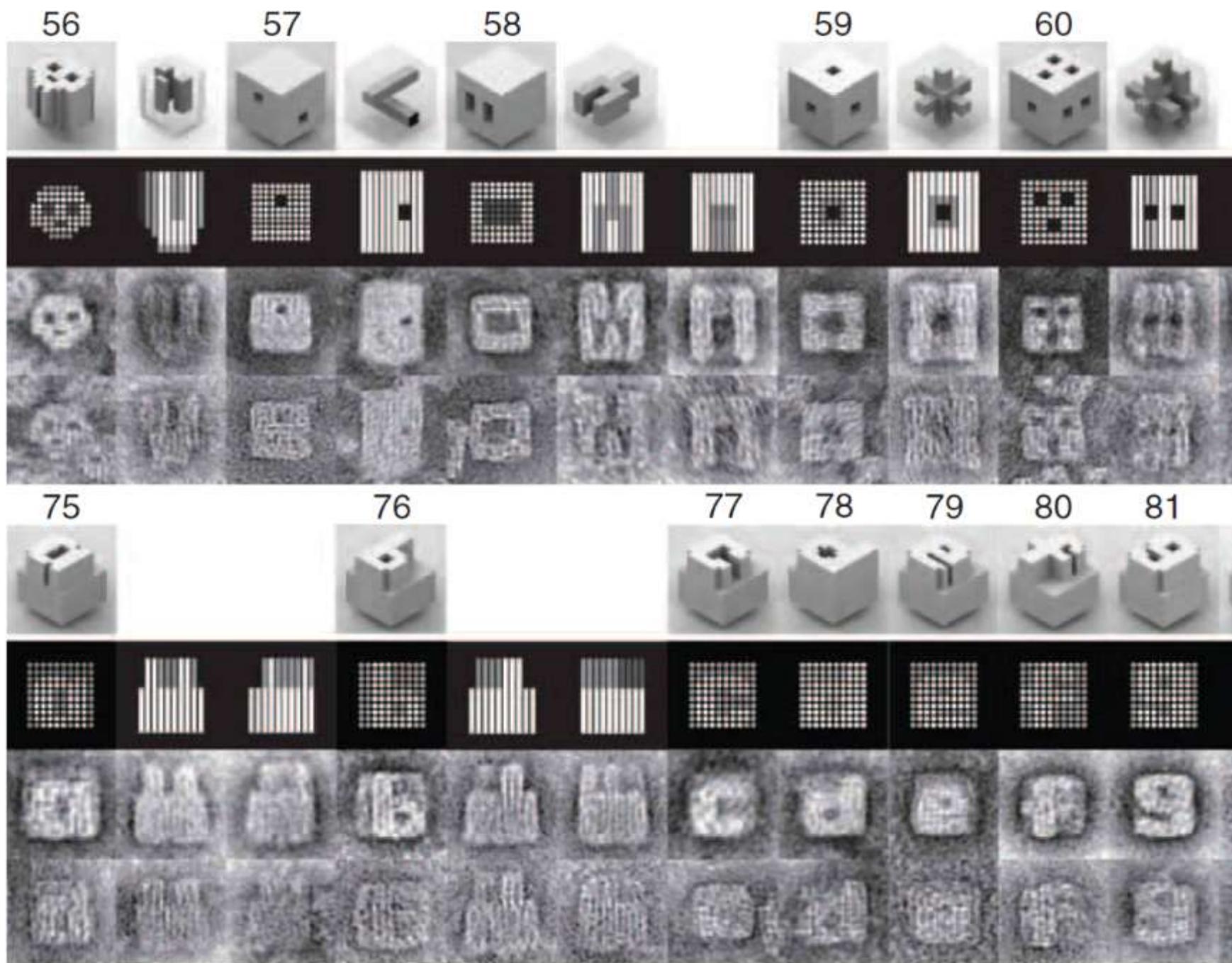
38

39

40







DNAを鋳型にして, ナノ構造を作る

*"Casting inorganic structures with DNA molds"*  
W. Sun *et al.*, *Science*, **346**, 125836 (2014).

DNAでさまざまな3次元構造を作成できるのは素晴らしい事ではあるが、単に形が作れるだけでは用途はほとんど存在しない。

ナノ材料として利用するからには、そこに何らかの機能を持たせなくてはならないのだが、DNAそのものに機能を持たせることは(不可能ではないが)難しい。

そこで、DNAの3次元構造と、機能を持った物質との複合化が研究されている。

# 金属ナノ粒子の構造制御とDNA

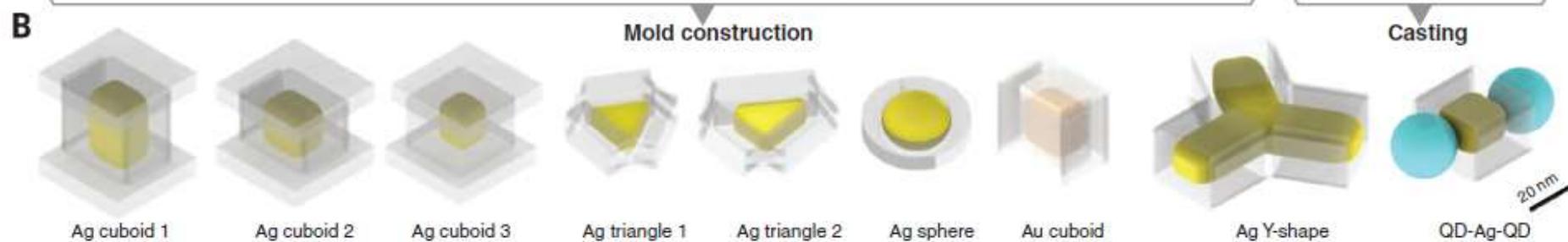
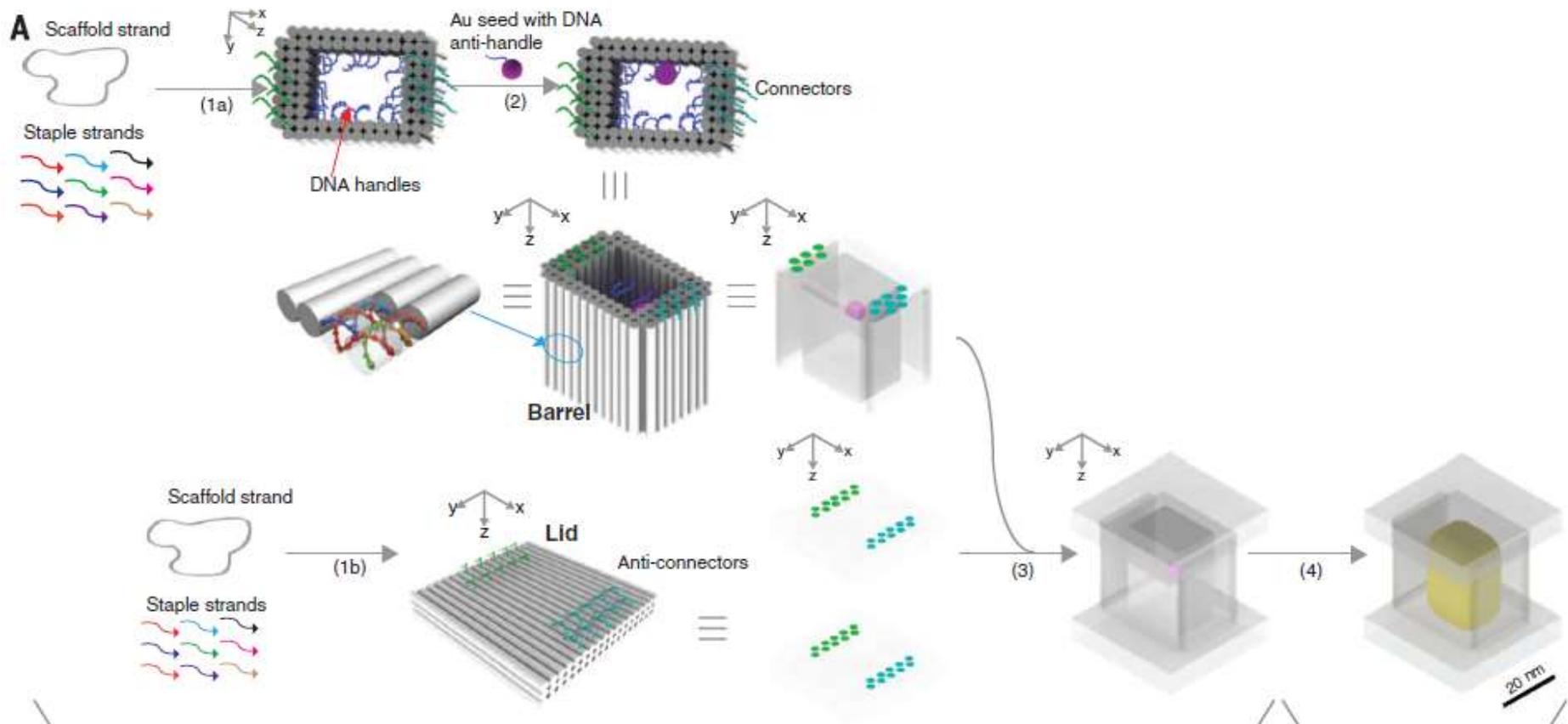
金属ナノ粒子は、優れた触媒特性や光学特性を持つことが知られている。

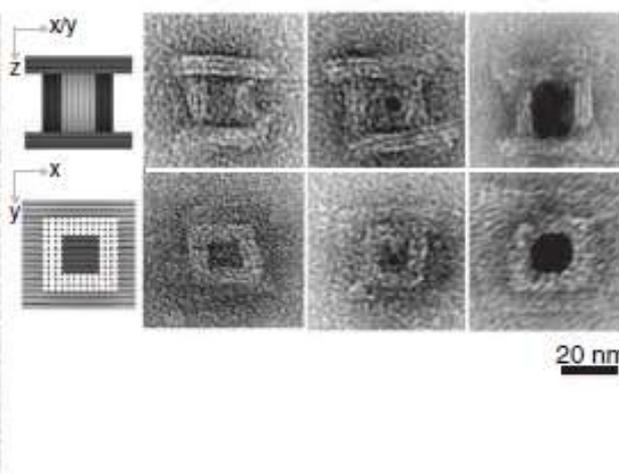
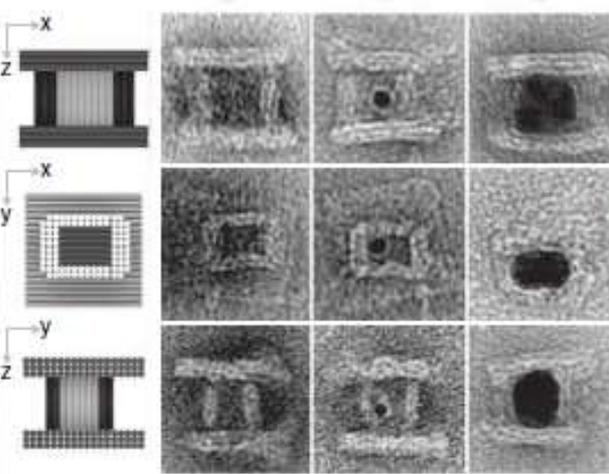
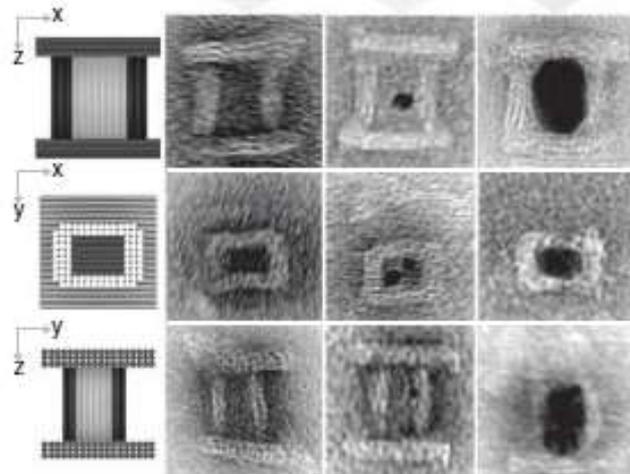
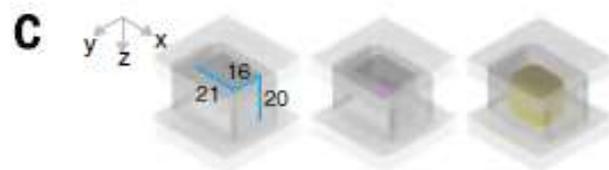
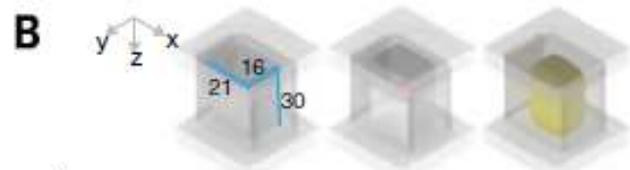
特に光学特性（吸光や発光，特定の光との共鳴など）はナノ粒子の形状に大きく依存することが知られており，より良い材料を作るには決まった形状のナノ粒子を量産する必要がある。

この「形の決まった金属ナノ粒子」の作成に，DNAの3次元構造を鋳型として使おうという研究が昨年報告された。

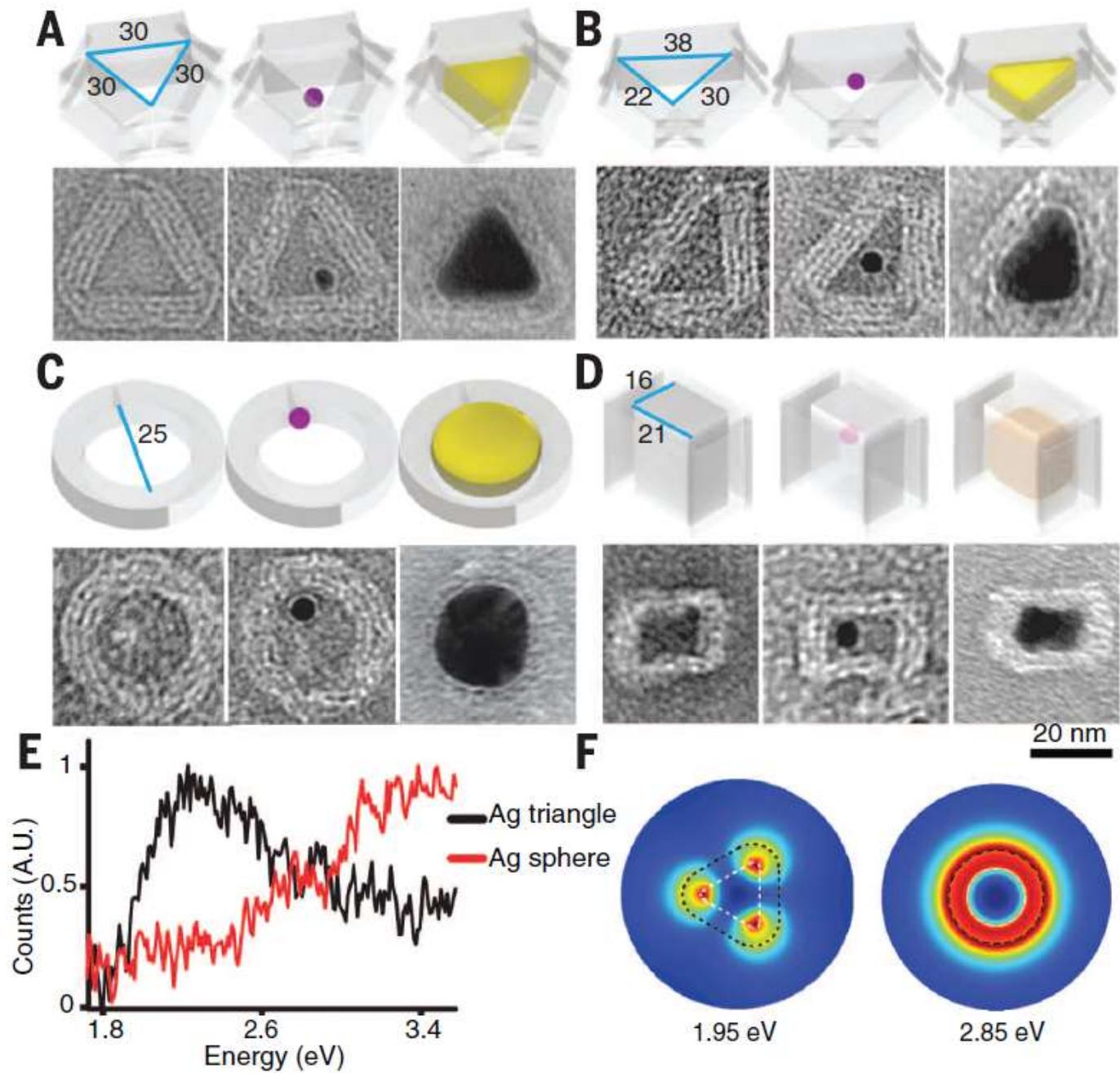
## 手法の概要:

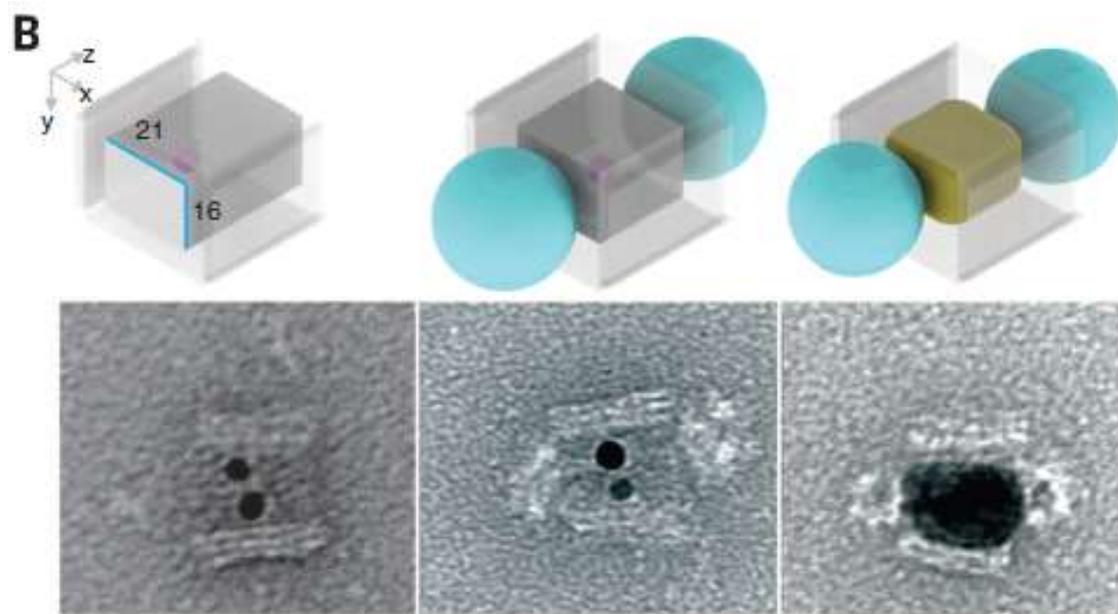
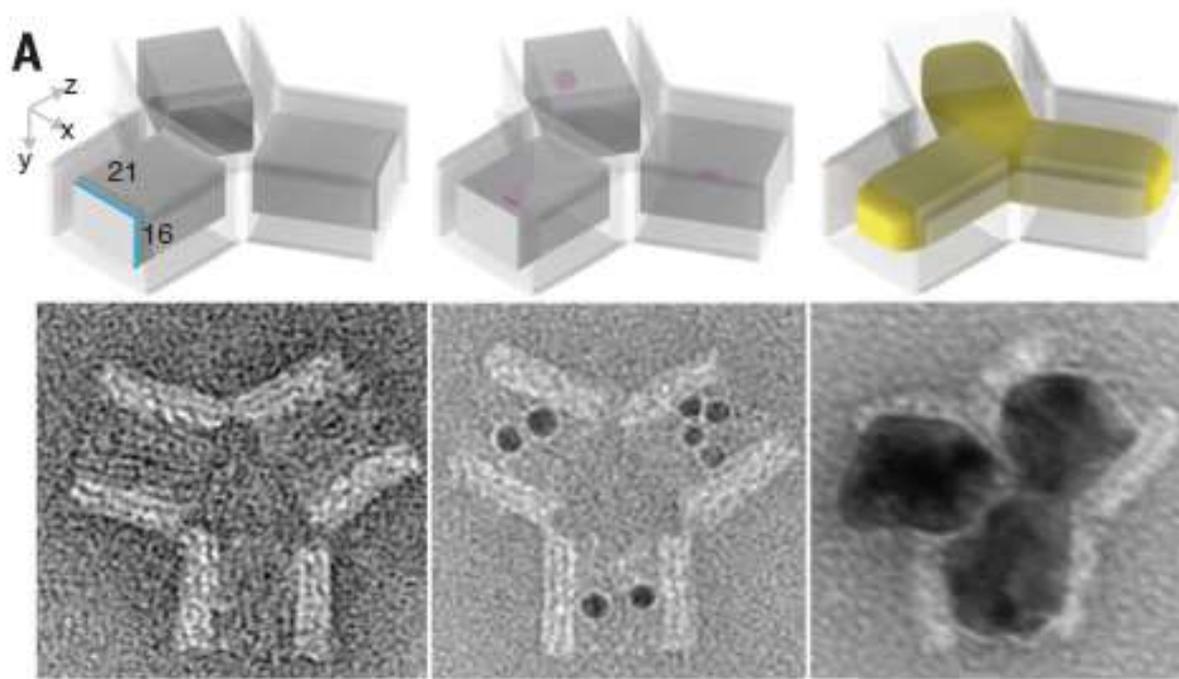
1. DNAで中空のナノ構造を作る.
2. 種結晶となるナノ粒子をその中に入れる.
3. 溶液中のイオンをゆっくり還元し, ナノ粒子を成長させる.
4. すると, 金属粒子がナノ空間の形に成長する.





20 nm





20 nm

# DNA-origamiで可変構造を作る

*"Dynamic DNA devices and assemblies formed by shape-complementary, non-base pairing 3D components"*  
T. Gerling et al., *Science*, **347**, 1446-1452 (2015).

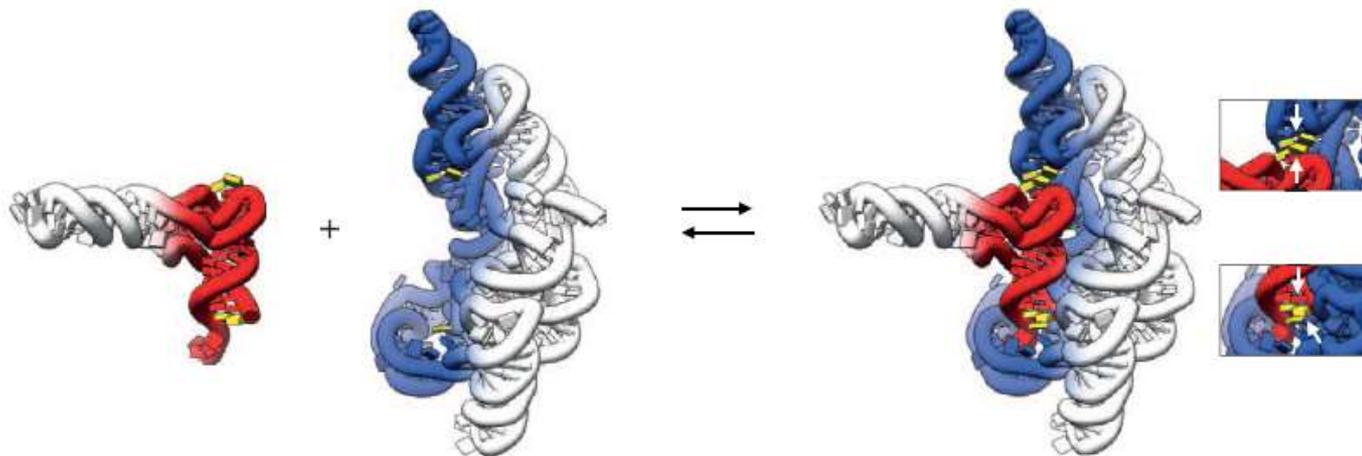
DNA-origamiではさまざまな構造を作れるが、その構造は一度作るとそのままであり、自由にくっつけたり外したりは簡単にはできない。

これはDNAが二重鎖を作る結合がかなり強いためである。

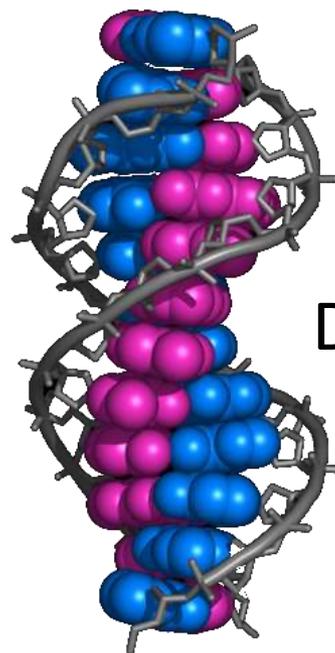
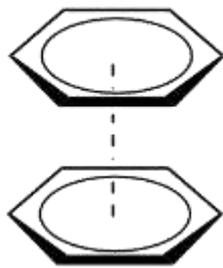
パーツをDNA-origamiで作り、パーツ同士を結合する部分にはもっと弱い相互作用を使えば、溶液中で自在に変形するような構造が作れるのでは？

弱い相互作用として何を使うか？

生物が使っている, RNase (RNA分解酵素) をヒントに.

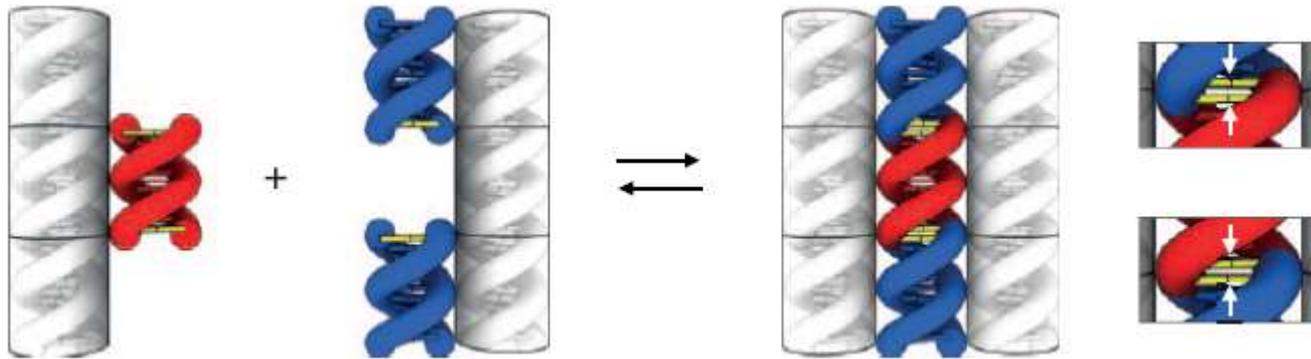


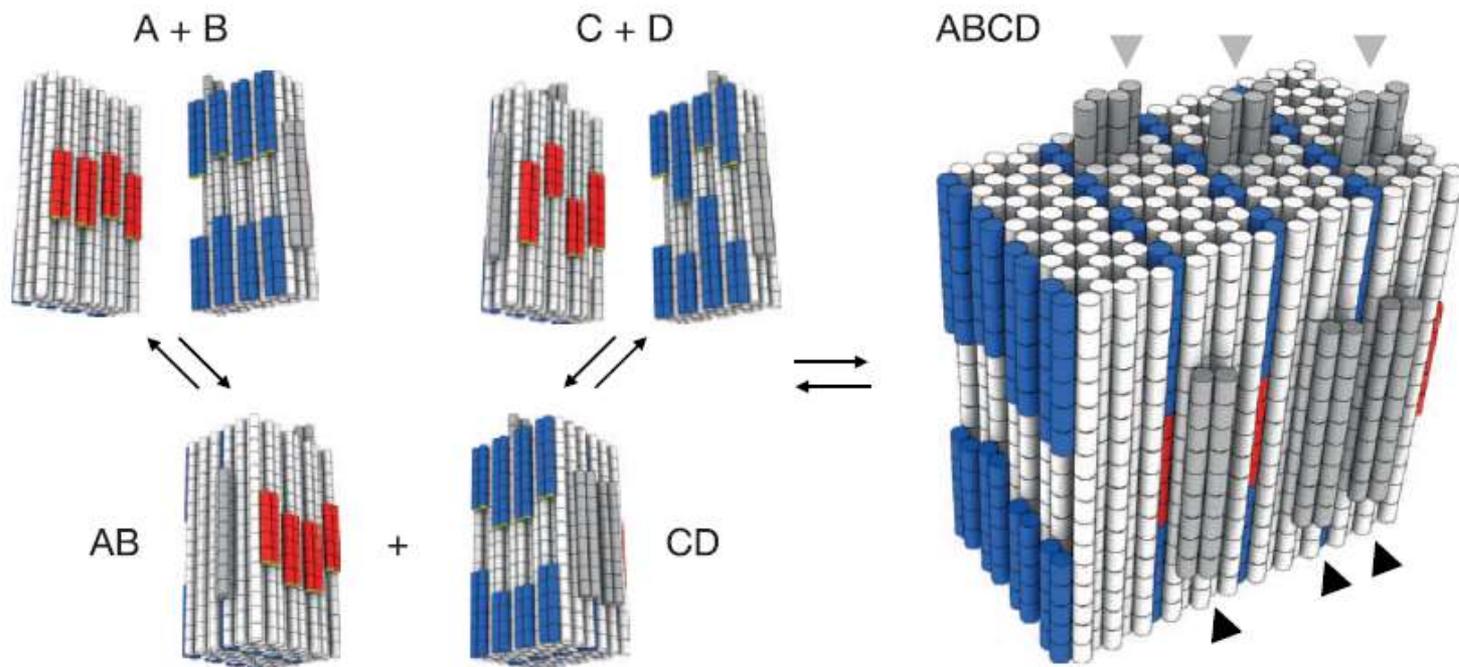
$\pi$ - $\pi$ 相互作用:  
ベンゼン環などは  
積層しやすい



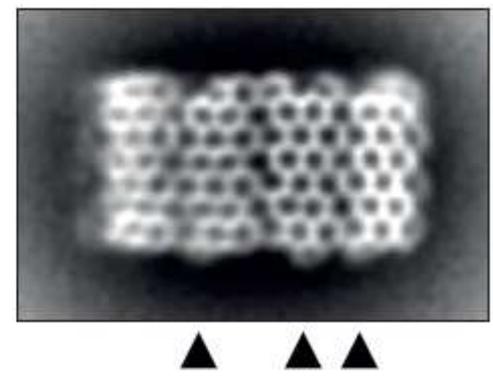
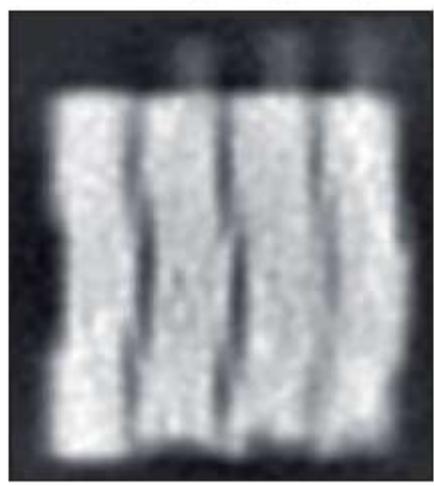
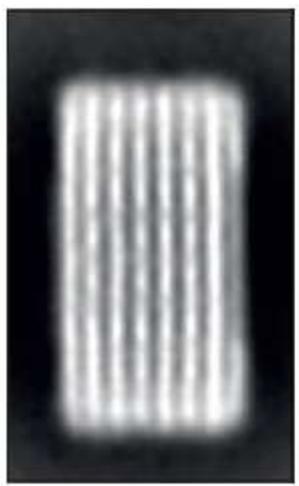
DNAの中心構造

DNAの二重鎖断片(の末端)を, ジョイントにする.  
(端面のベンゼン環で, 相手と積層してくっつく)





20 nm



さらに、可動性を持たせよう

ジョイント部分が、若干負電荷を持つようにしておく。  
→ 通常時は互いに反発して、くっつかない

$Mg^{2+}$ を加えると、ジョイントにくっつき電荷を打ち消す  
→  $\pi$ 相互作用の方が強くなって、くっつく。

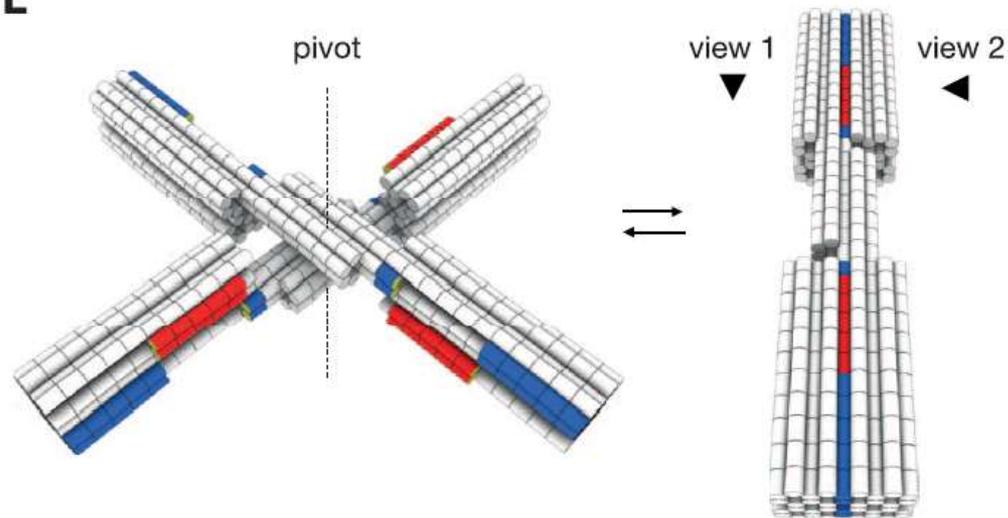
$Mg^{2+}$ の濃度が下がると.....

→ また反発が効いてきて、バラバラに

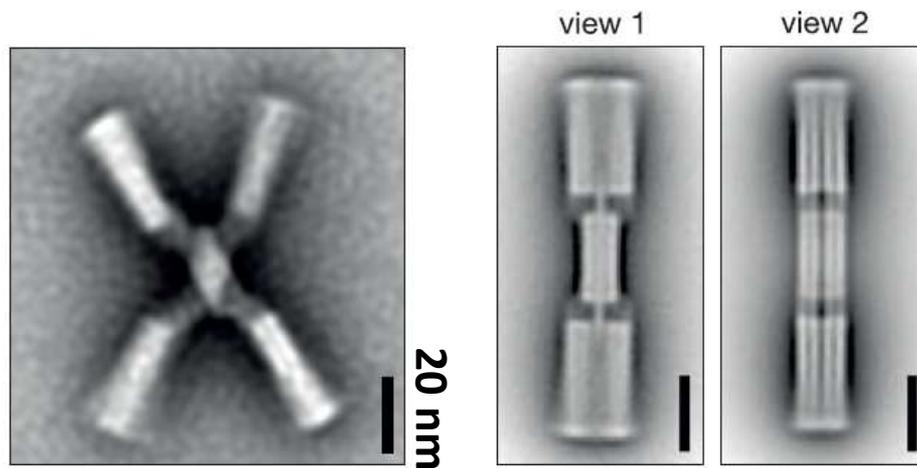
5 mM MgCl<sub>2</sub>

25 mM MgCl<sub>2</sub>

E

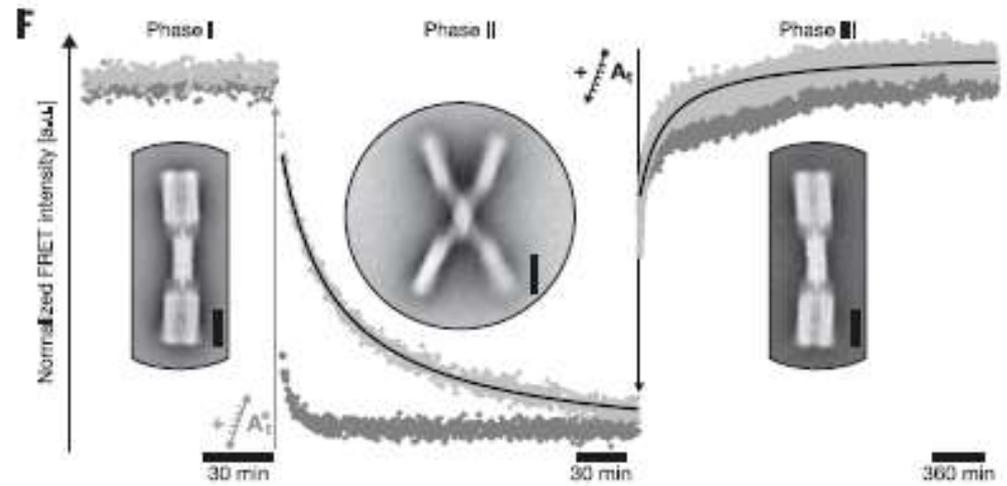
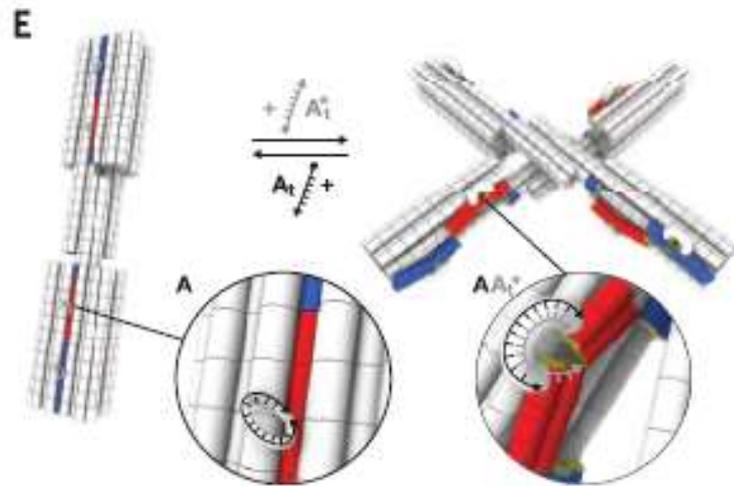
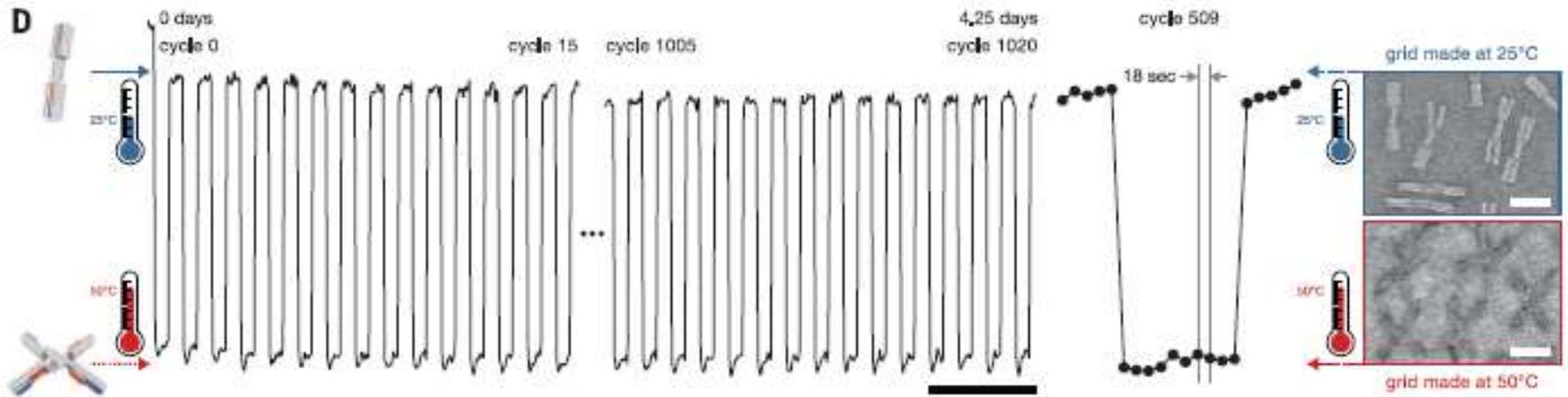


F

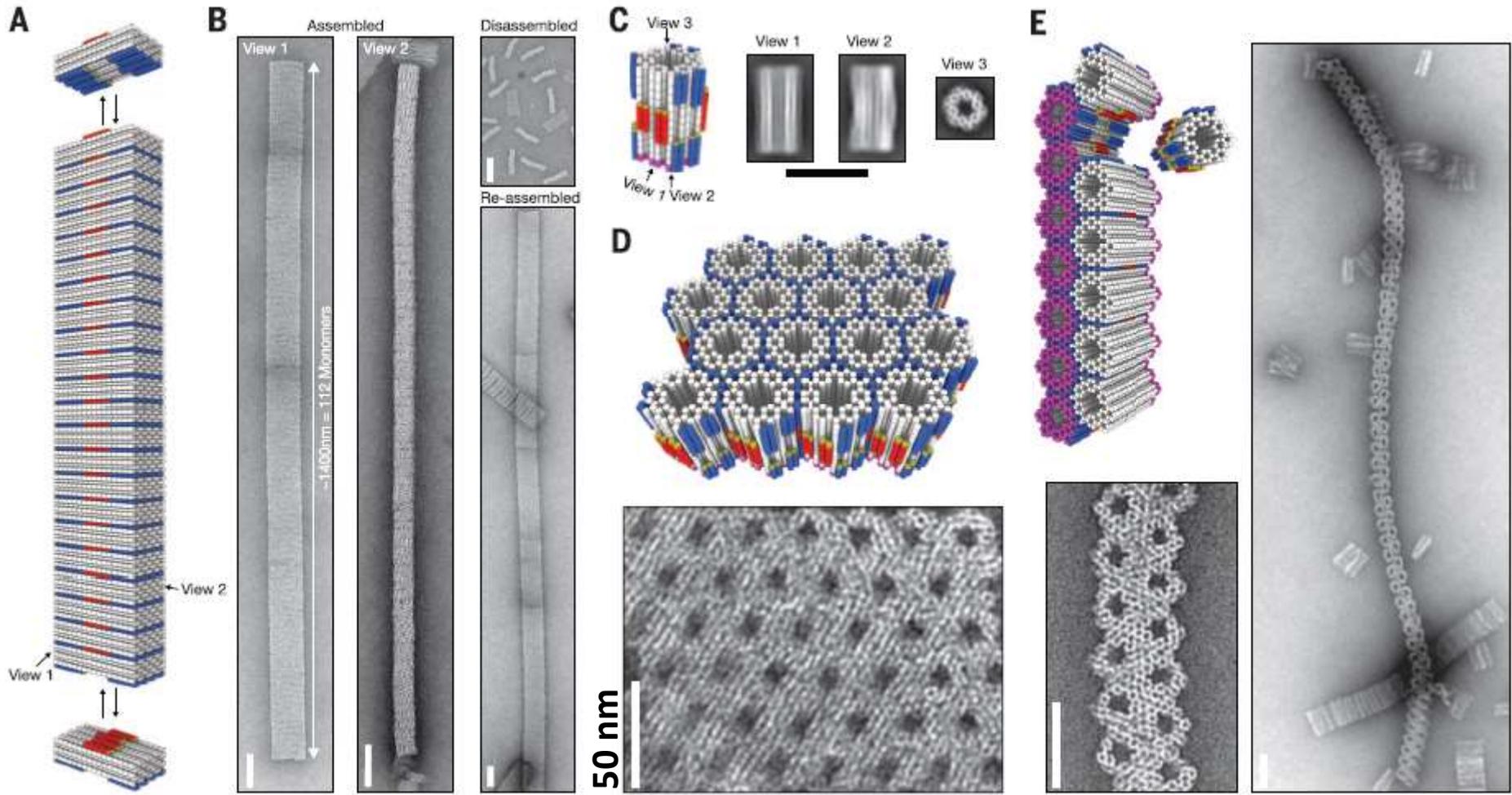


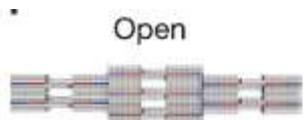
温度でも変わる.

※高温だと、熱揺らぎの方が強くなるので、はずれる。



# ジョイントの付け方で、出来上がる形状は自由自在

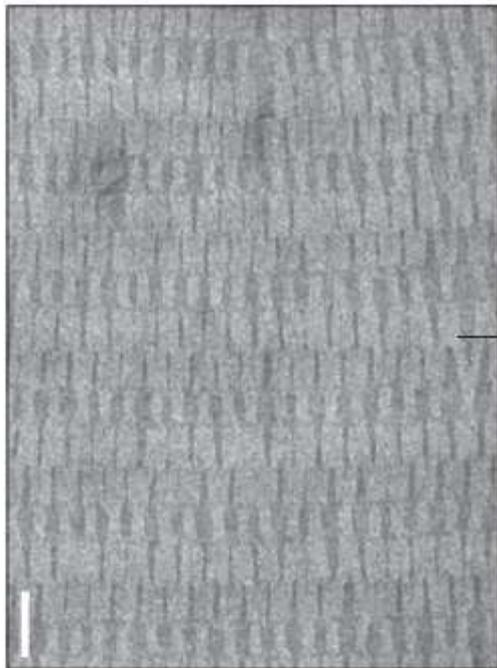




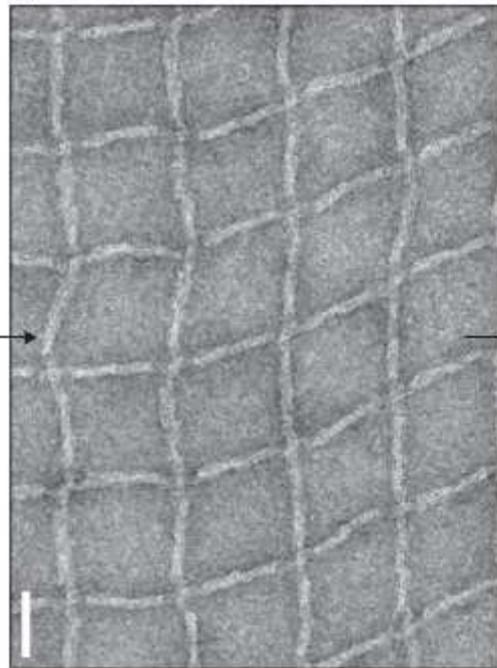
Closed

50 nm

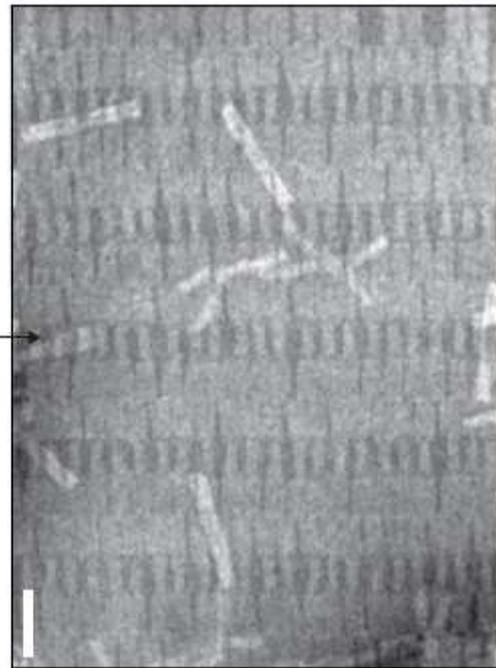
Closed

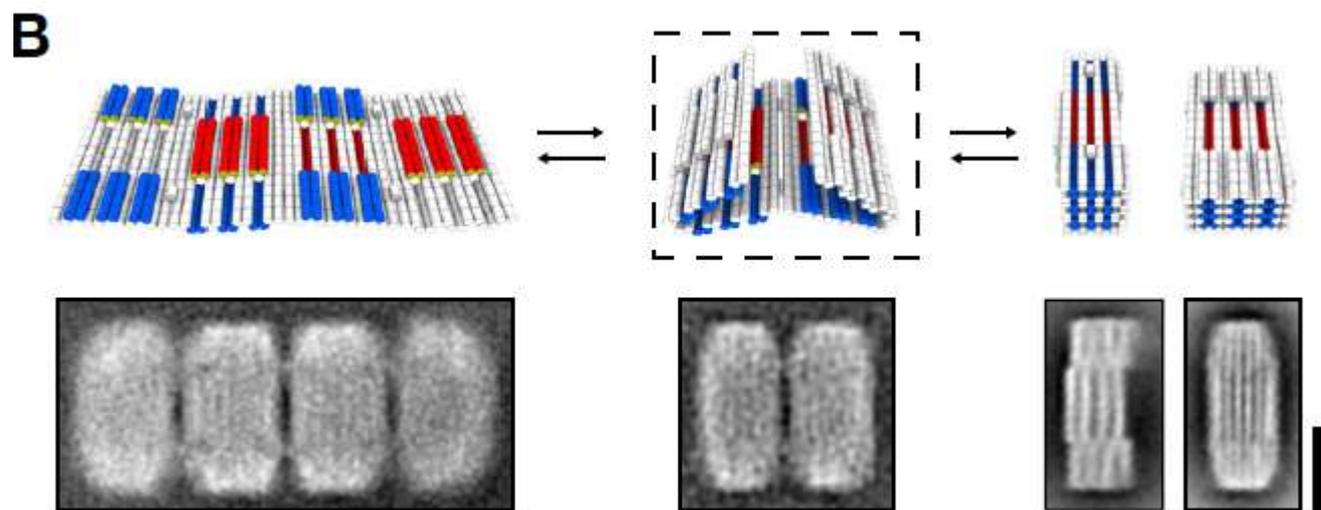
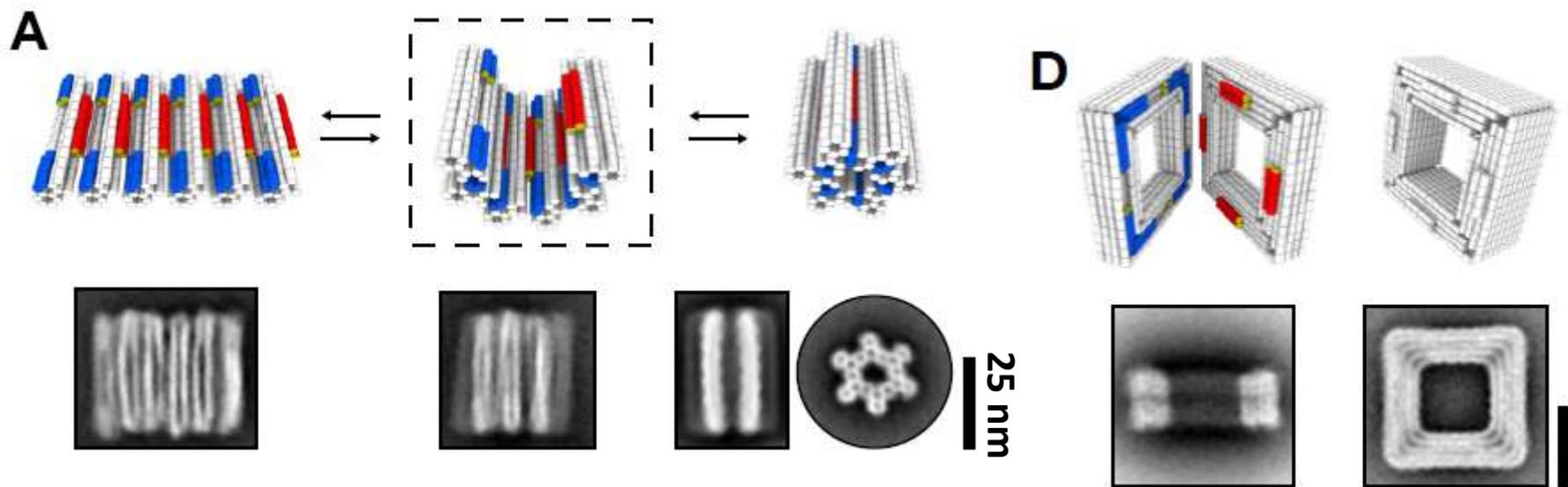


Open

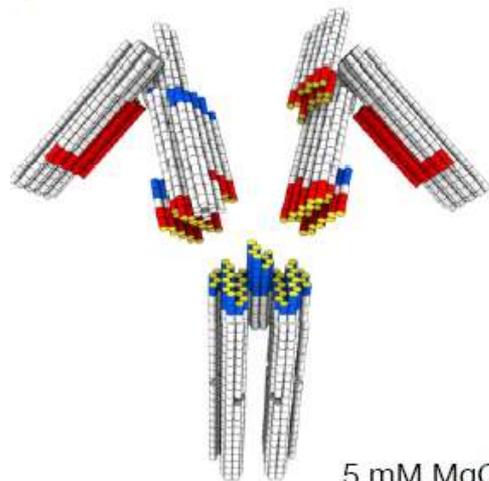


Closed

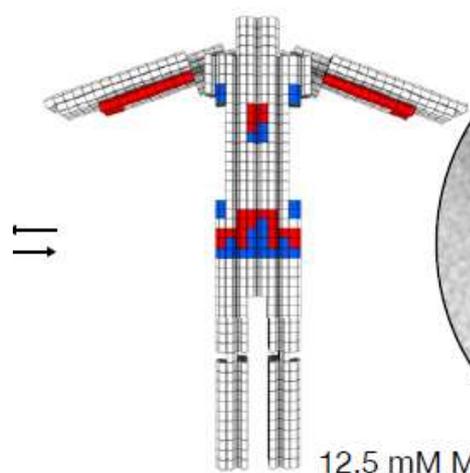
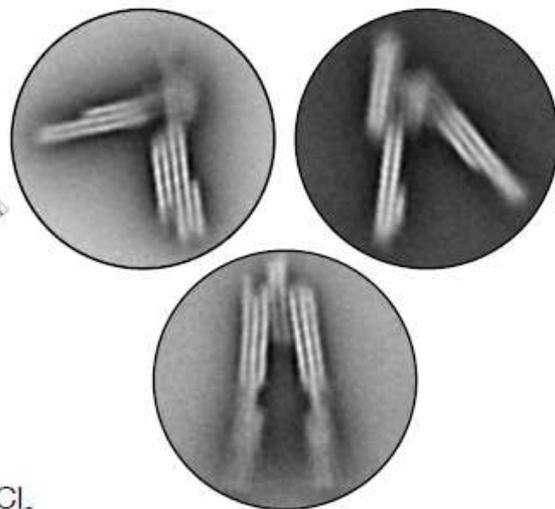




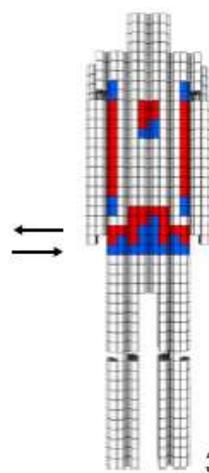
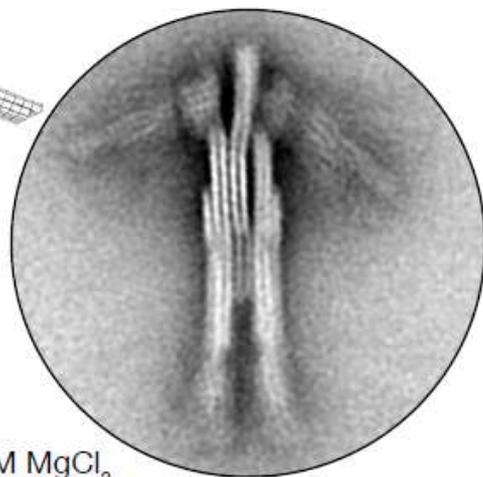
**C**



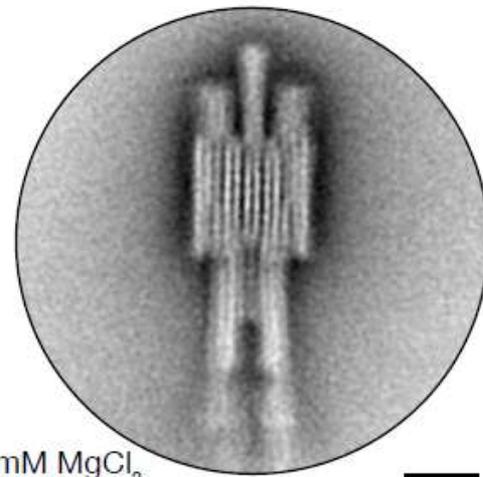
5 mM  $\text{MgCl}_2$



12.5 mM  $\text{MgCl}_2$



30 mM  $\text{MgCl}_2$



このように、DNA origamiを用いたナノ構造の作成は近年盛んに研究されている分野である。今後も続々とこれを用いたナノ素子、ナノマシンが報告されていくだろう。

実用化まで行き着くかどうかはともかく、注目の技術の一つであると言える。