

# セルフアセンブリによる DNA ナノ構造体形成について

山本 雅人, 大内 東  
北海道大学 大学院情報科学研究科

**概要** Adleman が DNA を用いた化学反応によって有向ハミルトン経路問題を解くことを実証して以降, DNA コンピューティングをさまざまな組合せ問題へ適用しようとする試みがなされてきた. しかし, 近年の DNA コンピューティング研究は, NP 問題などの組合せ問題を解く方向から, DNA の自己組織化(セルフアセンブル)の性質を用いてナノ構造体を形成しようとする方向と生物のしくみを利用した人工遺伝子回路などを作ろうとする構成的生物学, または, 合成生物学というべき方向にシフトしつつある. 本稿では, セルフアセンブルによる DNA ナノ構造体の形成やナノ構造体を使った計算手法に関する研究を概観し, ナノ構造体形成のための塩基配列設計手法について述べる.

## Construction of DNA Nanostructures based on Self-Assemble

Masahito Yamamoto and Azuma Ohuchi  
Graduate School of Information Science and Technology  
Hokkaido University

**Abstract:** Construction of DNA nanostructures based on self-assemble and synthetic biology are attractive research areas in DNA computing research since Adleman's demonstration of solving combinatorial problems. In this paper, we describe some of researches related to the construction of DNA nanostructures such as DNA tiles and DNA origami. In particular, some practical issues for implementing the algorithmic assemble of DNA tiles are discussed. Also, we present the sequence design method for obtaining stable DNA tiles.

### 1. はじめに

近年, 生体分子, 特に, DNA を用いたコンピューティング手法が研究されつつあるが, その方向性は少しずつ変化しつつある. Adleman が有向ハミルトン経路問題を解く DNA コンピューティングアルゴリズムを提案し実証した初期の頃は, DNA コンピューティングは, NP 完全問題のような組合せ問題を解くための魅力的な手法であるとして注目され, さまざまな組合せ問題を解くための手法が提案された[1]. 既存のコンピュータが解けないようなサイズの問題を高速に解くための手法などの開発に中心が置かれていたのである. しかしながら, 近年になって, ナノテクノロジーや細胞工学(構成的生物学), 分子進化・タンパク工学などの分野への広がりを見せている. 中でも, ナノテクノロジーへの展開は, 相補 DNA の自己会合性を巧みに利用した自己組織的なナノ構造体形成についての研究が行われるようになり, DNA ナノテクノロジーなどと呼ばれて注目されるようになった. また, 自己組織的な構造形成の過程が計算と見なせることから我々は計算論的ナノテクノロジーとも呼んでいる.

DNA を用いてナノ構造をセルフアセンブルによってボトムアップ的に構築しようとする試み

は DNA タイルをその基礎として用いるものが有力である。複数の一本鎖 DNA を巧みに交叉させながら相補結合させることで、平面的なタイル構造を作ることができる。このようなタイル構造を DNA タイルと呼ぶ[2]。一般に、各 DNA タイルは複数の粘着末端(一本鎖 DNA)を持っており、他のタイルの相補的な粘着末端と特異的に結合することで、より大きな構造を形成することが可能である。粘着末端部を適切に変えて(プログラムして)DNA タイルを自己組織的に反応させることで、さまざまな構造やタイルパターンの生成を制御する試みが行われている。また、最近になって、DNA 折り紙と呼ばれる画期的な手法が提案された[3][4]。長い一本鎖 DNA とその DNA を折りたたむための多数の短い DNA 断片を混合しアニールさせることで任意の形状を形成する手法である。以下、これらの手法について概観し、著者等が取り組んでいる DNA タイルのための塩基配列設計手法について紹介する。

## 2. DNA タイル

### 2.1 DX タイル

DNA タイルによるナノ構造形成に関する研究が最近特に注目されるようになったのは、Winfree と Seeman らによる論文が、1998年のNature誌に掲載されてからであろう[2]。4本の一本鎖DNAを用いた double crossover (DX)分子と呼ばれるDNAタイルを用いてボトムアップ的に、大きな構造を生成することに成功した。

各タイルの四隅には5塩基ずつの粘着末端(sticky end)があり、この部分の配列を変えた複数種のDNAタイルを用いることにより、他のタイルの粘着末端部と特異的に結合させることができる。このようにタイルの四隅に粘着末端をもつタイルはWangタイルと呼ばれるタイルを表現し、これらのタイルから生成される構造は1次元セルオートマトンを模倣することが知られている。したがって、タイルによる構造生成の過程は、1次元セルオートマトンと同等の計算能力を持つことが示されている。

1次元セルオートマトンを模倣するためには、シードタイル、もしくは、ボーダータイルと呼ばれる初期状態を表すフレームのような役割を果たす構造の形成が必要であり、このシードタイルから個々のタイルが粘着末端部の相補結合を形成してタイルは大きな構造へと成長していく。しかしながら、このシードタイルの生成は、実験上大きな問題点となっている。シードタイルは安定な構造であることが望まれ、それに結合する個々のタイルは結合と解離を繰り返しながら、ミスマッチ(完全な相補鎖ではない粘着末端同士が結合してしまう)を解消しつつ、望みの構造に成長していくことを期待する。このため、粘着末端部の結合度(融解温度)を変えたり、実験プロトコルを最適化したりするなどの対応が必要となる。

Rothemund と Winfree らは、粘着末端部を変えたDNAタイルを4種類用意してシェルピンスキーのフラクタル三角形の生成を試みた。ここでは、上記のシードタイルとして、長い一本鎖DNAを生成し、それを構造生成の足がかりとすることで上記の問題の解決を試みた。その結果、ある程度のエラーは見られたが図1のようなシェルピンスキーの三角形の形成に成功した[5]。図の白く見えているタイルは、タイルの区別を付けるために、タイルの内部にバルジループ構造(片方の一本鎖DNAがヘアピン構造をとる二本鎖DNA)を含むようにして、AFM(原子間力顕微鏡)での観察の際、タイルの高さの違いとして観測できるよう工夫がしてある。

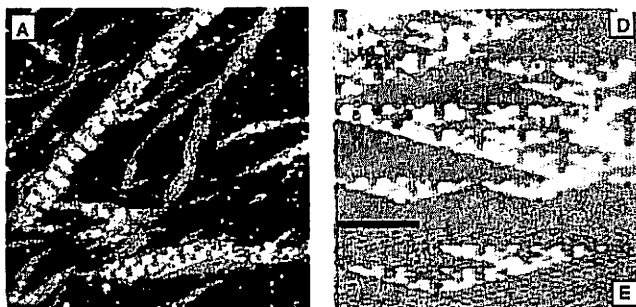


図1 RothemundとWinfreeらによるシェルピンスキーの三角形の生成([2]より抜粋)

## 2.2 4×4DNA タイル

デューク大学のYan, Reifらは4つの方向に粘着末端を持つDNA タイル(4×4タイル)を開発し(図2), それらを相互に結合させることでグリッド状, または, リボン状の構造(図3)を形成できることを示した[6]. また, リボン状の DNA タイルを骨組みとして金属化を行うことでナノワイヤーが生成できることを示した.

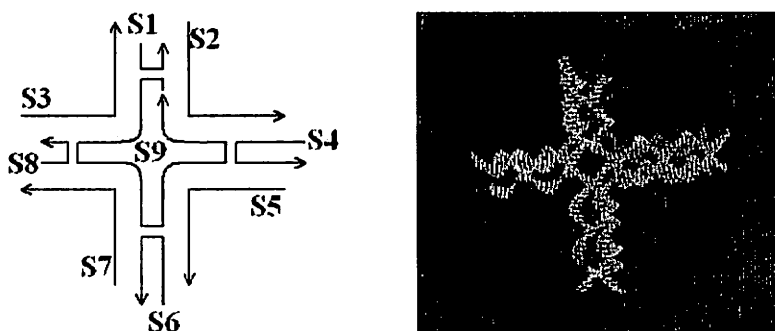


図2 DNAタイル(左: 模式図で9本の一本鎖DNAが図のように数カ所で分岐して相補結合している. 右: 基本単位の3次元表示で異なる色が異なる一本鎖を表す)

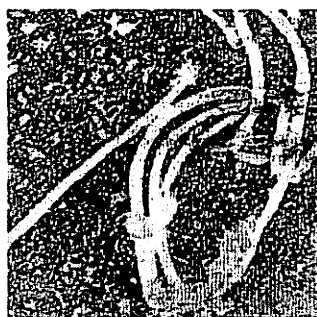


図3 4×4DNAタイルによるリボン構造の生成

このように異なった構造が生成されるのは、使用する塩基配列に依存してDNAタイルが歪みを持つことに起因していると考えられるが、現在のところDNAタイルを構成する一本鎖DNAの塩基配列から歪みを予測し、どのような構造を形成しうるかをあらかじめ予測することは困難である。

### 3. DNA折り紙

Rothemund は、M13mp18 と呼ばれるファージの一本鎖 DNA を使用して、さまざまな形状に折りたたむ DNA 折り紙の手法を提案し実証した[3][4]。7249 塩基ほどの一本鎖 DNA について、その折りたたみによって任意の形状を形成するために、staple と呼ばれる 32 塩基ほどの短い DNA 断片によって折りたたみの結合を行う。この staple の設計はコンピュータを用いて入念に行われる。それらを試験管内で混合すると staple が一本鎖 DNA にアニールしながら、折りたたみを実現し、設計した形状が形成される(図 4)。Rothemund は、図 5 のような非対称な構造もかなりの高再

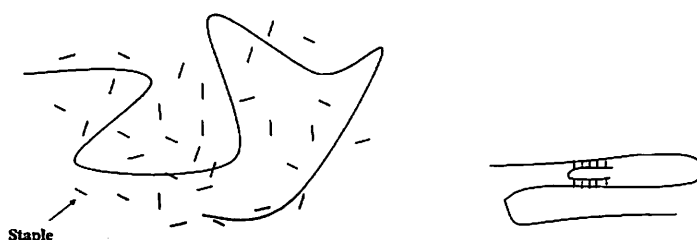


図4 DNA折り紙の原理(左：長い一本鎖DNAとstapleと呼ばれるDNA断片を混合する。  
右：stapleが一本鎖DNAにアニールすることで折りたたみを実現する)

現性を実現しつつ形成可能であることを示している[3]。この手法は、非常に多くの DNA 断片を合成する必要があるため、汎用性やコストの面で問題があるものの画期的な手法であることから非常に注目されている。一本鎖 DNA として存在している配列をテンプレートとして用いたため、それ自身が二次構造を取りにくいこと、また、すべての DNA 断片があるユニークな場所にアニールすることで折りたたみを実行するため、エラーが起きにくいといった性質がある。

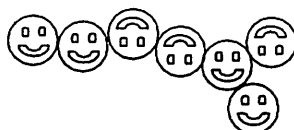


図5 DNA折り紙による任意の形状の生成[3]

### 4. DNA ナノ構造形成の方向と課題

DNA 折り紙は、非周期的な任意の構造を形成する手法として魅力的であるが、汎用性やコストの面で問題があることを述べた。しかしながら、実験的には非常に容易に実現が可能であるため、今後の DNA ナノ構造の形成の中心的手法の一つとなるであろう。既に、DNA 折り紙の手法で生

成された正方形上の構造を DNA タイルによるセルフアセンブルのシードタイルなどとして利用する研究がされつつある。

一方、周期的な任意の規模の構造を形成したり、ある種の計算を行わせたりするためには、やはり DNA タイルが有効であると考えられるが、まだまだ実現上の問題点は多い。DNA タイルでもう少し複雑な構造を形成するためには、2 次元的なシードタイルを必要とする。例えば、バイナリ(2進)カウンタを表す構造を生成するには、図6の赤色で示したように X 軸方向と Y 軸方向の2軸にシードタイルを用意し(3種類)、カウンタを実現するためのルールタイルとして4種類の異なった粘着末端を持つ DNA タイルを用意しなければならない。このような構造を生成するためには、シードタイル間の結合が非常に安定で壊れにくく、ルールタイル間の結合はシードタイルに比較して不安定である必要がある。また、この構造を生成するためには7種類のタイルが必要であり、他のタイルを認識するための粘着末端部も多数必要となるため、正しい相補結合のみを形成する特異性が失われることにつながる。

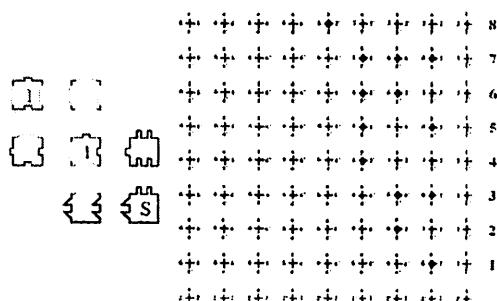


図6 DNA タイルによるバイナリカウンタの実現

このような条件の下で、望みの構造を生成するための実験プロトコルや塩基配列の設計手法は現在のところ実現されていない。

著者らは、このようなタイル構造を生成するための塩基配列設計手法を提案している。従来用いられているDNAタイルの大部分は、Scemanによる配列設計手法を採用している[7]。これは各一本鎖DNAの塩基配列に、ある長さ以上の部分塩基配列が他の一本鎖DNAの部分配列として現れないような塩基配列を探すインタラクティブなプログラムである。この手法はシンプルで分かりやすいが、一本鎖DNA間の結合性を単なる部分配列の相補性のみで近似しているのみで、安定性の判定基準としては不十分である。

著者らは、一本鎖DNA間の結合性の尺度として自由エネルギーを用いて、DNAタイルの構成要素となる複数の一本鎖DNA間の結合安定度を予測し、望みの相補結合はより安定に、望まない相補結合はより不安定になるような塩基配列の設計手法の開発を行っている([8], 図7)。そこでは、一本鎖DNAが自分自身でヘアピンなどの二次構造を形成することも避けることができるため、DNAタイルの種類数が増えた場合の塩基配列設計手法として有効であると考えられる。4×4DNAタイルの塩基配列設計を実際に行い、自由エネルギーの観点からYanらのタイルよりもより安定であると考えられるDNAタイルの設計が容易に可能であることを示している。今後は粘着末端を含む複数のタイルセットを効率良く設計可能なように拡張して行く予定である。

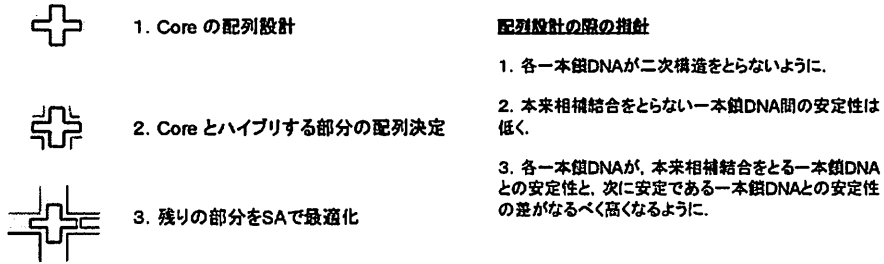


図 7 4×4DNA タイルの塩基配列設計手法の概要

## 5. おわりに

本稿では、DNA の自己会合性を利用したセルフアSEMBルによってナノ構造を形成しようとする研究を概観して、実現上の問題点について述べた。DNA 折り紙という新しい手法の提案によって今後もこの分野の研究がより加速することが考えられる。これらの研究においては、塩基配列の設計が大きなウエイトを占めており、著者らが提案している DNA タイルのための塩基配列手法も重要な役割を担っていくであろうと考えている。

## 参考文献

- [1] Leonard Adleman, "Molecular Computation of Solutions to Combinatorial Problems", Science, Vol. 266, pp. 1021-1024 (1994).
- [2] Erik Winfree, Furong Liu, Lisa A. Wenzler, and Nadrian C. Seeman, "Design and Self-Assembly of Two-Dimensional DNA Crystals", Nature, Vol. 394, pp. 539-544, 1998
- [3] Paul W. K. Rothmund, "Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns", Nature, Vol. 440, pp. 297-302 (2006)
- [4] Paul W. K. Rothmund, "Design of DNA origami", Proceedings of the International Conference on Computer-Aided Design (ICCAD), (2005)
- [5] Paul W. K. Rothmund, Nick Papadakis, Erik Winfree, "Algorithmic Self-Assembly of DNA Sierpinski Triangles", PLoS Biology, Vol. 2, No. 12, pp.2041-2053, 2004
- [6] Hao Yan, Sung Ha Park, Gleb Finkelstein, John H. Reif, and Thomas H. LaBean, "DNA-Templated Self-Assembly of Protein Arrays and Highly Conductive Nanowires", Science, Vol. 301, pp. 1882-1884, 2003
- [7] Nadrian C. Seeman, "De Novo Design of Sequences for Nucleic Acid Structural Engineering", Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, Vol. 8, No. 3, pp. 573-581, 1990
- [8] 飯村直記, 山本雅人, 田中文昭, 亀田充史, 大内東, 「自由エネルギーを用いた DNA ナノ構造のための塩基配列設計」, FIT2005 講演論文集, 2005