

Title	DNAオリガミを利用した超小型情報発信器の開発
Author(s)	荒木, 颯太
Citation	平成29年度学部学生による自主研究奨励事業研究成果報告書. 2018
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/68116
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

平成29年度学部学生による自主研究奨励事業研究成果報告書

ふりがな 氏名	あらき そうた 荒木 颯太	学部 学科	工学部環境エネ ルギー工学科	学年	1年
ふりがな 共同 研究者氏名	のぐち あつし 野口 敦司	学部 学科	工学部応用理工 学科	学年	1年
	ジョハネス・ニコラウス ウィビサナ		理学部生物学科		2年
					年
アドバイザー教員 氏名	森島 圭祐	所属	工学研究科		
研究課題名	DNA オリガミを利用した超小型情報発信器の開発				
研究成果の概要	研究目的, 研究計画, 研究方法, 研究経過, 研究成果等について記述すること. 必要に応じて用紙を追加してもよい. (先行する研究を引用する場合は, 「阪大生のためのアカデミックライティング入門」に従い, 盗作剽窃にならないように引用部分を明示し文末に参考文献リストをつけること.)				
<h3>1, 初めに</h3> <p>2003年のヒトゲノム解読完了をはじめとして, DNAは極めて正確な働きをしていることが分かっている. その後DNAオリガミの発明によってDNAを遺伝物質としてではなく, ある一つの構造体を形成する分子として扱うことが可能になった. 現在マクロスケールでの技術の進歩は著しく, 物体の外側からのアプローチは高度な水準で行われている. 一方でマイクロスケールでの技術には未知な部分が多い. そこで生命と機械を融合したものづくりに興味をもつ3名でグループを作り, DNAオリガミを利用したマイクロスケールの分子構造体を作成することにより物体の内側からのアプローチを可能にすることを目指し, その成果を BIOMOD (国際生体分子デザインコンペティション: 米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校主催による「生体分子を設計して, ナノ~マイクロメートルのものづくりを目指す」国際学生コンペティション) に出場し発表する機会を得て, 上位入賞することを目標とした. BIOMODは世界各地から学部学生が集まる. 参加チームは10分間のプレゼンテーションを会場で行い, さらにYouTubeビデオ, 研究内容をまとめたwebページを期限までに作成する. その3要素で評価が下され, 賞が決定する.</p> <h3>2, 研究目的</h3> <p>私たちは「知覚」という点に注目し, 分子構造体を物体内で移動させ, 目的物質に到達後情報を電波や電気信号といった形で送受信する機構の開発を目的とし, 研究を行った.</p> <h3>3, 研究計画</h3> <p>4月 チーム結成 5月 アイデア出し 6,7月 実験方法, 理論構築, webページ(国内大会版)作成 8月 実験開始, webページ(国内大会版)完成 8月末 BIOMOD国内大会@大阪大学</p>					

9,10月 実験

11月 4,5日 BIOMOD 国際大会@サンフランシスコ

4, 研究方法

作業は森島研究室で行い、実験は主に原田研究室をお借りし、多田隈助教のご指導の下行った。4~7月は毎週金曜日に集合し、8月以降は毎日作業を行った。目標はデータを送受信することが可能な超小型発信機の開発だったが、電波の発信を行うナノスケールのロボットの開発が難しいと判明したため見方を変え、データを発信するのではなくデータを回収する、つまりデータを持ったナノスケールの構造体、サンプルを人間もしくは動物の体内などの人が入れないような場所から回収してこることができるような構造体の作成を目指した。目標とした研究手順は以下のとおりである。

- ①ナノスケールロボットの構造を決定し、**cadnano** というソフトウェアを用いて設計、DNA を発注する。
- ②DNA が目標とする構造体にうまく組みあがっていくような条件を探す。
- ③条件が決まった後、実際に構造体が出来上がったか **AFM** を用いて観察する。
- ④実際に構造体を回収する動きができるかを **FRET** 反応を用いることによって確認する。
- ⑤たんぱく質をターゲットとして、回収することができるかを観察する。

5, 研究内容, 成果

5-1 構造設計

一口に目的物を回収するといってもナノスケールにおける物体の回収はマクロスケールにおける物体の回収とは異なる点が数多く存在する。溶液中で作用させるためブラウン運動の影響を大きく受ける、よって一本の紐でできた投げ縄のような構造体で物体を回収しようとする安定せずうまくいかない。またとても軽いため静電気力によって（DNA によって作られた構造体はすべて負の電荷をもっている）大きな影響をうけてしまう。よって網のような構造体で目的を果たそうとすると網に組まれた紐同士の反発によって動き回ってしまいうまくいかない。またターゲットを回収するという目的であるので網のようになんでもかんでもかき集めてしまうようなものは適していない。よって私たちは次のような構造体を設計した。

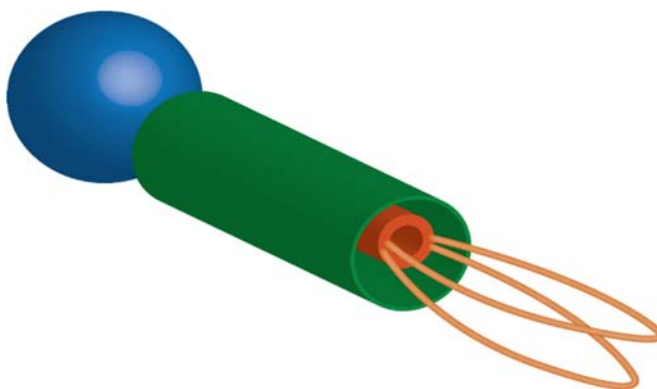


図 1, 構造体の概略図

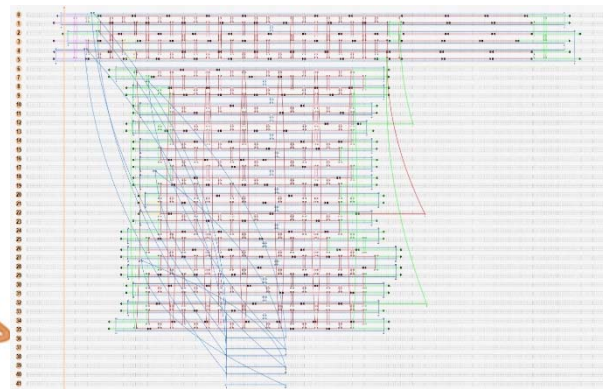


図 2, cadnano での設計図

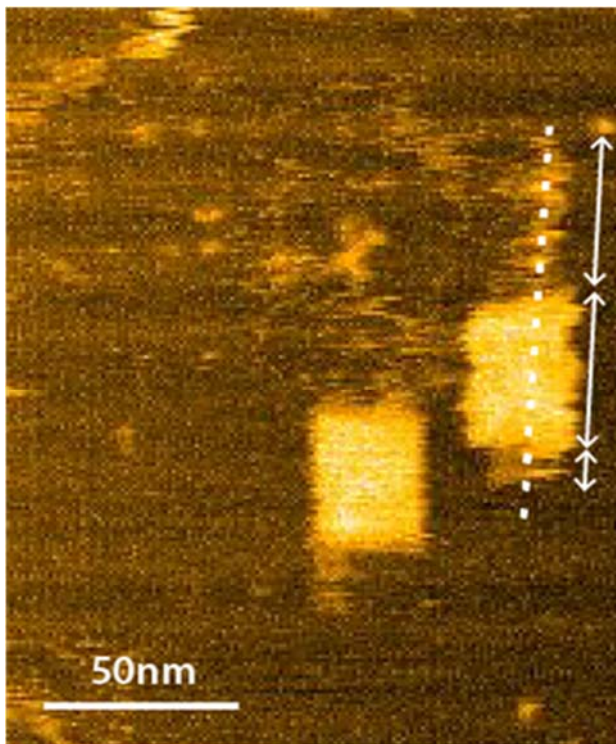
これから図 1 にのっって構造体の説明をする。青い部分は磁気ビーズそれ以外の部分は DNA によって作られている。この構造体は大きく分けて内側の筒、外側の筒、ループ、ビーズに分かれておりビーズは内側の筒にビオチン - アビジン結合によって結合しており、ループは内側の筒に、内側の筒は外側の筒にそれぞれ一本の DNA によって結合している。磁気ビーズは磁石に引き付けられるという

性質を持っているので磁石を構造体に近づけることで磁気ビーズ、またそれに接続された内側の筒が引っ張られループが外側の筒の中に入っていく、ループの間にターゲットがあった場合ターゲットは外側の筒の中に入り、結果ターゲットを回収することができる。

5-2 構造体の作成

DNA がうまく組み合わさって構造体を構成してくれる条件をゲル電気泳動によって調べた。その結果、材料となる DNA を 12 時間、55°C で温めることでうまく構造体を構成できるのではないかと仮説を立て実験を行ったところうまく構造体ができているようだった。よってその条件で作った構造体を AFM で観察し構造体ができているかの確認を行った。以下に AFM の画像を添付する。

図 3 AFM の画像

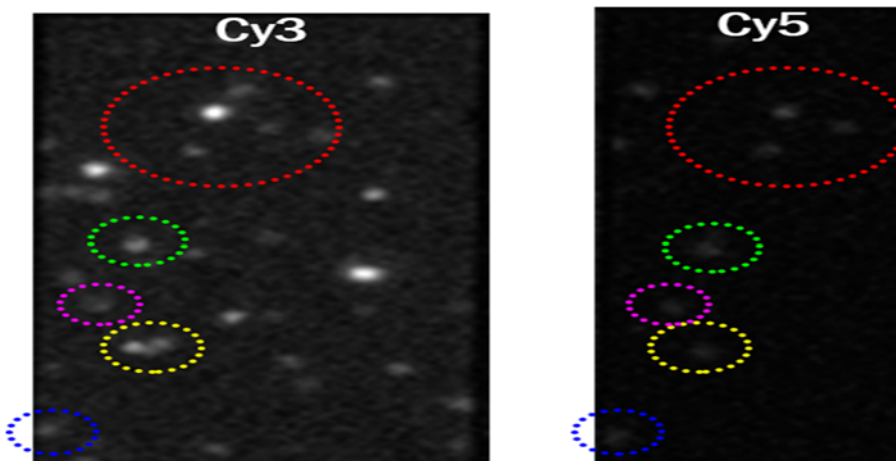


ただし磁気ビーズを取り付けていない状態で観察した。画像のとおり構造体の作成に成功しているといえるだろう。

5-3 FRET による動きの確認

構造体ができただけで FRET 反応をもちいた動きの確認をした。内側の筒と外側の筒に FRET 反応に使用できる 2 種類の色素 (cy3, cy5) をつけ、磁気ビーズに磁石を近づけ FRET 反応の確認を行った。

図 4 FRET の実験結果



上の画像から FRET 反応がただしく行われたことがわかる。よって私たちの構造体が正しく作用することが分かった。しかし FRET 反応をみせた構造体の割合は非常に少なく、次に計画していたたんぱく質を実際に回収する実験はうまく行うことができなかった。

6, 考察

最終目標としていたたんぱく質を用いた観察実験は意図したように動く構造体の収率が少なかったことからうまくいかなかった。これは内側の筒が自由に動くことからビーズと内側の筒とのビオチン-アビジン反応がうまくいかず構造体に磁気ビーズがつかなかったのではないかと考えられる。これからは実際にたんぱく質を捕獲できるように磁気ビーズの接着方法を変えナノスケールのデータ運搬ができる構造体の実現を目指していきたい。

7, 大会結果

以下にサンフランシスコで行われた BIOMOD 国際大会の結果を記載する。大会にはアメリカ, 中国, 台湾など様々な国から学部生が多く集まった。この大会には金賞, 銀賞, 銅賞が用意されており我々は今回の大会で銅賞を獲得した。構造体が完成したのは観察したものの動きが意図したように行われるということが十分に示せなかったのが原因だったと考えられる。自分たちの力のなさを実感するふがない結果で多田隈助教授を始めとする先生方に申し訳ない, 悔しい思いでいっぱいである。次の年の後輩はもっといい結果が出るように自分たちもサポートを行っていきたい。

謝辞

本研究を行うにあたり, 原田教授, 多田隈淳助教, 大阪大学大学院工学研究科機械工学専攻の森島圭祐教授と上杉薫助教ならびに森島研究室の皆様には様々なご指摘や数多くのアドバイスを頂き, さらに実験器具をお借りしました。先生方のご協力なしにこの研究はなしえませんでした。この場をお借りして深くお礼申し上げます。

参考文献

- [1] BIOMOD 2017 日本大会 分子ロボティクス, www.molecular-robotics.org/biomod2016jpn/
- [2] Jares-Erijman, Elizabeth A, and Thomas M Jovin. "FRET Imaging." *Nature Biotechnology*, vol. 21, no. 11, Nov. 2003, p. 1387. ProQuest, doi:10.1038/nbt896.
- [3] Rothmund, Paul W. K. "Folding DNA to Create Nanoscale Shapes and Patterns." *Nature*, vol. 440, no. 7082, 2006, pp. 297–302., doi:10.1038/nature04586.
- [4] Pan, Keyao, et al. "Structure and Conformational Dynamics of Scaffolded DNA Origami Nanoparticles." *Nucleic Acids Research*, vol. 45, no. 11, Aug. 2017, pp. 6284–6298., doi:10.1093/nar/gkx378.
- [5] Pan, Keyao, et al. "Lattice-Free Prediction of Three-Dimensional Structure of Programmed DNA Assemblies." *Nature Communications*, vol. 5, Mar. 2014, p. 5578., doi:10.1038/ncomms6578.
- [6] "Nanoman." *Biomod Hust-China*, biomod2016.gitlab.io/hust/.