

フォトニック DNA ナノマシン

小倉 裕介・西村 隆宏・谷田 純

Photonic DNA Nanomachine

Yusuke OGURA, Takahiro NISHIMURA and Jun TANIDA

We report on a photonic DNA nanomachine, which makes mechanical actions at the nanoscale depending on photonic signals. Azobenzene-tethered DNA is incorporated to the nanomachine to operate it with ultraviolet or visible light. The nanomachine will be able to equip functions in sensing, measuring, and controlling bio-molecules because DNA interacts with various bio-molecules. Experimental results demonstrated that photonic DNA tweezers were opened and closed with approximately the same efficiency during repeated operations. We also constructed a photonic DNA nanoprocessor as an advanced nanomachine and succeeded in controlling the activation of the function in sensing DNA using light.

Key words: nanomachine, DNA, photonic signal, azobenzene, nanoprocessor

ナノスケールの構造をもち、その動きによって有用な機能を発揮するナノマシンは、原子や分子レベルでの物質の操作を可能にする。実際、生体内では、微小管に沿って動くキネシン分子や回転ナノモーター F₁-ATPase などのナノマシンが活躍している¹⁾。人工的に作製したナノマシンも、そのサイズを生かして生体中に入り込めるため、体内における悪性物質の検出・除去やドラッグデリバリーをはじめ、さまざまな応用展開が期待できる。

ナノマシンの作製法として二光子ナノ光造形法は有効であり、ナノムーバーによる細胞解析等が行われている²⁾。ただし、加工分解能は 100 nm 程度にとどまり、1 nm ないし 10 nm オーダーのサイズのナノマシン作製にはボトムアップ的アプローチが適する。特に DNA の自己組織化は有望である。その理由は、1 nm オーダーの精度で構造体を組み上げられることに加え、DNA がさまざまな生体分子とインタラクションするため、生体分子の検出・計測・制御の機能をナノマシンに容易に付加できることにある。この性質は生体中でのナノマシンの利用にあたり、大きな利点となる。DNA はよく知られるように、A,T,G,C で表される 4 種類のヌクレオチドが連結したポリマーであり、2 本の DNA 鎖は Watson-Crick 相補性に基づき水素結合

し、二重らせん構造を形成する。DNA 配列を適切に設計することで各 DNA 鎖の結合関係を制御することが可能であり、多数の DNA で構成される複雑な二次元・三次元構造を正確に予測し組み立てることができる³⁾。このように組み立てた構造を、他の DNA との反応や酵素反応、pH 等の溶液環境などにより変化させる DNA ナノマシンも実現されている^{4,5)}。

DNA ナノマシンの動作様式は DNA 配列としてあらかじめ書き込み、自律的に動作させることができる。ただし、動作場所や時間を指定したり、同期によりナノマシン間の連携を取ったり、動きを段階的に進めたりするためには、外部制御が必要となる。光は空間的、時間的な制御が容易であり、さまざまな物質と相互作用することから、ナノマシンの外部信号として有用である。本稿では、DNA で構成された光応答型のナノマシン—フォトニック DNA ナノマシン—の概念と実装例を紹介する。また、ナノスケールのプロセッサへの展開について述べる。

1. フォトニック DNA ナノマシンの概念

ナノマシンは単に動くだけでは役に立たず、所望の場所、時間においてあらかじめ指定した動作を実行することが求められる。このような条件付き動作を実行するために

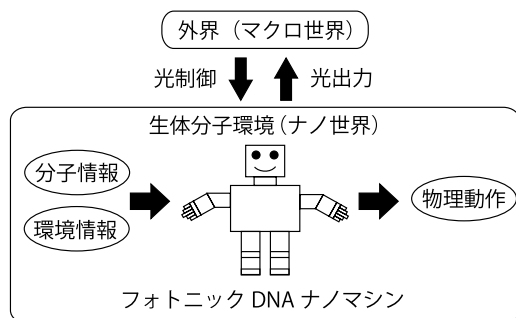


図1 フォトニック DNA ナノマシンの概要.

は、(i) 周辺環境をナノマシン自らがセンシングし条件判断する方式、(ii) 外部信号を与えてその指示によりナノマシンを制御する方式、(iii) 2つを融合した方式、などが考えられる。これまでの DNA ナノマシンは方式 (i) が主流であるが、光の導入により方式 (ii) や (iii) を実現できる。なお、2節では方式 (ii)、3節では方式 (iii) の例を述べる。方式 (iii) に基づくフォトニック DNA ナノマシンの概要を図1に示す。本体は DNA で構成され、ナノサイズで実装される。また、光応答機構を有しており、必要に応じて分子情報も取り込みつつ分子環境内で動作する。DNA の自律反応性を考慮すると、光でナノマシン動作の一部始終をこと細かに制御するのは得策ではない。光はあくまでナノマシンの特定の部位に作用するトリガーとして用いる。光応答が DNA 反応系の一部に限られていても、その対象部位を変えることにより、光信号に対する反応経路を変更できる。すなわち、単純な DNA 反応系であってもその反応経路に多様性を与えることができ、ナノマシンの構成自由度が向上する。

光応答機構の導入で得られる効用は多い。例えば、ナノマシンの動作タイミングを制御することができる。このとき、光は遠隔かつ非侵襲に信号を伝えられるため、系の環境を破壊することはない。また、光はマイクロオーダーの微小領域に集めることが可能であり、空間並列かつ局所的にナノマシンを駆動できる。さらに、エネルギー源として DNA 等の物質を利用すると周辺環境に影響を与える廃棄物質が発生するが、光ではそのようなことはない。これはナノマシンを継続的に一定性能で動作させるために重要な特長である。

2. 光 DNA ピンセット

フォトニック DNA ナノマシンの例として、ピンセット状の構造を光信号に同期して開閉する光 DNA ピンセットを作製した^{6,7)}。光 DNA ピンセットの構成と動作を図2に示す。本体は4本の DNA から構成されており、サイズは10 nm 四方におさまる。光応答性を得るため、アゾベンゼン

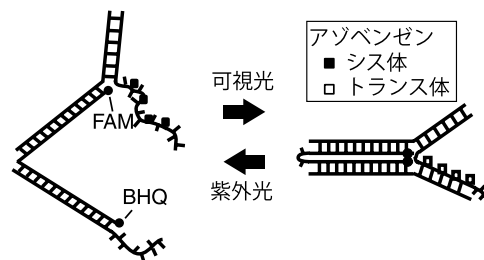


図2 光 DNA ピンセットの動作スキーム.

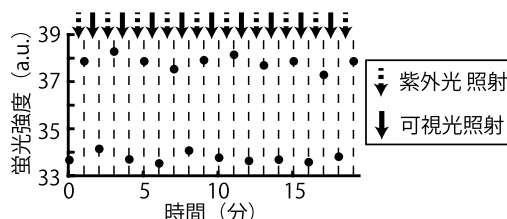


図3 光 DNA ピンセットの繰り返し制御の結果.

ン導入 DNA を用いる。可視光照射によりアゾベンゼンがトランス体になると、アゾベンゼン導入 DNA とその相補鎖 DNA は結合し二本鎖を形成するが、紫外光照射によりシス体になると結合力が弱まり一本鎖に解離する性質がある⁸⁾。ピンセットの先端部分の DNA 1本にアゾベンゼンが導入されており、先端部分の結合特性を光でスイッチすることでピンセットの開閉を行う。ナノマシンとして自己完結しているため、動作によって周辺環境へ与える影響はきわめて小さく、リセットも容易である。

動作確認実験を行った。蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) のペアとして蛍光分子カルボキシフルオレセイン (FAM) とブラックホールクエンチャー (BHQ) を修飾しており、ピンセットが開くと蛍光強度が高く、閉じると低くなる。蛍光強度測定と同時に適切な波長でナノマシンを制御するため、蛍光分光光度計 (JASCO, FP-6200) を用いた。図3に紫外光 (ピーク波長 340 nm, 半値全幅 20 nm, 照射パワー 5 mW/cm²) と可視光 (ピーク波長 440 nm, 半値全幅 20 nm, 照射パワー 7 mW/cm²) を交互に1分間ずつ繰り返し照射したときの蛍光強度変化を示す。照射する光に対応して開閉動作が制御されていることがわかる。10回の繰り返し動作において、ほぼ様な開閉特性が得られた。紫外光照射時には25~28%のピンセットが開き、可視光照射でそのうちのほぼすべてのピンセットが閉じることを確認した。なお、光 DNA ピンセットの濃度を考慮すると、1 μm³ の体積中で1秒あたり数100個のナノマシンが並列駆動する計算になる⁷⁾。

3. フォトニック DNA ナノプロセッサへの展開

ナノマシンの動作を情報処理と関連づけることにより、

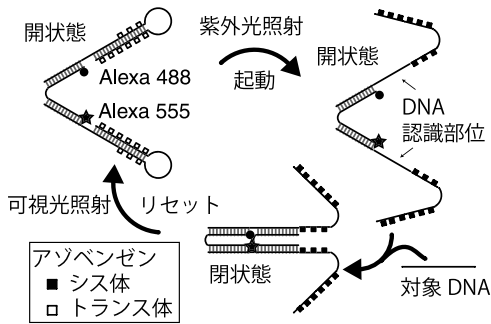


図4 フォトニック DNA ナノプロセッサの動作スキーム。

ナノプロセッサを作製することができる。ここでいうナノプロセッサとは、現在主流の電子プロセッサを単にスケールダウンしたものではなく、分子とのインターフェースを有し、分子をその場でリアルタイムに検出したり制御する機能をもったものである。すなわち、分子情報のセンシング、情報の処理、物理動作を一体化したナノマシンとみなすことができる。

光 DNA ピンセットを拡張することにより、図4に示すナノプロセッサのプロトタイプを作製した⁹⁾。光信号に応じて、DNAのセンシング機構を起動・停止する機能をもつことが特徴である。紫外光の照射下ではピンセット両先端のヘアピン DNA が開き、センシング機構が起動する。起動中にはセンシング部位と相補的な配列をもつ DNA が存在すると結合する (センシング)。これが対象 DNA の場合には、ピンセット両先端のヘアピン DNA に結合し、対象 DNA の存在が認識される (情報処理)。その結果、プロセッサ本体が開状態から閉状態に遷移する (物理動作)。一方、可視光の照射下ではヘアピン DNA が閉じてセンシング機構が停止する。このとき、起動中に取り込んだ対象 DNA はリリースされる。それと同時に、ナノプロセッサは初期状態に復帰し (リセット)、再利用が可能となる。

実験では、FRET ペアとなる蛍光分子を修飾し、蛍光信号としてピンセットの状態を検出した。対象 DNA を $1 \mu\text{M}$ 含む溶液 A と含まない溶液 B について、紫外光と可視光を繰り返し照射した後の蛍光強度を図5に示す。溶液 B では蛍光強度がほとんど変化しないのに対し、溶液 A では紫外光照射後に蛍光強度が減少し、可視光照射後に元に戻っている。これは対象 DNA を正しくセンシングした結果、ピンセットの構造変化が生じたことを示している。また、リセット機能による繰り返しセンシングも実証された。

光信号にしたがったナノスケール機構制御の実装方式としてフォトニック DNA ナノマシンを紹介した。構成要素である DNA 自体がタンパク質等の生体分子と相互作用す

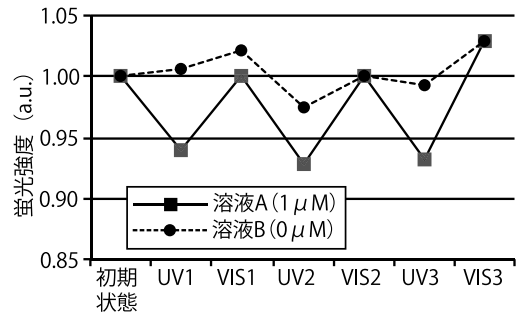


図5 紫外光 (UV)、可視光 (VIS) の照射を3回繰り返したときの DNA のセンシング結果。

ることが特徴であり、フォトニック DNA ナノマシンを介在させることで、光と直接的に相互作用しない生体分子の操作にも応用できる。特に、フォトニック DNA ナノプロセッサは、マクロな情報(光)とナノ情報(DNA)を統合して分子系を制御する有用な方法論を提示するものであり、新しいフォトニック情報システムへの展開が期待される。

本研究は科学研究費補助金基盤研究 (B) (No.22300103) の助成を受けた。共同研究者の山田憲嗣先生 (大阪大学)、山本裕紹先生 (徳島大学)、酒井寛人氏 (大阪大学博士後期課程) に感謝いたします。

文 献

- 1) R. D. Vale, T. Funatsu, D. W. Pierce, L. Romberg, Y. Harada and T. Yanagida: "Direct observation of single kinesin molecules moving along microtubules," *Nature*, **80** (1996) 451-453.
- 2) K. Ikuta, F. Sato, K. Kadoguchi and S. Itoh: "Optical driven master-slave controllable nano-manipulator with real-time force sensing," *21st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems* (2008) pp. 539-542.
- 3) D. Han, S. Pal, J. Nangreave, Z. Deng, Y. Liu and H. Yan: "DNA origami with complex curvatures in three-dimensional space," *Science*, **332** (2011) 342-346.
- 4) B. Yurke, A. J. Turberfield, A. P. Mills Jr, F. C. Simmel and J. L. Neumann: "A DNA-fuelled molecular machine made of DNA," *Nature*, **406** (2000) 605-608.
- 5) K. Lund, A. J. Manzo, N. Dabby, N. Michelotti, A. Johnson-Buck, J. Nangreave, S. Taylor, R. Pei, M. N. Stojanovic, N. G. Walter, E. Winfree and H. Yan: "Molecular robots guided by prescriptive landscapes," *Nature*, **465** (2010) 206-210.
- 6) Y. Ogura, T. Nishimura and Jun Tanida: "Self-contained photonically-controlled DNA tweezers," *Appl. Phys. Exp.*, **2** (2009) 025004.
- 7) T. Nishimura, Y. Ogura and J. Tanida: "Enhancing the performance of photonic DNA nanomachines for implementing photonic nanoscale automaton," *Proc. SPIE*, **7402** (2009) 740203.
- 8) H. Asanuma, X. Liang, H. Nishioka, D. Matsunaga, M. Liu and M. Komiyama: "Synthesis of azobenzene-tethered DNA for reversible photo-regulation of DNA functions: hybridization and transcription," *Nat. Protoc.*, **2** (2007) 203-212.
- 9) T. Nishimura, Y. Ogura, K. Yamada, H. Yamamoto and J. Tanida: "Prototype demonstration of a photonic DNA processor: A photonically-controlled DNA nanomachine of sensing, computing, and actuating," *8th Annual Conference on Foundations of Nanoscience* (2011) pp. 181-182.

(2011年9月12日受理)