

DNA 折り紙に革命を起こす

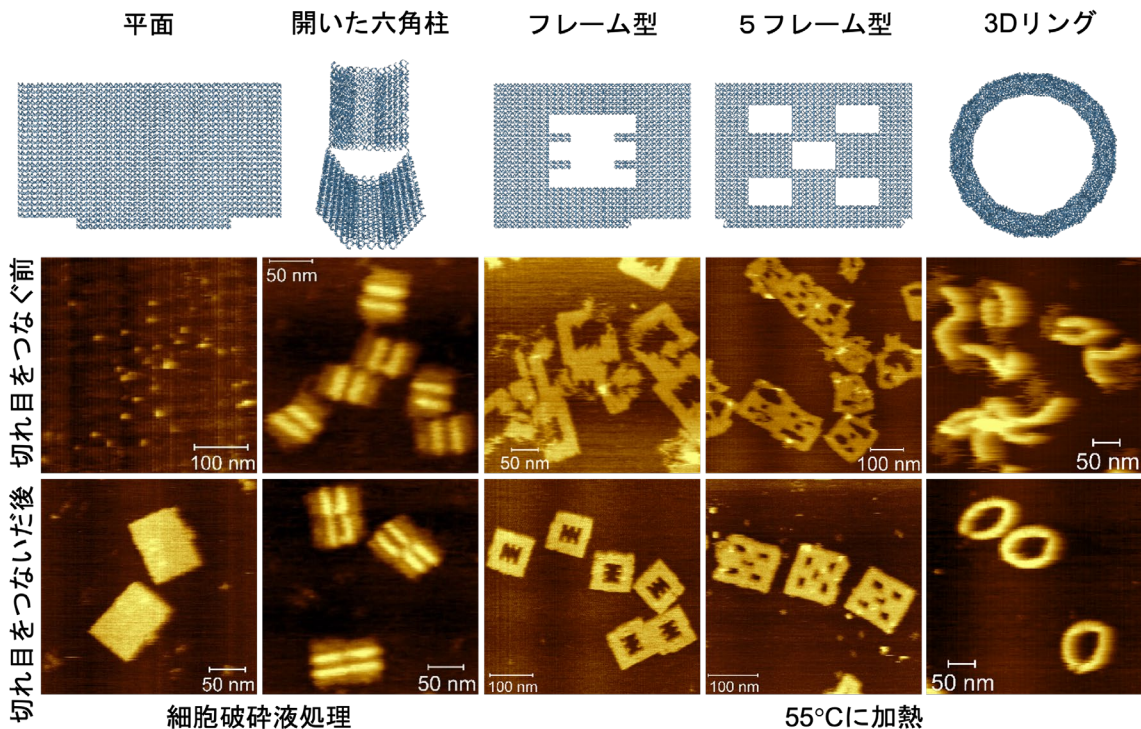
—新たな応用を加速する新しい構造安定化法—

概要

DNA 折り紙は、幅広い応用が期待されているナノバイオマテリアルですが、その安定性の低さがさらなる応用展開の大きな妨げとなっています。これまで化学修飾や別の材料で被覆して安定化した例はありましたが、同時に DNA 折り紙本来の性質を失ってしまいます。DNA 折り紙が設計通りに機能を発揮するには、天然の DNA 結合のまま構造を安定化することが重要です。京都大学エネルギー理工学研究所の Kirankumar Krishnamurthy 研究員、Arivazhagan Rajendran 講師、中田 栄司 准教授、森井 孝 教授らの研究グループは、この課題を解決し、DNA 折り紙をより頑強にできる技術を開発しました。

DNA 折り紙中にある数百の切れ目が、DNA 折り紙の安定性の低さの原因であると考えて、ジメチルスルホキシドを含む溶媒中での酵素反応あるいは臭化シアンを用いた化学反応で、ほとんどの切れ目を天然の DNA 結合でつなぎました。そうすることで、高温や細胞破碎液などの様々な条件下で DNA 折り紙の安定性が著しく向上しました。この技術のおかげで、DNA 折り紙の活躍の場を幅広く展開することができ、革新的なナノバイオマテリアルの開発も可能と期待されます。

本成果は、2023 年 9 月 21 日に国際学術誌「*Small Methods*」にオンライン掲載されました。



1. 背景

DNA 折り紙は、薬物やワクチンの送達、ウイルスの抑制など、幅広い応用が期待されるナノバイオマテリアルです。しかし、その安定性の低さによって、実際の応用は大きく妨げられています。これまでに、化学修飾や被覆材による安定化が報告されていますが、これらの方法は、薬物を送達する担持体として DNA 折り紙を用いる場合に被覆材も一緒に送達されてしまう可能性があり、適していません。さらに、DNA 折り紙が設計通りの機能を発揮するためには、天然の DNA のままで構造を安定化することが重要です。我々の研究では、侵襲的な分子を使用することなく、DNA 折り紙を科学的かつ実用的に汎用性のある、より頑強なナノバイオマテリアルにすることを目指しました。

2. 研究手法・成果

ジメチルスルホキシド (DMSO) を含んだ溶媒中での酵素反応、もしくは臭化シアン (CNBr) を用いた化学反応によって、DNA 折り紙にある数百の隙間や切れ目を効率的につなぐ(ライゲーシオン)ことができました。どちらの方法も 2 次元形状の折り紙の安定化に有効でしたが、特に 3 次元形状の折り紙には CNBr 反応でつなぐ方法が有効で、高温、細胞破碎液など本来 DNA 折り紙が苦手とするような様々な条件下でも DNA 折り紙の安定性が著しく向上しました。

3. 波及効果、今後の予定

我々の発見は、さまざまな分野で新たに DNA 折り紙を利用する可能性を切り開くものです。安定性を高めた DNA 折り紙構造を設計し、工学的に利用する新しいナノテクノロジーを開拓できる可能性があります。これによって、より信頼性の高い薬物送達システム、ウイルス抑制戦略の改善、さらには様々な用途の革新的なナノバイオマテリアルの開発が可能になります。我々の研究は、化学、生物学、ナノテクノロジーを融合した学際的研究が有効であることを実証しただけでなく、ナノバイオマテリアルによってヘルスケアや材料科学などさまざまな領域で革新的な技術を進歩させて、社会に影響を与える可能性を秘めています。

4. 研究プロジェクトについて

●予算の出資者、関連研究機関、研究課題名・課題番号などを記入してください。

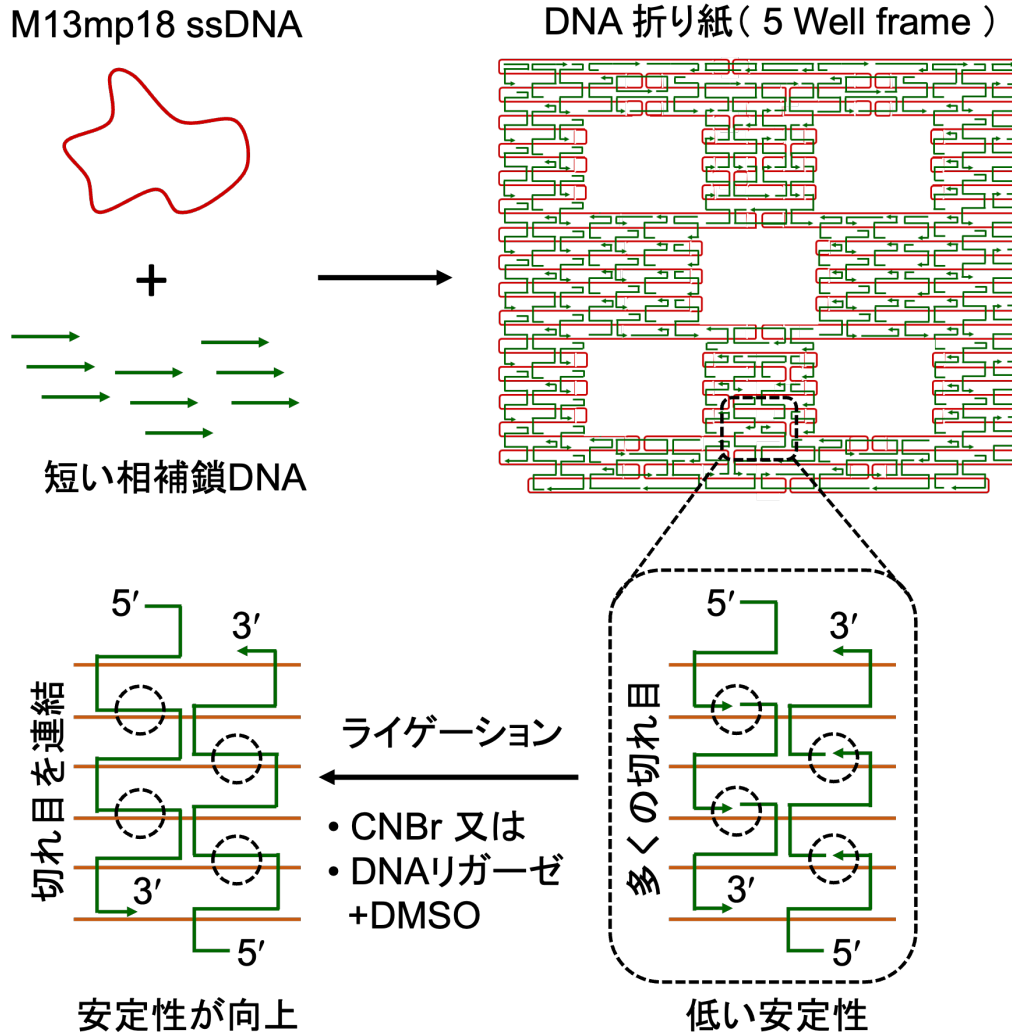
JST CREST to T.M. (JPMJCR18H5)

科研費 16K17934 and 21K05274 (A.R.), 20H02860 and 22H05418 (E.N.), and 17H01213 and 23H02083 (T.M.)

<用語解説>

●DNA 折り紙：DNA の自己集合によって作成されるナノスケールの 2 次元や 3 次元のナノ構造体。2006 年にカルフォルニア工科大学の Rothemund によって開発された(P.W.K. Rothemund, *Nature* **2006**, 440, 297)。鋳型となる環状の 1 本鎖 DNA に短い相補鎖 DNA を加えて加熱し、ゆっくり冷却することで、あらかじめ設計した DNA ナノ構造体を簡便かつ定量的に調製することができる (図上)。

●ライゲーシオン：酵素反応(DNA リガーゼ)や化学反応(CNBr)を駆使して DNA 鎖同士をつなぐ反応。様々な手法がこれまでに考案されているが、本研究では天然の DNA 結合(リン酸ジエステル結合)でつなぐ手法を採用 (図下)。



<研究者のコメント>

予想外だったのは、DMSO の存在下で酵素による連結効率が著しく上昇したことです。DMSO は核酸や酵素に様々な影響を及ぼすことが知られていますが、リガーゼ酵素にどのように作用するかは明らかになっていませんでした。今回の結果は、DMSO が酵素を安定化させるだけでなく、反応点で DNA の配向を反応に有利にさせるような DNA の構造変化も引き起こす可能性を示唆しています。この当初予期しなかった DMSO の作用は、DNA 折り紙の設計方法に新たな道を開く可能性を秘めています。もう一つの驚くべき発見としては、2次元(2D)と3次元(3D)構造の DNA 折り紙では最適なライゲーション反応が異なっていたことです。DMSO を用いた酵素反応は、2D 折り紙には効率的に作用しましたが、3D 折り紙には効果がありませんでした。この予期せぬ発見は、2D と 3D 構造で DNA 折り紙の特性が違うこと、そして 3D 折り紙構造を扱うことの難しさを浮き彫りにしたのもあります。この発見は、今後の DNA 折り紙を使ったナノバイオマテリアルを設計するうえでの重要な指針となります。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Near quantitative ligation results in resistance of DNA origami against nuclease and cell lysate
(DNA 鎖のほぼ定量的な連結によって DNA 折り紙にヌクレアーゼや細胞破碎液への耐性を獲得させる)

著 者：Kirankumar Krishnamurthy, Arivazhagan Rajendran, Eiji Nakata, Takashi Morii

掲 載 誌： *Small Methods* DOI： <https://doi.org/10.1002/smtd.202300999>