2P125

DNAナノ構造体のプログラム可能な階層的アセンブリ

○田川 美穂^{1,3}、木賀 大介¹、吉信 達夫^{2,3}、岩崎 裕^{2,3}、陶山 明^{1,3} (¹東大・院総文・生命環境、²阪大・産研・量子分子デバイス、³JST-CREST)

ナノスケールのアセンブリを行うための材料として、DNAの利用が期待されている。適切に塩基配列設計されたDNAは、その配列にエンコードされた情報に従って複雑な構造に自己組織化する。本研究では、Step-by-Stepかつ階層的なアセンブリ方法を用いて、DNAナノ構造体のプログラム可能なアセンブリを行った。このDNAナノ構造体は、他の材料（機能性分子、ナノ粒子）をナノスケールで位置特異的に配置するための足場として用いることができる。構造体を形成するDNAの配列は、23merの正規直交配列を連結して設計した。正規直交配列は、分子内二次構造を形成したり、ミスハイブリダイゼーションを起こしたりしないよう特別に設計された配列である。第1階層のA₁B₁C₁D₁ユニットの形成に始まり、ハイブリダイゼーションとライゲーション反応を繰り返して構造体は階層的に組み上げられる。例えば、第3階層のA₃ユニットは、第2階層のA₂及びB₂ユニットから形成される。各階層における生成物をゲル電気泳動により測定し、階層が上がるにつれ構造体の分子量が大きくなることを確認した。また、第4階層形成後の構造体を原子間力顕微鏡（AFM）により画像化した（図）。

図 4 階層形成後の構造体のAFM像(左)と、模式図(右)

M. Tagawa-Nagano, D. Kiga, T. Yoshinobu, H. Iwasaki, and A. Suyama : Programmable Step-by-Step Assembly of DNA Nanostructures

2P127

ミニサテライト反復DNA配列の高次構造形成と繰り返し数の変動

○加藤 幹男¹、白 武史¹、養島 伸生²、永山 国昭³、清水 信義⁴ (¹大阪府大院・理・生物科学、²浜松医大・光量子医学研究センター、³自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター、⁴慶應大・医・分子生物学)

ミニサテライトDNAは、一般に、ゲノムに散在している10bpから100bp程度の単位が数回から数十回縦列に繰り返している配列である。これらのミニサテライト領域においては、その縦列回数はきわめて多型性に富んでおり、その原因として不等交叉や複製時の伸長/欠失が想定されている。本研究では、海水魚 *Acanthopagrus latus* 由来の30bpを単位とするミニサテライトDNAを材料として、多型をもたらす要因を明らかにするために、電気泳動移動度、化学修飾、および高分解能電子顕微鏡などによる解析を試みた。その結果、一本鎖状態のミニサテライトDNAは、反復単位においてヘアピン様構造（ステム-ループ構造）を形成していた。さらに、マグネシウムイオンの存在下では、塩基対形成を変化させることなく強く凝縮した構造を形成することがわかった。このような一本鎖状DNAの高次構造形成が、DNA複製の鋳型鎖で起こると相補鎖の合成を一時停止することでミスアライメントを誘発したり、新生相補鎖においてはOkazaki fragment 5'側での高次構造形成を誘発したりすることで、繰り返し数の変動をもたらすものと考えられる。

ssDNA dsDNA
—本鎖および二本鎖DNA分子の電子顕微鏡画像

M. Kato, T. Haku, S. Minoshima, K. Nagayama, N. Shimizu : Hairpin-like DNA structure formation and minisatellite DNA instability

2P126

基板上に固定したヘアピンDNAを用いた大容量分子メモリ

○遠藤 峻彦¹、瀧ノ上 正浩^{1,3}、陶山 明^{2,3} (¹東大・院理・物理、²東大・院総文・生命環境、³JST-CREST)

我々はこれまでにDNAハイブリダイゼーションの特異性を利用して配列毎に選択的に書き込みの出来るDNA分子メモリの開発を行ってきた。このDNA分子メモリではヘアピンDNAとその部分的相補鎖である直鎖状DNAの2種類を利用している。室温で分子内二次構造を形成しヘアピン型となるDNAに直鎖状DNAをハイブリダイズさせたり解離させたりすることで情報を記録する。これら2分子間の反応は温度により制御する。

本研究ではヘアピンDNAを金基板表面に固定し、レーザー光によって局所的な温度制御を行った。ヘアピンDNAに蛍光分子を修飾し、その蛍光を観察してDNA分子メモリの状態を確認した。配列の異なる複数のDNAを使用することで配列アドレスが指定可能であるのに加え、レーザー光を使用することでマイクロメートルスケールでの位置アドレスが指定可能となった。基板表面には1 μm^2 あたり約10000種類のヘアピンDNAが固定可能であると考えられるので、理論上1 μm^2 あたり約10000アドレスの高密度な物理アドレス空間を構築出来る。

今回異なる配列をもつ2種類のDNAを用いて、レーザーによって並列的・選択的に連続して50回の書き込み・消去に成功した実験結果を報告する。

T.Endoh, M.Takinoue, A.Suyama : Large-capacity molecular memory using hairpin DNA immobilized on a substrate

2P128

Locally enhanced sampling法による核酸ミニヘアピン分子の構造解析

○山崎 智¹、中村 周吾¹、寺田 透²、清水 謙多郎¹ (¹東大・院農・応生工、²東大・院農・生命情報ユニット)

核酸ヘアピン構造は、二本鎖のステムと、一本鎖のループから成る構造である。この構造は、天然のDNA分子中では、タンパク質との相互作用部位などに特によく存在し、機能において重要なはたらきを持つ事が知られている。更に、ループ部分の配列によっては高度に熱安定となるなど、DNAの構造、機能に関して非常に興味深い構造である。核酸ミニヘアピン分子は、このヘアピン構造が単独で分子として存在するものであり、やはりループ部分の配列によって、ヘアピン構造と同様に高い熱安定性を示す事が知られている。7ヌクレオチド長のミニヘアピン分子、dGC(NNN)GCの網羅的解析から、ループ部分の配列がGNAのものはどれも高い熱安定性を持ち、その中でもGAAは特に高い熱安定性を持つ事が既に知られている。しかしながら、その構造、熱安定性の機構などについてはまだ未解決な所が多い。本研究では、分子動力学法のサンプリング効率を向上させる手法の一つであり、ループ構造の予測に非常に有効とされているLocally enhanced sampling (LES)法を用いて、まずdGC(GNA)GCの安定構造を模索した。このうち、GAAに関しては、天然構造に近い構造が得られ、GGA、GCAに関しても、それと類似した構造がいくつか得られた。これらの結果に加えて、ループの配列がGNA以外のものについても、これらと同様のプロトコルを用いてLES法を用いたシミュレーションを行い、GNAと同様に安定構造へと落ち着くのかどうかを調べる。また、それぞれのトラジェクトリから、構造的特性、天然構造周辺の自由エネルギー地形などを比較することで、ループ部分の配列の違いが、どのような機構で熱安定性の違いに関与しているかを明らかにする。

S.Yamasaki, S.Nakamura, T.Terada and K.Shimizu : Structure analysis of DNA mini hairpin using locally enhanced sampling method