

事後評価報告書

研究課題名：DNA ナノストラクチャ

研究代表者名：

2-1. 日本側研究代表者：

難波 啓一（大阪大学 大学院生命機能研究科 教授）

2-2. 英国側研究代表者：

Andrew Tuberfield（オックスフォード大学 物理学部 教授）

総合評価： （優）

3. 研究交流実施内容及び成果：

本研究交流は、日英両研究グループの得意分野を活かして、生体分子の自己集合能を活用したナノ構造の設計・構築と、観察・構造解析を行うことを目的とする。

英国側の Tuberfield 教授率いるオックスフォード大学のグループは、2005 年に DNA ハイブリダイゼーション法を用いて 1 辺の長さ 7 nm (20 base pair) の DNA 正四面体を高効率で大量作成することに成功し、日本側研究チームは、英国から送られたこの DNA 正四面体試料を急速凍結氷包埋し、極低温電子顕微鏡により多数の画像を収集した。英国側の試料作成技術の進歩により、試料の濃度と純度がかなり上がったため、画像収集効率が高くなった。

2006 年 3 月には、日本側研究チームの 2 人が英国側研究チームを訪問し、約 10 日間滞在して DNA 正四面体の大量作成法や特定部位を金ナノ粒子等で修飾する方法を習得するとともに、新たな DNA ナノ構造試料を持ち帰った。

その後、日本側研究チームは単粒子像解析法の工夫に集中した。解析対象試料として作成された DNA 正四面体構造は分子量がわずか 78 kDa、1 辺が 7 nm の四面体の枠だけという非常に密度の低い小さな構造で、それまでに電子顕微鏡単粒子像解析法で解析された最小構造の半分以下であったが、異なるデフォーカス像を 2 枚融合して像のコントラストを増強する方法を活用することで、像の確認、個々の単粒子像の切り出し、粒子像の位置と方向の整列と積算など、単粒子像解析の作業を実際に進めることができた。その結果、まず 2 nm 分解能で DNA 正四面体構造の 3 次元像再構成に成功し、さらに画像解析法の工夫を進めて分子周囲の溶媒領域平滑化法などを取り入れて単粒子像整列化の精度を高め、最終的には 1.2 nm 分解能の密度マップを得ることができた。その密度マップを、設計された DNA 四面体ナノ構造モデルと重ね合わせて比較することにより、このナノ構造粒子がほぼ完璧に設計通りの構造を形成していることを証明することができた。

この研究成果は、2006 年 11 月に沖縄で開催された国際会議 EABS & BSJ 2006（東アジア生物物理シンポジウムと日本生物物理学会年会の合同会議）でその途中経過を発表。2006 年 12 月には、英国側 Tuberfield 教授が大阪大学の日本側研究チームを来訪してセミナーと議論の機会を持ち、その直後に東京で開催された UK-Japan ワークショップに Tuberfield

教授と日本側研究チームの加藤貴之が参加し、それぞれの研究成果を発表した。2007年6月に米国で開催された Gordon Research Conference on Three Dimensional Electro Microscopy でも、加藤貴之が招待講演者として発表した。

日本側研究チームはその後も電子密度マップの高分解能化に力を注ぎ、現在その結果をまとめて論文準備中である。

研究成果の今後期待される効果であるが、本研究成果は、DNA ハイブリダイゼーション法を用いて量産可能なボトムアップ設計のナノ構造が、2種類の構造異性体の区別も含めて設計どおりに量産できることを証明した。その持つ意味の一つの特徴は、電子顕微鏡による立体構造解析における技術的な限界の一つであった、分子量 100 kDa 以下の小さな分子集合体の画像解析による構造解析が、極低温電子顕微鏡によって得られる凍結試料画像の像質の高さと画像解析法の工夫によって、10 Å に近い高分解能を達成可能であり、DNA の2重らせん構造の向きまで解像できることを証明した点にある。もう一つの特徴は、DNA ハイブリダイゼーション法を用いることにより、正四面体構造のみならず、より複雑で動的にスイッチする構造でさえも設計し量産できることから、今後はこの共同研究の成果として開発された構造解析法によってナノ構造体の立体構造の確認作業を行いつつ、様々な機能を持つナノ構造体を数多く新たに創製することにより、将来の高機能ナノデバイスやナノシステムの構築部品として、産業応用可能なナノテクノロジーに役立てることができると期待される。

4. 事後評価結果

4-1. 総合評価

DNA ハイブリダイゼーション法によるナノストラクチャを設計し自己組織化による量産技術の開発を進めているオックスフォード大学グループと調製されたナノストラクチャの構造解析技術の開発を担当する大阪大学グループとの共同研究課題である。極低温電子顕微鏡による構造解析技術の大幅な改善により分子量 78 kDa 一辺が 7 nm と設計されていた DNA 四面体ナノストラクチャが設計通りの構造を形成していることが証明された。一方オックスフォード大学グループにより正四面体構造のみならず動的にスイッチする構造でさえ設計し量産できることが証明された。しかし、設計通りの構造であることを実験的に確認することは不可欠である。したがって、本研究の成果は DNA ハイブリダイゼーション法と極低温電子顕微鏡解析とにより産業応用も可能な高性能ナノデバイス設計構築の可能性を強く示唆している。しかし、高分解能の構造データが期待できる X 線結晶解析の当初計画についての成果は報告されていない。

4-2. 研究交流の有効性

DNA ハイブリダイゼーション法によるナノストラクチャの設計構築技術も今回大幅に改善された極低温電子顕微鏡による単粒子解析技術も共に世界的にオンリーワンの技術であり、正に画期的な科学技術の進展であり、また新しい知の創造でもある。また、この大幅に改善された極低温電子顕微鏡技術は生体超分子構造解析の極めて有力な武器としても利

用出来る。論文発表はまだされていないが **Gordon Research Conference on Three Dimensional Electron Microscopy** でこれらの成果が招待講演として発表され、ベストプレゼンテーションとして絶賛された。なお、研究終了報告書等の研究成果として、本事業との関連が不明確な論文・学会発表等が多数掲載されており、この点を明確にされることが望ましい。

若手研究者が相互に相手側の研究室に滞在して、相手側研究室の知識・技術を吸収する努力が行われている。共同での研究発表もあることから、実質的な研究交流が行われていると想像される。2つの研究グループの研究内容も考え方も大きく異なっているので、このような相互訪問は研究者としての成長に大きく貢献することが期待出来る。電子顕微鏡解析技術の大幅な改善に成功した現在、このプロジェクト推進の準備がほぼ完了したといえる。したがって、今後の研究交流は加速度的に増加すると考えられる。

4-3. 当初目標の達成度

若手研究者の相互訪問を含む実質的な共同研究が組織されたと考えられ、十分な成果が上がっていると考えられる。申請書段階では、研究期間の中で DNA ナノストラクチャーにさらに機能を付加することを計画していたが、そこまでの進展はなかったようである。しかし、基礎的な成果が確実に得られているようなので、今後の発展に期待できる。

両研究グループの分担業務は大きく異なっているが双方がそれぞれ他方の研究に興味を持ち適切な回数の相互派遣が行われた。また、独自のワークショップは開催されなかったが日英セミナーでこの研究課題の成果が報告され、熱心な討論が行われた。