

## 研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		設計された DNA ナノ空間中での反応制御と 1 分子の動的な観察			
研究テーマ (欧文) AZ		Reaction control and single molecular observation in a designed DNA nanospace			
研究氏 代 表 名 者	カナ文字 CC	姓)エンドウ	名)マサユキ	研究期間 B	2010～ 2011年
	漢字 CB	遠藤	政幸	報告年度 YR	2010年
	ローマ字 CZ	ENDO	MASAYUKI	研究機関名	京都大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		京都大学物質－細胞統合システム拠点・准教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>1 分子レベルでの分子の精密な配列化と機能化及びイメージングはナノテクノロジーの中心課題であり、技術的な重要性は近年増大している。本研究では、DNAオリガミ法を用いて、塩基配列のプログラムに従って2次元に配列化できるDNA集合体の構築を行い、設計したナノ空間内でのDNAの構造変化の制御や操作、並びに高速原子間力顕微鏡を用いた 1 分子の動的な挙動を直接観察する系の構築を目指した。</p> <p>2 次元に拡張可能な DNA 構造体を使ってプログラム可能な集合系の設計と構築を検討した。DNA構造体は塩基配列の相補性、形状の相補性、<math>\pi</math> 相互作用を組み合わせ、4 方向に 2 重らせん軸を向けた DNA 構造体を構築した。これを用いて、自己集合によって十字型と中空な四角形(口の字型)構造を構築することに成功した。この方法により、機能化した DNA 構造体をプログラムに従って 2 次元上で自由に配置することが可能となった。</p> <p>DNA の動的な構造変化を 1 分子レベルで実時間観察する系の構築を目指し、グアニン4重鎖構造の形成で誘導されるナノスケールの構造変化を検出する系を構築した。グアニン 4 重鎖は生体中で遺伝子の制御に重要な役割をしている。分割した[3+1]グアニン 4 重鎖の配列を 2 本の 2 本鎖 DNA それぞれの中心に導入し、DNA フレーム構造内に固定した。DNA が並んだ DNA ナノ構造体にカリウムイオンを添加すると 2 本鎖 DNA が中心で結合した X 型のナノ構造が観察された。次に、グアニン4重鎖構造の形成を高速 AFM によって実時間で観察した。カリウムイオンを含む観察用の溶液中で AFM を走査すると、走査中に X 型構造を形成するものが観察された。以上のように、DNA ナノ構造体を用いて、2 本鎖 DNA の構造変化からグアニン 4 重鎖の形成を動的に 1 分子で観察する系の構築に成功した。</p>					
キーワード FA	DNAナノ構造	DNA構造解析	1分子イメージング	高速原子間力顕微鏡	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）										
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Visualization of Dynamic Conformational Switching of the G-Quadruplex in a DNA Nanostructure								
	著者名 <sup>GA</sup>	Y. Sannohe, M. Endo, Y. Katsuda, K. Hidaka, H. Sugiyama	雑誌名 <sup>GC</sup>	J. Am. Chem. Soc.						
	ページ <sup>GF</sup>	16311~16313	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	0	巻号 <sup>GD</sup>	132 (46)	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Two-dimensional DNA origami assemblies using a four-way connector.								
	著者名 <sup>GA</sup>	M. Endo, T. Sugita, A. Rajendran, Y. Katsuda, T. Emura, K. Hidaka, H. Sugiyama	雑誌名 <sup>GC</sup>	Chem Commun						
	ページ <sup>GF</sup>	3213~3215	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	1	巻号 <sup>GD</sup>	47 (11)	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Direct AFM observation of an opening event of a DNA cuboid constructed via a prism structure.								
	著者名 <sup>GA</sup>	M. Endo, K. Hidaka, H. Sugiyama	雑誌名 <sup>GC</sup>	Org Biomol Chem.						
	ページ <sup>GF</sup>	2075~2077	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	1	巻号 <sup>GD</sup>	9 (7)	
図書	著者名 <sup>HA</sup>									
	書名 <sup>HC</sup>									
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>		
図書	著者名 <sup>HA</sup>									
	書名 <sup>HC</sup>									
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>		

#### 欧文概要<sup>EZ</sup>

Precise arrangement and functionalization of target molecules at the single-molecule level and their imaging have been increasing importance in the nanotechnology in recent years. In this study, we constructed DNA nanostructures by using a DNA origami method to assemble them into two-dimension according to the sequence program. In addition, we designed an observation system for visualization of the dynamic behavior of the single molecules using high-speed atomic force microscopy.

We examined the design and construction of a system that can be programmed with a set of DNA structures, which can be extended to two dimensions. By combination of complementarity of the DNA sequence, complementary of the shapes, and  $\pi$ -interactions, we designed a DNA nanostructure, whose double helix axes of four edges oriented outside. Using this nanostructure, we built a cross-shaped structure and a hollow square structure by self-assembly. This method can realize the various arrangements of the functionalized components into two-dimensional structures in accordance with a DNA sequence program.

We next constructed a single molecule observation system for the dynamic DNA structural changes induced by the formation of guanine quadruplex in the nanoscale structure. G-quadruplex has a critical role in the genetic control in vivo. Two double-stranded DNAs (dsDNA) having [3+1] divided G-quadruplex sequences in the center were introduced into the DNA frame structure. The X-shaped structure of dsDNAs bound in the center was observed by the addition of potassium ions to the DNA nanostructure. Then, the formation of G-quadruplex was observed in real time by high-speed AFM. When the sample was observed in a solution containing potassium ions, the two separated dsDNAs contacted in the middle to form the X-shape structure during AFM scanning. We have succeeded in building an observation system using a designed DNA nanostructure, in which G-quadruplex formation was directly observed by detecting the dynamic structural change of two dsDNAs.