

国立大学法人長岡技術科学大学
国立大学法人東北大学

DNA ナノポアの高効率膜挿入手法の開発

本研究成果のポイント

- DNA ナノポアの人工細胞膜挿入を効率化する DNA ナノポアプローブ技術を提案
- DNA ナノポアの人工細胞膜挿入をイオン電流計測により確認
- DNA ナノポアの膜挿入効率を従来手法の3倍以上に向上

1. 研究の概要

国立大学法人長岡技術科学大学 技学研究院 機械系の庄司 観准教授、五十嵐 正悟(機械創造工学専攻令和3年度修了、長岡高専出身)、大学院工学研究科 先端工学専攻材料工学分野の赤井 大夢(博士後期課程1年、函館高専出身)、小岩 滉宜(博士後期課程1年、一関高専出身)、大学院工学研究科 工学専攻機械工学分野の井澤 幸広(修士課程1年、群馬高専出身)らは、国立大学法人東北大学 流体科学研究所の馬淵 拓哉助教、大学院工学研究科 高橋 潤(修士課程2年)らの共同で、DNA ナノポアを(注 1)を効率的に人工細胞膜(注 2)に挿入し、DNA ナノポアを通過するイオン電流を計測する手法を開発しました。

本手法では、DNA ナノポアが修飾された金ニードル電極(DNA ナノポアプローブ)を用意し、本 DNA ナノポアプローブ上に人工細胞膜を形成します。その結果、DNA ナノポアを物理的に人工細胞膜に挿入することが可能となり、従来研究に比べ DNA ナノポアの膜挿入効率を大幅に向上させることに成功しました。本手法の開発により、ナノポアセンサや分子ロボット・分子機械への DNA ナノポアの応用展開が促進されることが期待されます。

2. 研究の背景

構造 DNA ナノテクノロジーによって構築される DNA ナノポアは、ポア形成膜タンパク質やペプチドの代替となり得る合成ナノポアとして、ナノポアセンサや分子ロボット、分子機械、人工細胞への応用が期待されています。しかしながら、「人工細胞膜への挿入効率が低いこと」、「DNA ナノポアの自発的な膜挿入に必要な不可欠な疎水分子修飾が DNA 構造体の凝集を引き起こし、構造体構築の歩留まりを低下させていたこと」が課題となっており、その応用展開は非常に制限されたものでした。

3. 研究の成果

本研究では、金ニードル電極の先端への人工細胞膜形成技術(参考文献①、②)を応用し、DNA ナノポ

アを修飾した金ニードル電極の先端に人工細胞膜を形成することで、金ニードルに修飾された DNA ナノポアを物理的に人工細胞膜に挿入することに成功しました(図1)。さらに、イオン電流計測により DNA ナノポアの膜挿入をリアルタイムで計測することに成功しました。また、従来研究では DNA ナノポアの膜挿入には1時間以上の時間がかかることが報告されていましたが、本システムにおいては、人工細胞膜形成後5分以内に DNA ナノポアが膜に挿入されることが分かりました(図2)。さらに、本システムでは従来の DNA ナノポアの人工細胞膜挿入には必要不可欠であった疎水性分子の修飾を必要とせず、疎水性分子修飾の弊害であった構造体構築の歩留まり低下も改善することができました。

4. 今後の展開

本研究によって、疎水性分子が未修飾の DNA ナノポアを効率的に人工細胞膜に挿入することが可能となりました。DNA ナノポア構造体は、ナノポアセンサや分子ロボット、分子機械、人工細胞への応用が期待されていましたが、膜挿入効率が低くその応用展開は非常に限定的でした。本手法により膜挿入の効率化が達成されたことで、DNA ナノポアの応用展開が加速することが期待されます。今後は、DNA ナノポアの分子透過性評価だけではなく、ポア内を通過する分子を検出するナノポアセンサや人工細胞に DNA ナノポアを挿入する技術として発展させることを目指します。さらに、我々の研究グループで開発している走査型プローブ顕微鏡技術(参考文献③)と組み合わせることで、DNA ナノポアプローブを用いた細胞観察技術の構築を目指します。

5. 研究成果の公表

本研究成果は、米国化学会が発行する ACS Nano (電子版 5 月 24 日付)に掲載されました。

URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsnano.3c01565>

論文名: DNA Nanopore-Tethered Gold Needle Electrodes for Channel Current Recording

著者: Shogo Ikarashi, Hiromu Akai, Hiroki Koiwa, Jun Takahashi, Takuya Mabuchi, and Kan Shoji

6. 研究助成

本研究は、(国研)科学技術振興機構(JST)の創発的研究支援事業(課題番号:JPMJFR2028/代表:庄司観、JPMJFR212H /代表:馬淵拓哉)(<https://www.jst.go.jp/souhatsu/>)、科学研究費助成事業若手研究(課題番号:19K15418)、科学研究費助成事業 学術変革領域研究(A)「分子サイバネティクス—化学の力によるミニマル人工脳の構築」公募研究(課題番号:21H05874、23H04396)、科学研究費助成事業 基盤研究B(課題番号:23H01822)、JST ムーンショット型研究支援事業(課題番号:JPMJMS2217)、学際融合グローバル研究者育成東北イニシアティブの支援により実施されました。

7. 用語解説

注1) DNA ナノポア

DNA によって構築されたナノメートルスケール(1ナノメートルは1ミリメートルの百万分の1で、1マイクロメートルの千分の1)の細孔。人工細胞膜に挿入されることで、溶液中のイオンが細孔内を通過する。

注2) 人工細胞膜

両親媒性を有するリン脂質分子の自己組織化により形成される膜。

8. 参考文献

- ① D. Okuno, M. Hirano, H. Yokota, Y. Onishi, J. Ichinose, and T. Ide, "A Simple Method for Ion Channel Recordings Using Fine Gold Electrode," *Analytical Sciences*, vol. 32, no. 12, pp. 1353–1357, 2016.
- ② K. Shoji, R. Kawano, and R. J. White, "Spatially Resolved Chemical Detection with a Nanoneedle-Probe-Supported Biological Nanopore," *ACS Nano*, vol. 13, no. 2, pp. 2606–2614, 2019.
- ③ R. Yoshihara, S. Nomi, and K. Shoji, "Nanopore Probes Using Hydrogel-Filled Nanopipettes as Sensors for Chemical Imaging," *ACS Appl. Nano Mater.*, vol. 5, no. 10, pp. 15808–15816, 2022.

図1

開発した DNA ナノポアの人工細胞膜挿入技術の概略図。DNA ナノポアを修飾した金ニードル電極上に人工細胞膜を形成することで、DNA ナノポアが物理的に人工細胞膜に挿入される。

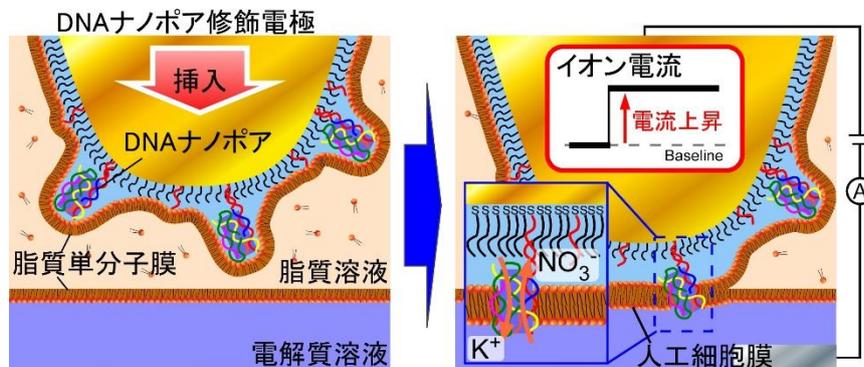
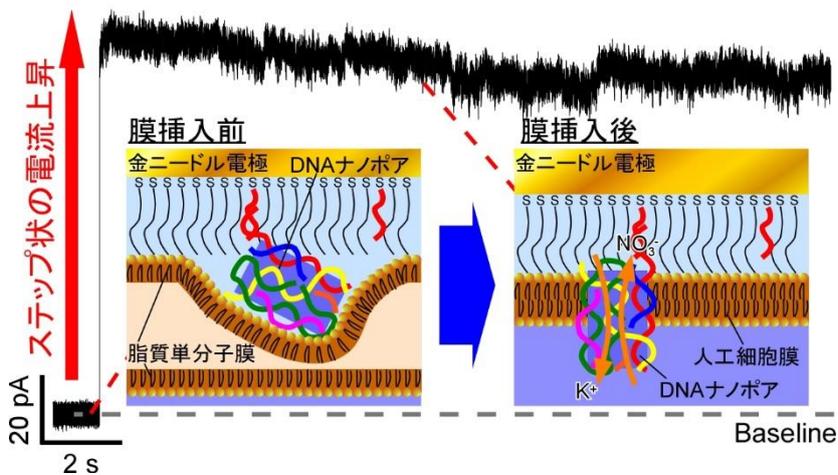


図2

DNA ナノポアプローブによって得られた電流波形。金ニードル電極に固定化された DNA ナノポアが人工細胞膜に挿入されることで、DNA ナノポアを通過するイオン電流が計測される。



【本件問合せ先】

国立大学法人長岡技術科学大学
技学研究院 機械系 准教授 庄司 観

E-mail: kshoji@mech.nagaokaut.ac.jp TEL: 0258-47-9767

国立大学法人東北大学

流体科学研究所 助教 馬淵 拓哉

E-mail: mabuchi@tohoku.ac.jp TEL: 022-217-5225

【取材申し込み先】

国立大学法人長岡技術科学大学

大学戦略課企画・広報室

E-mail: skoho@jcom.nagaokaut.ac.jp TEL: 0258-47-9209

国立大学法人東北大学

流体科学研究所 広報戦略室

E-mail: ifs-koho@grp.tohoku.ac.jp TEL: 022-217-5873
