

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03706

研究課題名(和文) ソフトマテリアル表面を探索する自律走査型マルチアクティブプローブ法の開発

研究課題名(英文) Sensing Surface Mechanical Deformation Using Active Probes Driven by Motor Proteins

研究代表者

角五 彰 (Kakugo, Akira)

北海道大学・理学研究院・准教授

研究者番号：10374224

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：軟らかい材料の表面力学特性の直接評価は非常に難しく、これまで間接的な評価法に依存してきた。本研究では自走する多数の微小管を"マルチアクティブプローブ"として用いることでソフトマテリアル表面の力学特性変化を直接評価する方法を提案した。ソフトマテリアルの表面の変形に伴うマルチアクティブプローブの運動速度や運動の方向変化から変形の程度やモードを評価することができることを明らかにしている。ソフトマテリアル表面の力学特性変化をハイスループットにかつ高い頑健性をもって直接評価することができれば、近年その重要性を増しているソフトマテリアルの表面特性・応力応答特性の解明に貢献しうると期待される。

研究成果の概要(英文)：Studying mechanical deformation at the surface of soft materials has been challenging due to the difficulty in separating surface deformation from the bulk elasticity of the materials. We developed a new approach for studying the surface mechanical deformation of a soft material by utilizing self-propelled microprobes driven by motor proteins on the surface of the material. Information about the surface mechanical deformation of the soft material is obtained through changes in mobility of the microprobes wandering across the surface of the soft material. The active microprobes respond to mechanical deformation of the surface and readily change their velocity and direction depending on the extent and mode of surface deformation. This highly parallel and reliable method of sensing mechanical deformation at the surface of soft materials is expected to find applications that explore surface mechanics of soft materials and consequently would greatly benefit the surface science.

研究分野：生物物理・ソフトマター

キーワード：生体分子モーター アクティブプローブ ソフトマテリアル キネシン 微小管 伸展装置

1. 研究開始当初の背景

ゲルや生体組織などのソフトマテリアルは環境変化にตอบสนองし大きく変形する。この環境応答特性を利用したインテリジェントな材料が数多く開発されてきた。一方で、ソフトマテリアルの特性である低い弾性率と環境応答特性は、皺や折りなどの凹凸構造をその表面に誘発させる。この現象を利用して、近年、超撥水表面やマイクロ複眼レンズなどの機能性材料の開発に注目が集まっている。表面の力学特性がソフトマテリアルの変形現象に関与していることが明らかになると、その力学特性の計測技術にも関心が寄せられようになった。しかし、ソフトマテリアル表面の力学特性の直接評価は非常に難しく、これまで表面形態から間接的に評価する方法しか報告されてこなかった。さらに測定対象とする材料の適合性、時間/空間分解能に関する制約も課題となっていた。他方、自走するアクティブマターが、ここ最近、環境をモニタリングする探針プローブとして脚光を浴びている。アクティブマターの1つである微小管は、その相補タンパクであるキネシンが固定された表面上で、自発的に方向性を持って並進運動する。この微小管を用いた表面の化学特性評価や表面構造のイメージング法が提案されている。

2. 研究の目的

本研究では自走する多数の微小管をマルチアクティブプローブとして用いることでソフトマテリアル表面の力学特性変化(歪・応力変化)を直接評価する方法を提案することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、申請者がこれまでに確立してきたソフトマテリアル表面での微小管の長時間運動発現技術、顕微鏡上一軸伸展装置およびシミュレーションにより得られた微小管の力学応答特性に関する知見を基に、1) 自走する多数の微小管を用いたソフトマテリアル表面の力学特性変化(歪・応力変化)を能動的に探針するマルチアクティブプローブ法の確立、2) ソフトマテリアル表面のモルフォロジー評価も可能な多機能性を有した探査法であることの実証を課題とした。

4. 研究成果

課題(1) 微小管の長時間観察系を組み合わせた顕微鏡上一軸および二軸伸展装置の開発: 本課題では表面の応力変化に対する微小管の動的挙動を明らかにするため、一軸伸張場および二軸伸張場を提供可能な装置を開発した。図1に作製した微小管用顕微鏡上一軸伸張装置を示す。27年度は作動精度を確認するとともに基盤の最適条件および微小管の運動発現条件についての最適化を行った。

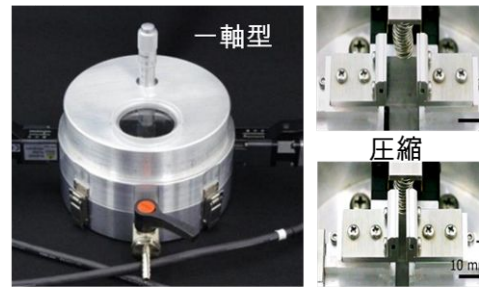


図1. 微小管用の顕微鏡上一軸伸張装置の外観

伸張場を提供するためのソフトマテリアルとしては、PDMS製の薄膜(サイズ: 0.05 mm × 5.0 mm × 7.0 mm、ヤング率: 1.33 MPa、破断歪: 400%)を用いた。

28年度以降は微小管の動的挙動に与えるポアソン効果について明らかにした。課題(2) 一軸伸張場および二軸伸張場での微小管アクティブプローブの動的挙動解析: 本研究課題では、上述の装置を用いて一軸伸張場における微小管の動的挙動(移動速度や相関長)を実験により明らかにした(図2)。

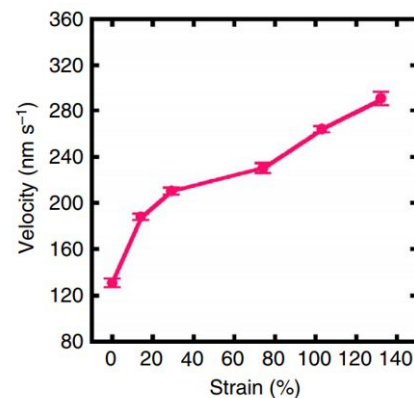


図2. 歪と微小管の速度との関係

27年度は微小管運動速度の歪依存性(0%~130%: ストレッチャーの可動幅)を評価することで両パラメーターの相互変換の可能性について検討した。キネシン密度に関する定量は蛍光強度測定および水晶振動子(QCM)センサ(現有装置)を用いて評価した。28年度以降は微小管の進行方向変化に対する歪依存性および歪速度依存性(0.6%/sec~30%/sec: ステッピングモーター性能限界)を先端の角度変化を指標として評価を行った。さらに角度データの平均角から応力方向、分散性から歪量への換算が可能か検討を行った。先端の角度評価に関しては、画像処理ソフトウェアを用いて解析した。さらに本評価法の空間分解能およびセンシング

速度に関しても検討を行った。空間分解能とセンシング速度はトレードオフの関係にあることが明らかになったことから、微小管の軌跡を重ね合わせた際に出現する「ボイド」の面積から前者、面積の時間変化から後者を解析することで時空間分解能を評価した。

課題(3) マルチアクティブプローブの動的挙動に与える表面モルフォロジー・力学物性の効果：本課題では不均一な表面形状および応力分布を有したソフトマテリアル表面上での微小管の動的挙動の評価を行った。

27年度は不均一な表面形状を有したソフトマテリアル表面上での微小管の動的挙動を評価した。不均一な表面形状は、分担者(の協力のもと、すでに応力分布の解が得られて

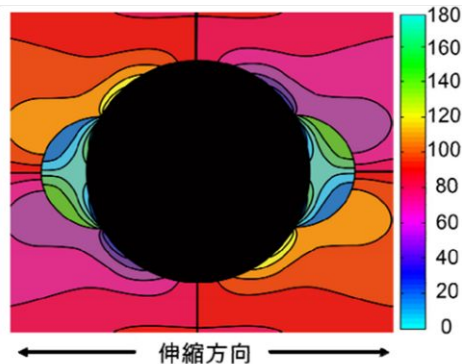
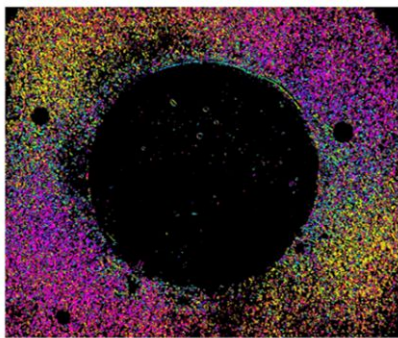


図3 . 丸穴 PDMS 上の微小管の協調運動

いる基板形状を用いて、伸張変形下での微小管の動的挙動の評価を行った。基板形状として、中央部に丸穴を有する PDMS 薄膜を用いた(図3)。丸穴は PDMS 薄膜に対して、生検トレパン(0.5-1.0 mm)を垂直に押し込むことで調製した。実験的に得られた応力分布結果を、理論的に予測される分布と比較することにより、本評価法の妥当性を検証した。

課題(4) 実験データに基づくマルチアクティブプローブのシミュレーションモデル構築：本研究課題では、これまでに得られた実験結果をもとに最適なシミュレーションモデルを構築した。

27年度は研究分担者の協力のもと、揺動力を入れた運動方程式を用いて、微小管の並進運動をソフトマテリアル上で再現させる系の構築を行った。ソフトマテリアルに伸張圧

縮(歪:0-132%)応力を印加すると、微小管(長さ:10 μm)の先端端が応力方向に対して垂直方向に偏向するというシミュレーション結果を得た。さらにその偏向は微小管に保存される曲げのエネルギーが原動力になっていることも明らかにした(図4)。

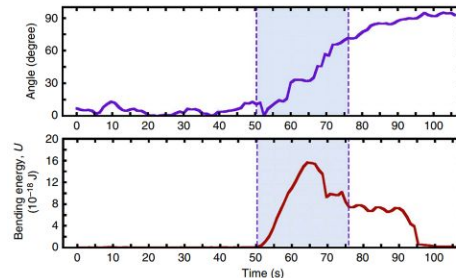


図4 表面変形が微小管の偏向に及ぼす影響

29年度には表面の力学特性評価および表面イメージングの同時評価が可能かどうかについても検討を行うとともに、これまでに得られた実験結果をもとに最適なシミュレーションモデルを構築した。さらに以上の成果を基に、自走する多数の微小管を『マルチアクティブプローブ』として用いてソフトマテリアル表面の力学特性変化(歪・応力変化)を直接評価することが可能であるとの結論を導き、その成果に関して学会、論文、プレス等を通して発表した。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4件)

Tsujii Mikako, Rashedul Kabir Arif Md., Ito Masaki, Inoue Daisuke, Kokado Kenta, Sada Kazuki, Kakugo Akira, Motility of Microtubules on the Inner Surface of Water-in-Oil Emulsion Droplets, *Langmuir*, 査読有、33、2017、12108~12113、DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b01550

Islam Md. Sirajul, Kuribayashi Shigetomi Kaori, Kabir Arif Md. Rashedul, Inoue Daisuke, Sada Kazuki, Kakugo Akira, Role of confinement in the active self-organization of kinesin-driven microtubules, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 査読有、247、2017、53~60、DOI: 10.1016/j.snb.2017.03.006

Tanjina Afrin, Arif Md. Rashedul Kabir, Kazuki Sada, Akira Kakugo, Takahiro Nitta, Buckling of microtubules on elastic media via breakable bonds, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 査読有、480、2016、132~138、DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.09.133.

Daisuke Inoue, Takahiro Nitta, Arif Md. Rashedul Kabir, Kazuki Sada, Jian Ping

Gong, Akihiko Konagaya, Akira Kakugo, Buckling of microtubules on elastic media via breakable bonds, Nature communications, 査読有、7、2016、1～10、DOI: 10.1038/ncomms12557.

〔学会発表〕(計 3件)

Akira Kakugo, Mechanical deformation induced modulation of biochemical functions of microtubule, 第6回ソフトマター研究会、2016

Akira Kakugo, Buckling of microtubules on a 2D elastic medium、Micro-and Nanomachines Chemical and Biological Nanomotors: MNM2016、2016

Daisuke Inoue, Takahiro Nitta, Arif Md. Rashedul Kabir, Kazuki Sada, Akira Kakugo, Self-Organization of dynamic microtubule network induced by mechanical stress, The Society of Polymer Science Japan、2015

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<https://wwwchem.sci.hokudai.ac.jp/~matchemS/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

角五 彰 (Kakugo Akira)
北海道大学・理学研究院・准教授
研究者番号：10374224

(2) 研究分担者

繁富 香織 (Shigetomi Kaori)
北海道大学・高等教育推進機構・特任准教

授

研究者番号：90431816

新田 高洋 (Nitta Takahiro)

岐阜大学・工学部・准教授

研究者番号：20402216