

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03206

研究課題名（和文）微小管の曲げ剛性の制御とナノパターンニングによる分子機械の実証

研究課題名（英文）Demonstration of molecular machine by control of microtubule rigidity and nano-patterning

研究代表者

横川 隆司（Yokokawa, Ryuji）

京都大学・工学研究科・教授

研究者番号：10411216

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、分子機械としての微小管の運動について、微小管先端の曲げ剛性と基板上の生体分子モーター（キネシン）の配置間隔を制御することによって、微小管の運動方向を制御する設計論を確立することを目指した。曲げ剛性測定方法については、ガラス基板上に微小管の一端を特異的に固定し、熱揺らぎから曲げ剛性を導出する画像処理アルゴリズムを確立した。これにより、微小管結合タンパク質、微小管重合速度、重合時のヌクレオチドの違いがどのように曲げ剛性に影響するかを調べ、重合速度が最も支配的であることを明らかにした。さらに、二種類のキネシンを金ナノピラー上に固定して運動速度を評価し、その運動特性の違いを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、微小管の曲げ剛性と生体分子モーターの配置間隔に着目して、ナノマイクロ加工技術とモーターを利用した分子機械の設計論を体系化することにつながるものである。この過程において、微小管の曲げ剛性が伸張速度により支配的に決まることや、モーターの種類によって運動特性が異なることを見出した。これらは、分子機械の開発と言うナノマイクロ工学的視点から研究を進めることにより得られた新たな知見であるが、同時に生物物理学における中心的な課題でもあり当該分野への貢献も大きい。

研究成果の概要（英文）：The aim was to develop a design methodology of kinesin motor-driven molecular machine by controlling flexural rigidity of microtubules and spacing of motors. Flexural rigidity was measured by analyzing a fluctuating microtubule immobilized on a glass substrate. We found the growth rate of microtubules has significant influence on the rigidity compared with microtubule associated proteins and the difference of nucleotides. In addition, we found the different motility of two kinesins immobilized on gold nano pillars.

研究分野：ナノマイクロシステム

キーワード：分子ロボティクス マイクロ・ナノデバイス 生物物理 分子モーター ナノバイオ

### 1. 研究開始当初の背景

化学合成による分子機械の創製において、B. Feringa らが「Now it is time to do something useful with them.」と機能的なシステム創製の必要性を述べている。生体分子モータや DNA オリガミの研究においても近年この方向性は明確であり、前者においては米国 NSF や DARPA の大型プロジェクトを通して分子濃縮デバイス (*Nano Lett.*, 2008) ELISA による分子検出デバイス (*Nat. Nanotechnol.*, 2009) が報告されてきた。我々もタウタンパク質センサ (*Lab Chip*, 2016) 等を開発してきた。このような背景から、生体分子モータを用いたシステム創製は、他のナノモータに比べ一歩進んでおりマイクロ・ナノ加工との融合によって、高機能化への方向性が示されてきた。

しかし、これまではマイクロデバイスや生化学的な場をトップダウン的に制御した中で生体分子モータの運動機能をそのまま利用しており、パッシブに「動かす」ことでシステム創製を模索するに留まっている。つまり、生体材料の生物物理学的な特性までを含めた設計論を確立して、分子機械システムの高機能化を図ることができていない。この状況に対し、本研究ではボトムアップ技術によりモータと微小管の生物物理的な特性を改変することと、トップダウン技術による微小流体デバイスの設計を融合することを提唱してきた。微小管の表面電荷密度を改変して運動方向を制御する技術 (*Sci. Rep.* 2015) はその一例である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、分子機械として検討されてきた微小管の運動において、運動方向を決める微小管先端の曲げ剛性と基板上的生体分子モータ(キネシン)の配置間隔を制御することによって、微小管の運動方向を制御する設計論を確立することである。曲げ剛性はボトムアップの分子設計により制御し、分子間隔はナノピラーを用いてトップダウン的に制御する。

研究代表者らは、キネシンとダイニンを併用したソーティング (*Biotechnol. Bioeng.* 2008) や DNA の分子操作 (*Anal. Bioanal. Chem.* 2008) を実現し、それを支える流体デバイス内での力学モデルを提案した (*Microfluid Nanofluid.* 2011)。また、分子輸送・結合の可視化アッセイ系 (*ACS Nano* 2013)、キネシンとダイニンによる微小管の分子綱引きアッセイ系 (*Sci. Rep.* 2014)、微小管の表面電荷密度により運動方向を制御する技術 (*Sci. Rep.* 2015) の開発を進めてきた。しかし、ガラス上に修飾したキネシンにより駆動する微小管(“分子シャトル”)の運動方向はマイクロ構造、電磁場などの外場によって制御することしかできず、場に存在する微小管が全て同じ軌跡を取るようになる。よって従来の研究ではキネシンというナノアクチュエータを用いながら、その操作はマイクロスケールで単機能のシステム創製に留まっている。このような問題点に着目することで、表面電荷密度を制御する手法を発展させ、微小管の運動方向制御技術を用いた分子機械システムの設計論を体系化することを目指した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 微小管の曲げ剛性測定

微小管の一部をビオチンアビジン結合により基板の上に固定し、固定されていない部分の熱揺らぎから曲げ剛性を測定した。まず Recycled (R)-tubulin と Fluorescent (F)-tubulin の混合液に Guanosine-5'-[( $\alpha,\beta$ )-methylene]triphosphate (GMPCPP, NU-405S, Jena Bioscience) を加えて 37°C で温置した後、Biotin-XX succinimidyl ester (B1606, invitrogen) を加え、ビオチンが結合した短い微小管 (B-seed) を作製した。B-seed と F-tubulin、一部ロットではさらに F-tubulin に対し 10 倍薄い濃度のタウを混合し、ヌクレオチド存在下で 37°C に温置することで B-seed の両端から微小管を伸長させた。伸びた部分を Tail、全体を Partially biotinylated MT (PB-MT) と呼ぶ。B-seed と Tail の重合には蛍光色素の異なる F-tubulin を用い、蛍光顕微鏡下で識別できるようにした。F-tubulin の濃度、ヌクレオチドの種類、タウの有無を変えることで MT-1 から MT-6 まで、六種類の微小管を作製した(表 1)。

全ての微小管は重合後に Paclitaxel と混合し安定化させた。ガラス基板上に金のストライプ状のパターンを作製し、シランカップリング剤を介してビオチンを固定し、ストレプトアビジンを挟み込む形で PB-MT のビオチン化部位をフローセル内で固定した。フローセル両端をマニキュアでシールし流れ場の発生を防ぐと、Tail は熱エネルギーのみの影響を受けて揺動した。Tail 部分は B-seed 部分を固定端とする片持ち梁とみなせるため、熱揺らぎによるたわみの時間変化を観察し、曲げエネルギーと熱エネルギーの式を解くことで曲げ剛性を算出した。露光時間 100 ms、2.5 fps で 200 秒間撮影し、画像処理アルゴリズムについては、Matlab ルーチンを作成し処理した。

表 1: 微小管の重合条件

略称	MT-1	MT-2	MT-3	MT-4	MT-5	MT-6
チューブリン濃度	普	普	普	低	低	高
ヌクレオチド	GMPCPP	GMPCPP	GTP	GTP	GTP	GTP
タウタンパク質	あり	なし	なし	あり	なし	なし

## (2) 金ナノピラーアレイの作製

金ナノピラーの直径は 50 nm とし、間隔は 200 nm から 1000 nm とした。ピラーアレイは電子線描画とリフトオフにより作製した(図1)。まず、1 μm 厚さの熱酸化膜が付いたシリコン基板をピラニア溶液で 80°C において 10 min 洗浄し、その後、EB レジスト (ZEP520A, ZEON, 1:1 diluted with anisole) をスピコート (1HD7, Mikasa) により回転数 1800 rpm で塗布し、180°C で 2 min ベークした。電子線描画装置を用いて、ドーズ量 310 μC/cm<sup>2</sup> でピラーアレイのパターンを描画し、ZED-N50 (ZEON) に 150 s 浸漬して現像した。その後、熱蒸着装置 (VPC 260F, ULVAC) を用いて約 3 nm のクロムの接着層と約 20 nm の金薄膜を蒸着した。レジスト除去液 (ZDMAC, ZEON) に 65°C で 10 min 浸漬した後に、アセトン中で超音波洗浄を 10 min おこなうことでリフトオフをおこなった。リフトオフ後のナノピラーアレイを走査型電子顕微鏡 (SU8000, Hitachi) で観察した。

## (3) キネシンの配置間隔を規定した微小管グライディングアッセイ

本実験ではモータタンパク質として軸索輸送に関わる kinesin-1 (Avitag-K465) および有糸分裂に関与している ncd (kinesin-14, Avitag-ncd195) を用いた。いずれのキネシンも Tail の部分にストレプトアビジンと結合できる Avitag を有しており遺伝子組み換え大腸菌を用いて His タグを用いて精製した。チューブリンは豚の脳から精製をおこないチューブリンと F-tubulin を 37°C で 30 min 重合することで蛍光微小管を調整した。本実験ではアッセイ系構築のために 0.1 mg/mL キネシン (in BRB80 with 0.1 mg/mL casein)、0.2 mg/mL streptavidin (in BRB80) および 1 mM ATP 溶液 (in BRB80 or BRB12 containing 36 μg/mL catalase, 25 mM glucose, 216 μg/mL glucose oxidase, 1% β-mercaptoethanol, 10 mM DTT with 0.007 mg/mL microtubule and 0.3 mg/ml casein) を用いた。ATP 溶液の調整には kinesin-1 のアッセイに対しては BRB80 バッファー (80 mM PIPES, 1 mM EGTA, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 6.8) を、ncd のアッセイでは BRB12 (12 mM PIPES, 1 mM EGTA, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 6.8) を用いた。金ナノピラーアレイを作製した Si/SiO<sub>2</sub> 基板に SAM 形成処理をおこない SiO<sub>2</sub> 表面に silane-PEG SAM を選択的に形成した。SAM を形成した基板を両面テープ (0.05 mm 厚, 400P50, 共同技研) をスペーサーとして用いてカバーガラス (30 mm × 40 mm × 0.17 mm, Micro cover glass, Matsunami) と貼り合わせてフローセルを構築した。まずフローセルに 0.2 mg/mL streptavidin を導入して金ピラーに非特異吸着を用いて固定した。次に 0.1 mg/mL キネシンを導入してアビジン-ビオチンの特異結合によって金ピラー上にキネシンを選択的に固定した。次に ATP 溶液を導入してパターンニングされたキネシンによる微小管の運動を開始させた。フローセルの出入り口をマニキュアで密封し蛍光顕微鏡で観察をおこなった。

## 4. 研究成果

### (1) 曲げ剛性と運動方向の制御

微小管の曲げ剛性は、測定方法やチューブリンの精製ロットの違いから大きな隔たりがあった。我々の測定値 (MT-6;  $2.80 \times 10^{-23}$  N m<sup>2</sup>) は報告されてきた値の上限値に近かったが、ほぼ同じ実験条件、測定方法を用いた他の研究グループの報告値 ( $2.73 \times 10^{-23}$  N m<sup>2</sup>) と比較すれば非常に近い値を示していたため、妥当であると言える。測定結果を図 2 に示す。Steel-Dwss 法により有意水準 1% で有意差を検定した。GMPCPP 存在下で重合した微小管は GTP 存在下で重合した微小管より有意に大きい曲げ剛性を示した。これは他のグループによる実験結果やシミュレーションと一致している。一方で、タウによる有意な影響はなかった。タウの濃度を上げる、もしくはチューブリンと共重合することで曲げ剛性が大きくなるとする報告があり、それらとは反している。これは、前述のようにタウ結合前の微小管曲げ剛性が既に充分大きく、タウの結合による微小管構造変化の影響が相対的に小さかったからであると考えられる。また、チューブリン濃度の増加に

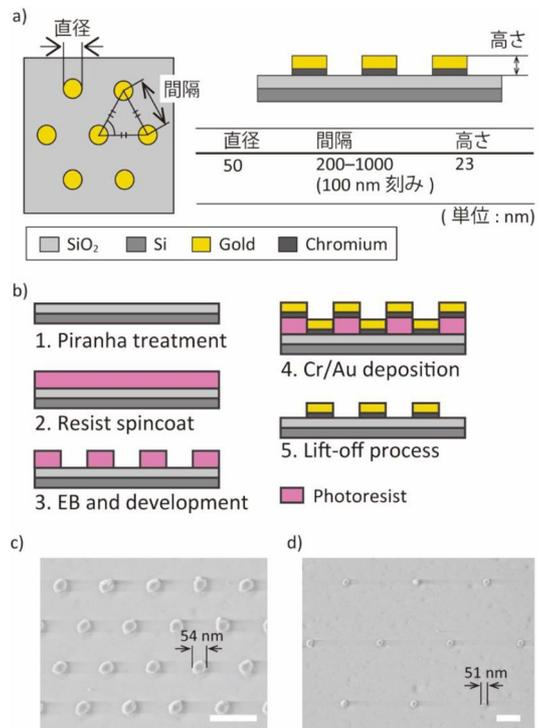


図 1: 金ナノピラーアレイの作製。a) ナノピラーのパターン図。b) ナノピラーの作製工程。c), d) リフトオフ後の SEM 画像。ピラーの間隔は c) 200 nm, d) 500 nm。

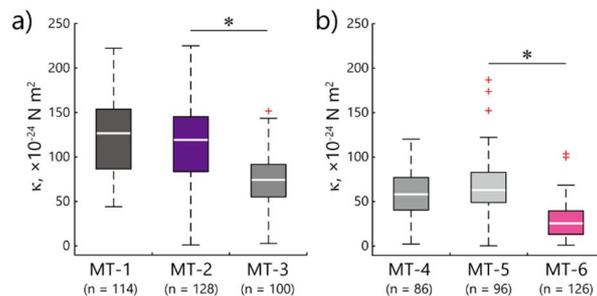


図 2: 微小管曲げ剛性の測定結果。

有意差を検定した。GMPCPP 存在下で重合した微小管は GTP 存在下で重合した微小管より有意に大きい曲げ剛性を示した。これは他のグループによる実験結果やシミュレーションと一致している。一方で、タウによる有意な影響はなかった。タウの濃度を上げる、もしくはチューブリンと共重合することで曲げ剛性が大きくなるとする報告があり、それらとは反している。これは、前述のようにタウ結合前の微小管曲げ剛性が既に充分大きく、タウの結合による微小管構造変化の影響が相対的に小さかったからであると考えられる。また、チューブリン濃度の増加に

伴って曲げ剛性は有意に小さくなった。これは、高チューブリン濃度下では微小管伸長速度が上がり、チューブリンの欠損やプロトフィラメントの本数変化が微小管長軸方向に沿って起こりやすくなるからであると考えられ、従来の報告と一致する。以上より、曲げ剛性の大きい微小管として MT-1 (GMPCPP 重合、タウ結合) もしくは MT-2 (GMPCPP 重合)、小さい微小管として MT-6 (GTP 重合、高チューブリン濃度) が得られた。この MT-2 と MT-6 を用いることで、分子分離システムを実証した ( *Sci. Robot.* 2017 )。

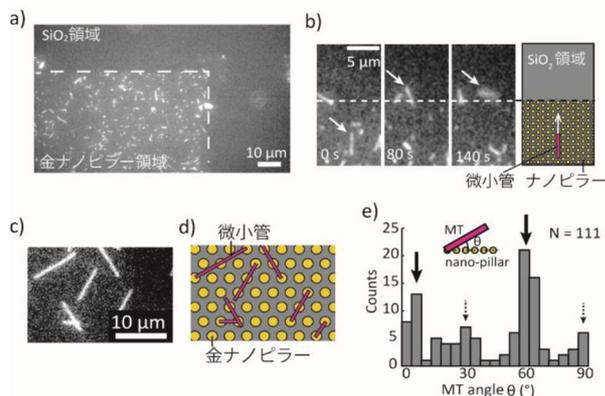


図 3 : a), b) パターニングされた kinesin-1 上での微小管の運動。a) 全景, b) ピラー領域の境界面。c), d) ピラー上での微小管の配向と模式図。e) 200 nm のピラー上を運動する微小管の進行方向角度。

## (2) 金ナノピラーアレイの作製

図 1c, d にリフトオフ後の金ナノピラーの SEM 画像を示す。作製されたピラーの直径は  $55.7 \pm 4.1$  nm (N = 30, Mean  $\pm$  S.D.) であり設計通りの大きさのピラーが得られた。またナノピラーの欠損はほとんど確認されず良好なピラーアレイを作製することができた。

## (3) キネシンの配置間隔を規定した微小管グライディングアッセイ

図 3a は kinesin-1 を固定した金ナノピラーアレイ上で運動する微小管の蛍光像である。微小管は金ナノピラーアレイ領域内白破線で囲まれた領域でのみ運動していることがわかる。また金ナノピラーの領域と SiO<sub>2</sub> の領域の境界においては微小管がナノピラーの領域から出ると表面から剥離していく様子が観察された (図 4b)。これらの結果はキネシンが金ナノピラーの領域内のみ存在していることを示す ( *Nanoscale* 2019 )。

図 3c, d にパターニングした kinesin-1 上を運動する微小管の別の蛍光像およびピラー配置との関係図を示す。多くの微小管が特定の方向を向いて運動しておりまたその向きはピラーの配列と一致していることがわかる。ピラー上での微小管の配向性を定量的に評価するために微小管の角度を計測した結果を図 3e に示す。角度のヒストグラムは 0°, 30°, 60°, 90° に明瞭なピークを表しこれらの角度はピラーの正六角形状の配置と一致している。以上の結果は kinesin-1 分子がピラーの上のみ存在することを示しておりピラー上にキネシン分子が選択的に固定されたことを示唆する。このような微小管の配向は ncd のパターニングにおいても観察され kinesin-1 と ncd のどちらにおいても金ナノピラーによるパターニングがおこなえたことを確認した。

## (4) 微小管速度のキネシン分子数依存性の評価

輸送に関わるモータ数と微小管速度の関係を kinesin-1 と ncd について調べた。図 4a に kinesin-1 を用いた際の微小管の速度とモータ数の関係を示す。kinesin-1 においては、速度はモータ数に影響を受けなかった。各ピラーに 1 分子のキネシンが固定されているとすると、ピラーの密度から、本実験における kinesin-1

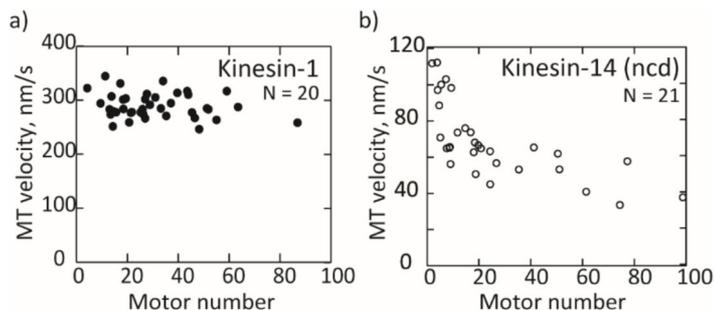


図 4 : 微小管速度のモータ分子数依存性。a) kinesin-1, b) ncd (kinesin-14)。

の密度は  $5 \sim 25 \mu\text{m}^{-2}$  と計算される。kinesin-1 の密度が  $100 \mu\text{m}^{-2}$  以下の場合、モータ数は速度に影響を与えないという報告がある。したがって本実験の結果は既往研究の結果と矛盾しない。ncd を用いた際の、微小管速度の分子数依存性を図 4b に示す。kinesin-1 と異なり ncd においてはモータ数が大きくなるにつれて速度は低下した。これらの結果よりモータ数は kinesin-1 においては速度に影響を与えないが ncd の場合は速度低下をもたらすことがわかった。これはモータの種類によって協働性が異なることを示唆している。

本研究では、微小管の曲げ剛性設計による分子分離システムを実証し、その後、金ナノピラーによりさらなる制御性向上を目指した。しかし、分子分離システム実証後、キネシン分子を 1 分子ずつ基板上に配置間隔を規定することで、キネシンの運動特性がその種類によって異なることを見出した。このため、微小管を運ぶ分子数と分子間隔がキネシンの集団的な挙動に与える影響を解明するアプローチに変更した。本研究計画時には想定していなかったが、分子機械の設計論の確立と言うナノマイクロ工学的視点から研究を開始し、結果的に kinesin-1 と ncd の協働性の違いを明らかにするという、より生物物理学的な成果に結びついた ( *Sci. Adv.* 2020 )。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Isozaki Naoto, Shintaku Hirofumi, Kotera Hidetoshi, Hawkins Taviare L., Ross Jennifer L., Yokokawa Ryuji	4. 巻 2
2. 論文標題 Control of molecular shuttles by designing electrical and mechanical properties of microtubules	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science Robotics	6. 最初と最後の頁 eaan4882
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scirobotics.aan4882	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Fujimoto Kazuya, Morita Yuki, Iino Ryota, Tomishige Michio, Shintaku Hirofumi, Kotera Hidetoshi, Yokokawa Ryuji	4. 巻 137
2. 論文標題 Design and Fabrication of Linear-shaped Zero Mode Waveguides for Single Molecule Observation of Kinesin and Fluorescent ATP	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 IEEJ Transactions on Sensors and Micromachines	6. 最初と最後の頁 159 ~ 164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1541/ieejsmas.137.159	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tarhan Mehmet Cagatay, Yokokawa Ryuji, Jalabert Laurent, Collard Dominique, Fujita Hiroyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Single Molecule Manipulation: Pick-and-Place Assembly of Single Microtubules (Small 32/2017)	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Small	6. 最初と最後の頁 1701136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/smll.201770172	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Subramaniyan Parimalam Subhathirai, Tarhan Mehmet C., Karsten Stanislav L., Fujita Hiroyuki, Shintaku Hirofumi, Kotera Hidetoshi, Yokokawa Ryuji	4. 巻 238
2. 論文標題 Microtubule density and landing rate as parameters to analyze tau protein in the MT-kinesin "gliding" assay	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sensors and Actuators B: Chemical	6. 最初と最後の頁 954 ~ 961
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.snb.2016.07.082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 中原 佐,宮崎 勇,小寺 秀俊,横川 隆司,南 和幸	4. 巻 8
2. 論文標題 表面粗さ構造における微小管運動の特性評価	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 電気学会 E 部門誌	6. 最初と最後の頁 503-508
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1541/ieejsmas.138.503	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazuya Fujimoto, Yuki Morita, Ryota Iino, Michio Tomishige, Hirofumi Shintaku, Hidetoshi Kotera, Ryuji Yokokawa	4. 巻 12
2. 論文標題 Simultaneous Observation of Kinesin-Driven Microtubule Motility and Binding of Adenosine Triphosphate Using Linear Zero-Mode Waveguides.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 11975-11985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.8b03803	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 磯崎直人, 横川隆司	4. 巻 73
2. 論文標題 分子を狙いどおりに目的地へ送り込む! 分子機械と微小流体デバイスによるナノ輸送システム	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 化学	6. 最初と最後の頁 12 16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taikopaul Kaneko, Ken'ya Furuta, Kazuhiro Oiwa, Hirofumi Shintaku, Hidetoshi Kotera, Ryuji Yokokawa	4. 巻 6
2. 論文標題 Different motilities of microtubules driven by kinesin-1 and kinesin-14 motors patterned on nanopillars.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 7413
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aax7413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tamanna Ishrat Farhana, Tomohiro Nakagawa, Shumpei Ohara, Hirofumi Shintaku, Hidetoshi Kotera, Ryuji Yokokawa	4. 巻 35
2. 論文標題 Spatial Patterning of Kinesin-1 and Dynein Motor Proteins in an In Vitro Assay using Aqueous Two-Phase Systems (ATPS).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 13003-13010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.9b01411	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 J.-H.Liu, K.-C. Hsia, R.Yokokawa, Y.-W.Lu	4. 巻 298
2. 論文標題 Microtubule Polymerization in Alignment by an On-Chip Temperature Gradient Platform	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sensors and Actuators B: Chemical	6. 最初と最後の頁 126813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.snb.2019.126813	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Taikopaul Kaneko, Suguru Ando, Ken'ya Furuta, Kazuhiro Oiwa, Hirofumi Shintaku, Hidetoshi Kotera, Ryuji Yokokawa	4. 巻 11
2. 論文標題 Transport of microtubules according to the number and spacing of kinesin motors on gold nanopillars.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nanoscale	6. 最初と最後の頁 9879-9887
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c9nr01324e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計36件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 18件)

1. 発表者名 T. Kaneko, S. Ohba, K. Furuta, K. Oiwa, H. Shintaku, H. Kotera, R. Yokokawa
2. 発表標題 Different coordination of kinesin-1 and Ncd revealed by their selective immobilization on gold nano-pillars
3. 学会等名 Biophysical Society 62nd Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1 . 発表者名 K. Fujimoto, R. Iino, M. Tomishige, H. Shintaku, H. Kotera, R. Yokokawa
2 . 発表標題 Fluorescent observation of ATP binding in kinesin driven microtubule gliding using nano-slits
3 . 学会等名 The 31st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2018) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 J. H. Liu, R. Yokokawa, Y. W. Lu
2 . 発表標題 Microtubule Polymerization Temperature Gradient in Microchip
3 . 学会等名 The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 N. Isozaki, K. Ukita, H. Shintaku, H. Kotera, T. L. Hawkins, J. L. Ross, R. Yokokawa
2 . 発表標題 High-Precision Microtubule Sorting by the Measurement of Persistence Length with Sub-Pixel Resolution
3 . 学会等名 2017 BMES Annual Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 T. Kaneko, K. Sasakura, K. Furuta, K. Oiwa, H. Shintaku, H. Kotera, R. Yokokawa
2 . 発表標題 Integration of Au Nano-Pillars and Sam Enables Protein Patterning with Designed Spacing at Single Molecule Level
3 . 学会等名 The17th IEEE International Conference on Nanotechnology (IEEE NANO 2017) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1. 発表者名 R. Yokokawa
2. 発表標題 Micro/nano fabrications for biophysical studies of endothelial cells and motor proteins
3. 学会等名 International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics (M&BE9) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 R. Yokokawa
2. 発表標題 Micro/Nano Fabrications for Biophysical Studies of Motor Proteins and Organ-on-a-Chip Applications
3. 学会等名 JSPS-RS Joint Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R. Yokokawa
2. 発表標題 Micro/Nano Fabrications for Biophysics and Organ-on-a-Chip Applications
3. 学会等名 IEEE Electron Devices Technology and Manufacturing (EDTM) Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Kaneko, S. Ohba, K. Furuta, K. Oiwa, H. Shintaku, H. Kotera, R. Yokokawa
2. 発表標題 Investigating Coordination of Kinesin Motor Proteins using Their Selective Immobilization on Gold Nano-Pillars
3. 学会等名 The 22nd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences ( $\mu$ TAS 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1 . 発表者名 T. Kaneko, S. Ohba, K. Furuta, K. Oiwa, H. Shintaku, H. Kotera, R. Yokokawa
2 . 発表標題 Development of a Nano-Patterning of Kinesin to Control the Number and Arrangement of Motors by Combining Au Nano-Pillars and SAM
3 . 学会等名 Molecules, Materials, Devices and Systems in Medicine ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 T. Kaneko, S. Ohba, K. Furuta, K. Oiwa, H. Shintaku, H. Kotera, R. Yokokawa
2 . 発表標題 Different Coordination of Kinesin-1 and Ncd Revealed by Their Selective Immobilization on Gold Nano-Pillars
3 . 学会等名 Biophysical Society 62nd Annual Meeting ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 K. Fujimoto, R. Iino, M. Tomishige, H. Shintaku, H. Kotera, R. Yokokawa
2 . 発表標題 Fluorescent Observation of ATP Binding in Kinesin Driven Microtubule Gliding Using Nano-Slits
3 . 学会等名 The 31st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2018) ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 中川 倫宏, 大原 駿平, 新宅 博文, 小寺 秀俊, 横川 隆司
2 . 発表標題 ATPSによる異種モータタンパク質の固定と運動性への影響の評価
3 . 学会等名 第38回化学とマイクロナノシステム研究会
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 金子 泰洸ボール, 大庭 将太郎, 古田 健也, 大岩 和弘, 新宅 博文, 小寺 秀俊, 横川 隆司
2. 発表標題 キネシンの1分子ナノパターンニングによる微小管の運動方向の制御
3. 学会等名 第38回化学とマイクロナノシステム研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Zhou Hang, Isozaki Naoto, Hawkins Taviare L., Ross Jennifer L., Yokokawa Ryuji
2. 発表標題 Relationship between Microtubule's Flexural Rigidity and Growth Rate by Controlling Tubulin Concentration
3. 学会等名 第38回化学とマイクロナノシステム研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tamanna Ishrat Farhana; Taikopaul Kaneko Ryuji Yokokawa
2. 発表標題 Regulating the Collective Motility of Microtubules by Controlling the Spatial Arrangement of Kinesins
3. 学会等名 The 35th Sensor Symposium on Sensors, Micromachines and Applied Systems
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Farhana Tamanna Ishrat, Kaneko Taikopaul, Yokokawa Ryuji
2. 発表標題 Selective Nano-Patterning of Kinesin Motor-Proteins and Its Effect on Collective Motion of Microtubules
3. 学会等名 56th Annual Meeting of Biophysical Society Japan
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古川 真之, 金子 泰洸ボール, Farhana Tamanna Ishrat, 新宅 博文, 小寺 秀俊, 横川 隆司
2. 発表標題 粘弾性溶液中におけるキネシンによる微小管の運動についての研究
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金子 泰洸ボール, 大庭 将太郎, 古田 健也, 大岩 和弘, 新宅 博文, 小寺 秀俊, 横川 隆司
2. 発表標題 Investigating Coordination of Kinesin-1 and Ncd Using Their Selective Immobilization on Gold Nano-Pillars
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金子 泰洸ボール, 大庭 将太郎, 古田 健也, 大岩 和弘, 新宅 博文, 小寺 秀俊, 横川 隆司
2. 発表標題 分子バタニングを用いたモータタンパク質集団の同期現象の解明
3. 学会等名 西日本ナノシート研究会サマーキャンプ2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 浮田 一輝, Zhou Hang, 新宅 博文, 小寺 秀俊, Hawkins Taviare L., Ross Jennifer L., 横川 隆司
2. 発表標題 微小管の曲げ剛性評価ため全反射顕鏡による伸長速度測定
3. 学会等名 電気学会_バイオマイクロシステム研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川倫宏 新宅博文, 小寺秀俊, 横川隆司
2. 発表標題 マイクロチャンネル内におけるATPS を用いたモータタンパク質のパターニング
3. 学会等名 電気学会全国大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Kaneko, K. y. Furuta, K. Oiwa, H. Shintaku, H. Kotera, R. Yokokawa
2. 発表標題 Molecular Nano-Patterning Reveals Different Coordination of Kinesin-1 and Kinesin-14 Motors
3. 学会等名 64th Annual Meeting of Biophysical Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 M. Furukawa, T. Kaneko, R. Yokokawa
2. 発表標題 Motility of Microtubule Driven by Kinesin in a Viscoelastic Media on Au Nano-Pillar Substrate
3. 学会等名 The 33rd International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2020) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 T. I. Farhana, T. Kaneko, R. Yokokawa
2. 発表標題 The Cooperative Motility of Microtubules on Nano-Patterned Kinesin-1 TURF
3. 学会等名 The 20th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Nakagawa, S. Oohara, T. I. Farhana, R. Yokokawa
2. 発表標題 Patterning of Different Motor Proteins Using Aqueous Two-Phase
3. 学会等名 The 20th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. I. Farhana, T. Kaneko, R. Yokokawa
2. 発表標題 Investigation of Collisions of Microtubules Driven by Nano-Patterned Kinesins
3. 学会等名 63rd Annual Meeting of Biophysical Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H. Zhou, N. Isozaki, T. L. Hawkins, J. L. Ross, R. Yokokawa
2. 発表標題 Flexural Rigidity of Microtubules Measured with Nanometer-Level Localization Precision
3. 学会等名 63rd Annual Meeting of Biophysical Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古川 真之, 金子 泰洸, Tamanna Ishrat Farhana, 横川 隆司
2. 発表標題 粘弾性溶液中におけるキネシンによる微小管双方向運動の解析
3. 学会等名 第36回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 東條 裕也, 金子 泰洸, 古田 健也, 大岩 和弘, 横川 隆司
2. 発表標題 分子パターンニング技術を用いた微小管すれ違い現象の解析
3. 学会等名 第40回化学とマイクロナノシステム研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H. Zhou, Y. Tojo, T. I. Farhana, R. Yokokawa
2. 発表標題 The Effect of Microtubules' Flexural Rigidity on Their Collective Motion
3. 学会等名 第40回化学とマイクロナノシステム研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. I. Farhana, T. Kaneko, R. Yokokawa
2. 発表標題 Study of Collisions of Microtubules on Nano-Patterned Kinesin Surface
3. 学会等名 第40回化学とマイクロナノシステム研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tamanna Farhana Ishrat, Taikopaul Kaneko, Ryuji Yokokawa
2. 発表標題 Emergence of Collective Motion of Microtubules Assisted by Spatial Arrangements of Kinesin-1
3. 学会等名 第39回化学とマイクロナノシステム研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hang Zhou, Kosuke Naka, Taviare L Hawkins, Jennifer L Ross, Ryuji Yokokawa
2. 発表標題 The Influence of 2N4R Tau Isoform on the Flexural Rigidity of Microtubule Revealed through Nanometer-level Localization Precision
3. 学会等名 第39回化学とマイクロナノシステム研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金子 泰洸ポール, 大庭 将太郎, 古田 健也, 大岩 和弘, 新宅 博文, 小寺 秀俊, 横川 隆司
2. 発表標題 1分子ナノパターンニングによるkinesin-1およびncdの協働性の評価
3. 学会等名 第39回化学とマイクロナノシステム研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古川 真之, 金子 泰洸ポール, Farhana Tamanna Ishrat, 横川 隆司
2. 発表標題 粘弾性溶液中における微小管の双方向運動の観察
3. 学会等名 第39回化学とマイクロナノシステム研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室HP <a href="http://www.ksys.me.kyoto-u.ac.jp/">http://www.ksys.me.kyoto-u.ac.jp/</a>
--

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----