

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：13302
研究種目：基盤研究(B) (一般)
研究期間：2018～2020
課題番号：18H01407
研究課題名(和文) 生体分子モーターで駆動する自律振動型人工筋肉の光造形とマイクロロボットの開発

研究課題名(英文) Development of artificial muscle with oscillatory movement driven by biomolecular motors

研究代表者
平塚 祐一 (HIRATSUKA, Yuichi)
北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・准教授

研究者番号：10431818
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：最近、研究代表者らは生体分子モーターを遺伝子工学的に改造することにより、光照射により形成できる人工筋肉を開発し、マイクロロボットの動力源として利用できることを示した。しかし、この人工筋肉は一回の収縮のみで実用にはまだ遠い。本研究では生体分子モーターの特長の一つである自律振動に注目し、自律振動を内包する鞭毛を含んだ人工筋肉の構築が可能かどうか検証し、自律振動するマイクロロボットの構築を目指した。従来のキネシン・微小管系人工筋肉システムの微小管の代わりにクラミドモナスから精製した鞭毛を利用し、鞭毛を含む人工筋肉の形成を可能とした。

研究成果の学術的意義や社会的意義
微生物や昆虫などの生物は、運動・制御・知能を兼ね備えた究極のマイクロロボットといえる。これは分子レベルから構築された生体の複雑な分子システムにより実現しているが、その仕組みは未だ不明なところが多い。本研究では生体分子を再設計・再構築することを通して生体分子システムを理解し、さらに従来法でなしえない機械システムまたはマイクロロボットの構築を目指している。

研究成果の概要(英文)：Recently, we developed a genetical engineered bio-molecular artificial muscle which formed by light illumination and demonstrated the possibility of 3D printing of micro-robots using the bio-artificial muscle. Because the bio-artificial muscle only contract one-shut, it is not practical to use the artificial muscle as an actuator of micro-robots. In this study, we focused the oscillatory movement in the biological molecular motors and tried to built the artificial muscle including flagella motors. By using flagella motor purified from chlamydomonas instead of microtubule in kinesin/microtubule artificial muscle system which we have previously developed, the bio-artificial muscle with flagella motors was successfully formed.

研究分野：生物物理学

キーワード：モータータンパク質 人工筋肉 マイクロロボット

1. 研究開始当初の背景

近年、マイクロロボットの研究開発が急速に発展している。例えば、心筋細胞を利用したエイ型ロボットは、遺伝子工学的に光応答性を付加された心筋細胞シートを動力として動く (Park SJ. et. al. Science, 2016)。また 3D プリンタで構築されたタコ型ロボットは、マイクロ流路を内蔵し化学反応により酸素圧力により駆動する (Wehner, M. et. al. Nature 2016)。これらは従来のロボット技術とは異なる新しいコンセプト (生体材料や 3D プリンタ、マイクロ化学反応など) を持ち、マイクロロボット開発の新しい潮流が生まれつつある。

一方、研究代表者らは最近モータータンパク質の一種キネシンを遺伝子工学的に改造することにより、光照射により指定した特定部位に大きさ数ミリメートルの人工筋肉を形成させる分子システムの構築に成功した。この人工筋肉は、キネシンの力学的な活性により微小管 (繊維状のタンパク質) を自己集積的に折りたたまれ筋肉のような収縮性のファイバーに形成される。予め作製した骨格構造にこの人工筋肉を形成させ、ミリメートルサイズの人工筋肉で駆動する微小ピンセットや昆虫型マイクロロボットのプロトタイプを構築することが可能となった。この光照射部位のみに人工筋肉を発生させることを生かすことで人工筋肉の光造形の実現の可能性が見えてきた。

しかしながら、この人工筋肉は光照射により人工筋肉の形成と収縮が同時に起こり収縮は一回限りという欠点があった。また、たとえ可逆的に収縮・弛緩を制御できるようになったとしても、マイクロロボットの小さな構造に光や電気等の人工的な制御機構を組み込むのは現時点では困難である。一方、生体の運動システムに目を向けると、昆虫の飛翔筋や微生物の鞭毛などの振動運動は、外的な信号によって振動が制御されているのではなく、筋肉や鞭毛の構造自体の力学的応答によって自律的な振動を作り出している。運動タンパク質の振動機構の詳細ははまだ解明されていないが、運動単位がナノメートルの分子機械がボトムアップ的に組織化された生体のアクチュエータは、従来の人工アクチュエータとは全く異なる設計思想で構成されていると考えられている。こうした分子機構の導入は将来の機械システムに大きな変革をもたらす可能性があるが、具体的にどのように取り入れていくかが課題となっていた。

2. 研究の目的

本研究では生体の振動運動を取り入れた人工筋肉の構築をめざす。最近研究代表者らは生体の運動タンパク質を遺伝子工学的に改造することにより、光照射により水溶液中の特定の部位に人工筋肉を造形させることに成功した。この人工筋肉を利用して大きさ数ミリメートルの機械構造を駆動させることにも成功しており、マイクロロボットの 3 次元光造形の可能性を開いた。しかし、これらのデバイスは光照射後の一回の収縮のみで実用にはまだ遠い。生体分子モーターには、従来の人工アクチュエータと異なる様々な特徴があるが、その一つに自律振動が挙げられる。微生物の鞭毛や昆虫の飛翔筋等の振動運動は、外的な振動信号により制御されているのではなく筋肉や鞭毛の構造の力学応答により自律的に生み出されている。本研究ではこれまで研究代表者らが開発してきた人工筋肉の光造形法に鞭毛を加えることで、振動機構を含む人工筋肉を作製可能か実験およびシミュレーションを用いて検証する。

3. 研究の方法

クラミドモナスやゾウリムシの鞭毛・繊毛は、2 対の中心微小管の周りにダブルレット微小管と呼ばれる微小管が 9 本配置された精密な構造をとっており、ダブルレット微小管間に局在するダイニンが微小管をスライドさせることにより鞭毛の屈曲運動を作り出している。このダイニンは収縮後ある力学的限界に達すると微小管からはずれ弛緩が起こり、それを繰り返すことで数十ヘルツの振動現象が生み出されていると考えられている。

これまで研究代表者らは遺伝子工学的に改造したキネシンより、光照射をトリガーとして微小管を自己集積的に繊維状に束ね、収縮する人工筋肉の形成に成功している。そこで本研究では同じ原理を用いて微小管の代わりに鞭毛の束状繊維 (人工筋肉) が作れるか、また、この鞭毛束繊維で振動現象が生じるかを検証した。

鞭毛の入手元として培養が容易なクラミドモナスを利用した。クラミドモナスの鞭毛は、ジブカインを使って脱毛させ遠心分離により精製した。脱毛後、Triton X100 で鞭毛の周りの脂質膜を除去し、粗精製鞭毛を得た。

一方、モータータンパク質で駆動する人工筋肉の基本システムは遺伝子組み換えキネシン (K465m13) 及び、カルモジュリン (CaM) とミオシンのフィラメント形成部位 (LMM) の融合タンパク質 (CaMLMM) からなる。光照射により Ca 濃度が上昇すると K465m13 は CaMLMM フィラメントと結合しキネシンフィラメントを形成する。このキネシンフィラメントの形成により微小管を自己集積的に繊維状に束ね、人工筋肉を形成し収縮する。本研究では、微小管の代わりに鞭毛を加え、人工筋肉を形成するか、また振動現象が生じるかを検証した。検証には、長さ 1 mm の

ポリメチルジシラザン (PDMS) 製のカンチレバー上にこの人工筋肉を形成させて、カンチレバーの曲げから収縮力などを測定した。

さらに、実験と並行してシミュレーションにより、人工筋肉の振動について調べた。

4. 研究成果

以前研究代表者らが開発したモータータンパク質で駆動する人工筋肉の形成には、微小管の数密度と長さが重要であることが既に分かっている。微小管の数密度がある臨界値以上にならないと人工筋肉の形成は生じない。これは、収縮前の微小管繊維同士の接触確率に関係し、パーコレーションモデルで説明することができる。本研究では、微小管の代わりに鞭毛を利用するが、精製した鞭毛はこの臨界値以上 ($0.1-0.3$ 本/ μm^3) の数密度にすることができず、可能な最高濃度の鞭毛に K465m13/CaMLMM を加え光照射により収縮を開始させても、人工筋肉の形成が生じなかった。そこで、収縮を促進させるために、別途、豚脳由来の微小管を鞭毛に添加し、鞭毛を含む人工筋肉の形成を試みた。

まず、収縮の臨界濃度以下の精製微小管と K465m13/CaMLMM を加え収縮を開始させ、この条件では収縮が生じないことを確認した。これに対し、更に粗精製鞭毛を加えた結果、微小管と鞭毛の合計の数密度が臨界値以上 (微小管のみの時の値) 付近で、収縮性の束状繊維 (人工筋肉) を形成する事がわかった。このことから、鞭毛が微小管の人工筋肉ネットワークに取り込まれていると予想された。

この鞭毛を含む人工筋肉の収縮力を測定するために、長さ 1mm の PDMS 製のカンチレバーに大きさ 1mm 程度の人工筋肉を発生させ、カンチレバーの曲がり量から収縮力を見積もった。鞭毛と微小管の合計の数密度が臨界値付近では、カンチレバーの動きはほとんど見られなかったが、鞭毛の濃度が高くなるにつれカンチレバーの曲がりが大きくなり、数 μN の収縮力を発生させられることが分かった (図 1)。このことにより、鞭毛を含む人工筋肉の形成がこの方法で可能であることが証明された。

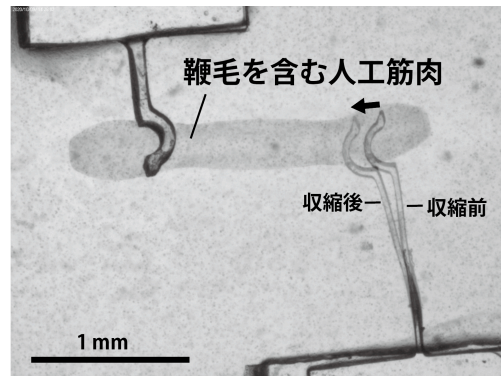


図 1. 鞭毛を含む人工筋肉 鞭毛に臨界濃度以下の微小管を添加することにより鞭毛を含む人工筋肉の形成が可能になった。

次に、この鞭毛を含む人工筋肉が振動現象を生じるかどうかについて検証した。カンチレバー上に鞭毛を含む人工筋肉を発生させ、最大張力 (カンチレバーの曲げが最大) になった時点で、カンチレバーに振動のような周期的な動きがあるか観察した。しかし、残念なことに目立った振動現象は確認できなかった。これは観察のために用いた顕微鏡システムが解像度・時間分解能的に十分でなかったためかもしれない。

振動現象が発生しなかった原因として、微小管に対して鞭毛の数密度が低い可能性も考えられる。今後、鞭毛の精製方法を改善し高濃度の鞭毛を検討する。また鞭毛から精製したダイニンの利用も検討する。

実験と並行してコンピュータシミュレーションによる運動制御の解析も行った。運動方向を微小管のプラス端またはマイナス端方向に外部刺激で変更できるモーター分子を想定した結果、シミュレーション上で振動のような往復運動を作る事が可能となった (図 2)。さらに往復振動を繰り返すことで、微小管ネットワークの網目構造が均質化し、収縮力の向上やより方向が揃った構造になることが分かった。

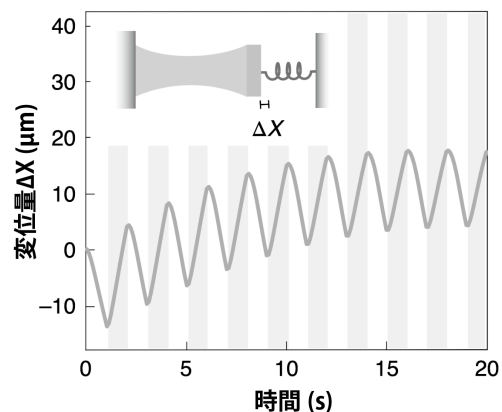


図 2. シミュレーションによる振動運動

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nitta Takahiro, Wang Yingzhe, Du Zhao, Morishima Keisuke, Hiratsuka Yuichi	4. 巻 -
2. 論文標題 A printable active network actuator built from an engineered biomolecular motor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Materials	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41563-021-00969-6	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Zhao Du, Takahiro Nitta, Yingzhe Wang, Keisuke Morishima, Yuichi Hiratsuka
2. 発表標題 Improvement of a genetically-engineered microtubule contractile protein network
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Du Zhao, Wang Yingzhe, 森島圭祐、平塚祐一
2. 発表標題 モータータンパク質収縮ネットワークの性能向上
3. 学会等名 39th CHEMINAS
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<https://www.jaist.ac.jp/areas/bb/laboratory/hiratsuka.html>

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
研究分担者	新田 高洋 (NITTA Takahiro) (20402216)	岐阜大学・工学部・准教授 (13701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------