

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12135

研究課題名(和文) 生体分子モーター群を自在に制御する基盤技術開発

研究課題名(英文) Development of a fundamental concept for manipulating biomolecular motors

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) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：生体分子モーターは優れた運動効率、高い比出力を備えた分子機械である。本研究では多数個から成る生体分子モーター群を自在に操作する基盤技術を開発することを目的とした。その技術応用として集団で目的の物質を能動的に輸送・集積し、機能的な組織体へと集積するデバイス創製システムを提案する。上記の課題を達成するにあたり、1. 分子間相互作用を塩基配列情報に基づいて精密に制御できるDNAを用い、生体分子モーターの群運動発現系および目的物質を補足する方法論を確立させた。さらに、2. 光応答性のDNAを導入することで、生体分子モーターの群運動を光で操作可能なシステムの構築を行った。

研究成果の概要(英文)：Biomolecular motors are molecular machines with high efficiency and high specific power. In this research, we develop a fundamental concept for manipulating a large number of biomolecular motors. As an application, we propose creation of a system that could actively transport and accumulate target substances in groups. In order to realize this concept, we established a methodology that controlled transportation of target substances by using biomolecular motor and DNA which allowed precise control of intermolecular interaction based on base DNA sequence information. Furthermore, by introducing photoresponsive DNA, we constructed a system that could manipulate the transportation of the target substances using light.

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 物質輸送 DNA

1. 研究開始当初の背景

生体分子モーターは ATP の化学エネルギーを細胞運動や物質輸送などへの力学的な仕事へと変換するナノメートルサイズの分子機械である。優れた運動効率、高い比出力 (~10kW/kg) を備えることから生体分子モーターを動力源としたナノデバイスやバイオアクチュエーターの開発が各国で盛んに行われている。米国では国防高等研究計画局が当該分野に大型予算を創設するなど、その重要性が認知されている。近年、生体分子モーターを組み込んだ分子デバイスのプロトタイプ (H. Hess, Nature nanotech, 2009) が開発され、その有用性も示されている。しかし、依然として実用化への道のりは遠いのが現状である。その理由として 生体分子モーターが単体として利用されており決定論的な動作を保障できない、生体分子モーターの運動持続時間が数分と極めて短い、生体分子モーターの運動を制御・操作する技術が確立されていないなどの要因が考えられる。このような問題意識のもと申請者は生体の自己組織化原理に習い生体分子モーターをエネルギー供給のない平衡系で受動的に集積する方法 (Advanced Materials, 2002) 及び、エネルギー (ATP) 供給のある非平衡系で能動的に集積する方法を確立させてきた (Soft matter, 2011)。この成果はバンドル、リング、網目状など多様な分子モーターの集合体を創出するとともに並進、回転運動など構造特異的な運動発現を可能にしている。また生体分子モーターの運動持続時間に関しては独自に設計・開発した活性酸素除去システムにより、数分程度だった耐用時間を 1 週間近く (100 倍以上) にまで引き伸ばすことに成功している (Langmuir, 2011)。

2. 研究の目的

本研究では、未だ達成されていない“生体分子モーターの群を自在に制御・操作する技術”の開発を目指す。その目標を達成するため本研究では、生体分子モーター群を DNA の相互作用などに基づいて、自在に操作する技術を確立し、その操作技術を物質輸送・集積技術のプラットフォーム作りへと展開させることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、生体内で物質輸送を担う生体分子モーター、キネシン/マイクロチューブル系を用いる。キネシンは繊維状タンパク質であるマイクロチューブル上で ATP を消費しながら、方向性のある運動を発現する。本系では遺伝子工学的に合成したキネシンをガラス基板上に固定し、マイクロチューブルの滑り運動を *in vitro* で発現させる。マイクロチューブルの運動挙動は蛍光顕微鏡を用いて観察する。上述の観察システムを実験基盤として以下の課題に取り組む。課題 1) 生体分子モーターの群運動発現と群運動操作技

術の確立。課題 2) 生体分子モーター群による位置選択的な物質輸送技術の確立。課題 3) 自律分散性を備えた生体分子モーター群による物質集積システムの確立。

4. 研究成果

課題 1) 生体分子モーターの群運動発現と群運動操作技術の確立。マイクロチューブルの群運動を発現させるためには、マイクロチューブル間の相互作用を制御する必要がある。本研究課題では高度な分子認識能を有する人工 DNA を導入を試みた。

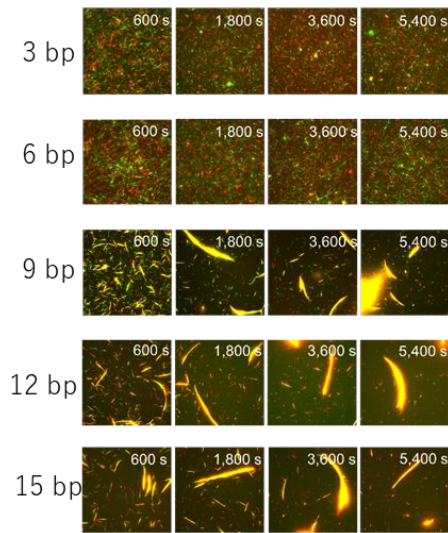


図 1. マイクロチューブルの群運動の発現に必要な DNA 鎖長の評価。

具体的には、一本鎖 DNA をマイクロチューブルに化学的に修飾し、ATP 存在下、キネシン固定基板上で運動発現させる。ここで、相補的な DNA 鎖を系内に導入することで、塩基配列に依存したマイクロチューブルの群運動発現を実現した。相互作用の程度は導入する相補鎖 DNA 間の鎖長や塩基配列に依存する。マイクロチューブルの群運動の発現に必要な DNA 鎖長および塩基配列を評価したところ 9 bp 程度の DNA 鎖長でマイクロチューブルの群運動発現が可能であることを実証した (図 1)。

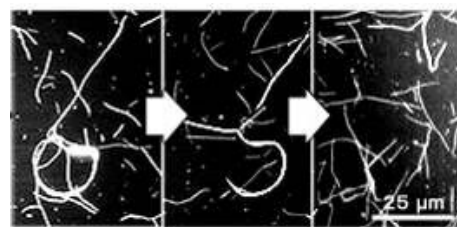


図 2. キネシン上で運動するマイクロチューブル群の運動制御。

さらに群運動の発現を可逆的に制御するために鎖交換可能な DNA 配列の探索を行った。

適切な相補鎖 DNA を選択することでマイクロチューブの群運動解消も制御可能であることを確認した(図2)。

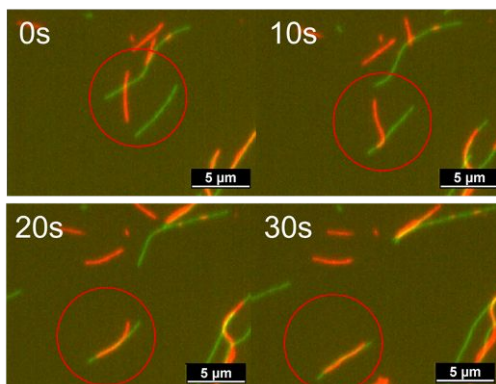


図3. 光照射により形成されるマイクロチューブの集合体。

またマイクロチューブの群運動を非接触に操作するためにアゾベンゼンを組み込んだ光応答性 DNA を導入した。アゾベンゼンは可視光照射でトランス体に異性化し、紫外光でシス体に異性化する。アゾベンゼンを導入した DNA では、この構造変化を利用することで DNA 鎖間の相互作用(二本鎖形成と解離)を特定波長の光照射のみで可逆的に制御することができる(H. Asanuma et al. Nat. protocols. 212, 2007, 203)。本課題では、群運動の出現頻度、空間的な規模に影響を及ぼすファクターとして照射光の波長・強度や照射時間の依存性を系統的に評価した(図3)。

課題2) 生体分子モーター群による位置選択的な物質輸送技術の確立。

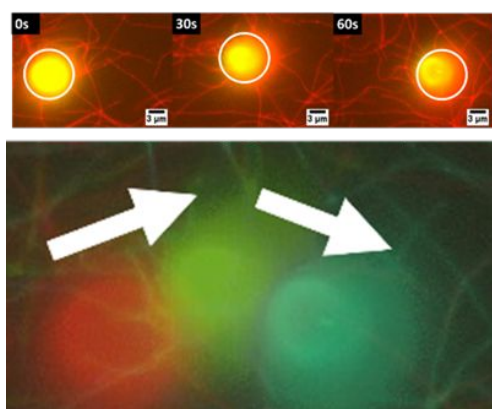


図4. マイクロチューブおよび光応答性 DNA による微粒子の輸送。

本課題では特定物質の位置選択的な運搬・輸送を光により制御可能なシステムを構築することを目的とした。その目標を実現するため光応答性 DNA に対する相補鎖 DNA を目的の物質にタグ付けすることで、マイクロ

チューブに物質認識・捕捉機能を付与することを試みた。また、光の局所照射により位置選択的な物質輸送の実現を目指した。輸送対象物質として、適当な DNA タグ付き蛍光微粒子(1 μm ~10 μm)を用い最適化を行った(図4)。

最適化の指標としては光応答性 DNA 修飾マイクロチューブが輸送できる蛍光微粒子の限界サイズ、輸送距離、輸送効率などを基に評価した。さらに位置選択的な物質輸送を実現するため、可視光・紫外光を局所照射可能なフォトマスクの作成を行った。

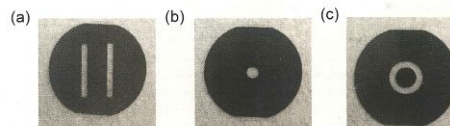


図5. 局所照射を実現するフォトマスクの作成。

また 29 年度には作成したフォトマスクを用いて局所照射を行うとともに対象物質の放出確認を行った。

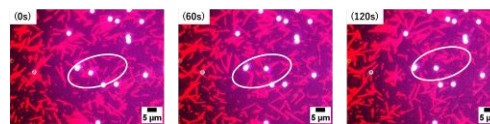


図6. 局所照射による位置選択的な微粒子の補足と放出を実現。

以上、生体分子モーター群を DNA の相互作用などに基づいて、自在に操作する技術を確立するとともに、その基盤技術をもとに物質輸送・集積などを実現するプラットフォームを構築に成功した。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

角五 彰、生体分子モーターを用いた動的自己組織化研究とその活用法について、高分子ゲル研究会・ワークショップイン松山、2017。

角五 彰、アクティブバイオマターを活用した新たな研究展、高分子学会 バイオ・高分子研究会、2016。

Kakugo Akira、Transportation of nano-space materials by bio-molecular motors、International Conference of Nanospace Materials 2015 (ICNM2015)、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・大学院理学研究院・准教授
研究者番号：10374224

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()