

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：82636

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02417

研究課題名(和文)人工的なレールの上を走る生物分子モーターを創る

研究課題名(英文)Creating a biomolecular motor that moves on artificial tracks

研究代表者

古田 健也 (Furuta, Ken'ya)

国立研究開発法人情報通信研究機構・未来ICT研究所フロンティア創造総合研究室・主任研究員

研究者番号：40571831

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：DNA上を運動する蛋白質ベースの新しい分子モーターとして、天然の生物分子モーターであるダイニンの微小管結合部位を、ヒト転写因子のDNA結合部位に取り替えたキメラ分子を開発した。この新規分子モーターのレールとなるフィラメント状の構造体として、DNAタイルの重合に依って作られる中空状のDNA構造体(DNAナノチューブ)を作成し、この表面にDNA結合部位の認識配列を組み込んだ。その結果、DNAナノチューブは、速いタイプのモーターでは平均 220 nm/s でスムーズな滑り運動を起こした。さらに一分子でプロセスにDNAナノチューブ上を動くことができる二量体分子の作製にも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年発達してきたナノテクノロジーでは自律的な小さな機械を数多く集めて使うことで複雑な仕事をさせるというアイデアに基づいて活発な研究が進められているが、これまで人工の分子マシンと、天然の生物分子モーターにはそれぞれに短所があり、どちらも応用には遠いと考えられていた。本研究で、天然の分子モーターと遜色のない速度を持ち、制御性の高いDNAナノ構造体上を動く実用的なモーターが得られたので、今後、DNAナノ構造体を高速で動かしたり、分子を自律的に輸送し濃縮したり計算したりするような新しいデバイスの構築に使用できる可能性があると考えている。

研究成果の概要(英文)：We have developed a chimeric molecule in which the microtubule-binding site of dynein is replaced with the DNA-binding site of a transcription factor to create a new protein-based molecular motor that moves on DNA. DNA nanotubes were prepared as tracks for this new molecular motor. The recognition sequences of DNA binding sites were incorporated into the surface of the DNA nanotubes. As a result, the DNA nanotubes showed a smooth sliding movement with an average speed of 220 nm/s. Moreover, we succeeded in creating a dimeric motor that moves processively on DNA nanotubes.

研究分野：生物物理学

キーワード：分子モーター DNAナノテクノロジー DNA結合タンパク質

1. 研究開始当初の背景

2016年のノーベル化学賞は、有機分子にナノメートルスケールのスイッチやモーターを実装した人工の分子マシンを操作することで動きや力を作り出す研究に贈られたように、自律的な小さな機械を数多く集めて使うことで複雑な仕事をさせるというアイデアに注目が集まっている。人工の分子マシンと、天然の生物分子モーターにはそれぞれに短所があり、どちらも応用には遠いと考えられている。例えば、人工分子マシンは現状ではその外部環境（温度やpHなど）を人為的に変化させることで駆動されており、生物分子モーターのように自分で環境から化学物質を取り込んで、その化学エネルギーを力学的な仕事に変換して動き続けるような仕事ができない。この問題への対応策としてDNA walker などの取り組みがあるが、運動速度が天然のモーターに比べて非常に遅く、実用的とは言い難い。一方、天然の生物分子モーターは、限られた環境下・エネルギー源でしか動作せず、さらに、そのレールである細胞骨格フィラメントは改変が非常に難しい。逆に言えば、もし、生物分子モーターとレールを人間が使いやすい形にカスタマイズできれば、分子モーターを使った多様な研究開発の端緒を開くことになるはずである。

2. 研究の目的

本研究計画では、天然から得られる既知のタンパク質モジュールを組み合わせることによって、制御しやすい人工的なDNAフィラメントの上を動くリニア型の分子モーターを創り出すことを目指す。これにより、生物分子モーターの運動メカニズムとその設計原理を解明し、生物分子モーターの応用研究への道筋を付けることを目的とする。

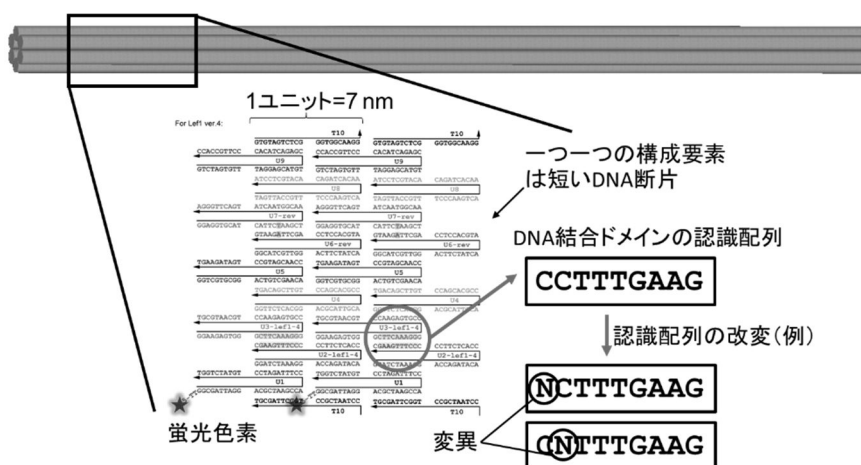


図1：DNA ナノチューブの構造

3. 研究の方法

生物分子モーターであるダイニンの一部をモーターコアとして用い、DNA結合部位をフィラメ

ントとの結合に使用する。生物分子モーターが本来レールとしている細胞骨格フィラメントは、変異導入・構造の改変が難しいという問題がある。DNAナノチューブをレールに用いれば、一塩基単位での改変が容易であり、三次元構造や剛性を自由に設計できるため、これまで重要であるにもかかわらず手を付けることが出来なかった問題、例えば、モーターとレールとの間のインターフェースの非対称性と運動方向との関係について、一分子追跡や光ピンセット技術を使って直接検証することが可能になる（図1参照）。

4. 研究成果

まず、新しい分子モーターを作製するために、天然の生物分子モーターであるダイニンの微小管結合部位を、ヒト転写因子のDNA結合部位に取り替えたキメラ分子を構築し、ヒト培養細胞で発現させ、これを単離・精製した。次に、レールとなるフィラメント状の構造体として、DNAタイルの重合に依って作られる中空状のDNA構造体（DNAナノチューブ）を作成し、この表面にDNA結合部位の認識配列を組み込んだ。作製した新規分子モーターが機能するかどうかをテストするために、新規分子モーターをガラス上にランダムに結合させ、DNAナノチューブとエネルギー源であるATPを入れて顕微鏡で観察した。その結果、DNAナノチューブは、速いタイプのモーターでは平均 220 nm/s でスムーズな滑り運動を起こした。このことは、人為的に設計した初めてのDNAレール上を動くモーターが作られたことを意味しており、かつ天然の分子モーターと遜色のない速度を持つ実用的なモーターが得られたと言える。

さらに、2種類のモーターを同時に動作させるため、DNAとの親和性を調整する目的で、一方のDNA結合タンパク質の一部にプラス電荷を持つリジン残基のクラスターを挿入する実験を行った結果、同じ環境で同時に2種類のモーターを動作させることに成功した。これを用いると1本のDNAナノチューブに複数の異なるDNA結合タンパク質の認識配列を埋め込むことにより、多重の分子輸送を実現できる（本研究課題では行っていない）。単量体をア

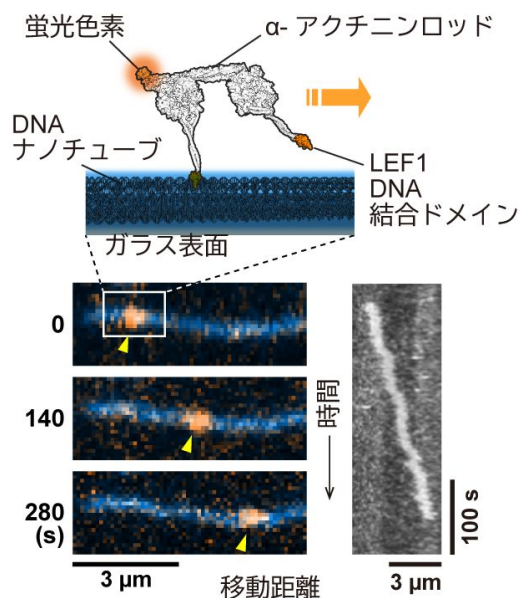


図2：二量体 LEF1-ダイニン分子の運動

クチニンロッドでつなぐことによって一分子でプロセシブにDNAナノチューブ上を動くことができる二量体分子の作製にも成功した（図2参照）。

また、異なる種類のDNA結合タンパク質をインターフェースとした異なる新規分子モーターの運動速度とATPase速度との関係をみたところ、線形な関係は見出せなかったことから、運動速度はATPの代謝速度以外の、例えばDNAとの結合速度・解離速度のバランスなどによって決まっている可能性があることが分かった。今後は、任意の性能を持つモーターの設計方法を理解するための研究を進める予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 指宿 良太、古田 茜、森下 達矢、大岩 和弘、小嶋 寛明、古田 健也
2. 発表標題 Re-design of linear molecular motors
3. 学会等名 第63回米国生物物理学会年会Saturday Subgroup Symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古田 健也
2. 発表標題 生物分子モーターを再設計する
3. 学会等名 第15回AMO討論会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古田 健也
2. 発表標題 Re-design of linear molecular motors
3. 学会等名 仙台ワークショップ"An Update on Molecular Motors:Open Challenges and New Perspectives"（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 熊谷 優佑、柴田 桂太朗、古田 健也、本田 元、小嶋 寛明
2. 発表標題 Cytoplasmic dynein stepping on crowded microtubules resolved using dark-field imaging with high spatio-temporal resolution
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松田 祐佳、古田 茜、大岩 和弘、小嶋 寛明、古田 健也
2. 発表標題 Collective motility of Chlamydomonas outer arm dynein measured using its intermediate chain as a scaffold for motility assays
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐川 美咲、古田 茜、小嶋 寛明、大岩 和弘、古田 健也
2. 発表標題 Measuring mechanical responses of Chlamydomonas axonemal dynein arrays to external load
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古田 健也
2. 発表標題 タンパク質モータを創る
3. 学会等名 未来ICTシンポジウム2020
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------