

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26280097

研究課題名(和文) マイクロ非平衡場の制御による細胞サイズ分子ロボットの動的自己組織化と自律運動

研究課題名(英文) Dynamical self-assembly and autonomous motion of cell-size molecular robots by the control of micrometer-scale nonequilibrium field

研究代表者

瀧ノ上 正浩 (Takinoue, Masahiro)

東京工業大学・情報理工学院・准教授

研究者番号：20511249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、マイクロメートルスケールの非平衡場を構築・制御し、分子を時空間的・動的に自己組織化させ、非平衡場のエネルギーを利用して自律的に駆動する、「動的な細胞サイズ分子ロボットの創製と制御」を行うことを目的とした。研究の結果、細胞サイズ分子ロボットのための非対称複雑形状ゲル粒子の構築技術と動的自己組織化法の開発、化学反応によるゲル粒子の自律運動の実現に成功した。さらに、細胞やDNAを用いた細胞サイズ分子ロボットへのバイオ機能の付与や、細胞サイズマイクロ粒子の集団的自発運動の実験と理論解析にも成功した。これらを通じ、細胞サイズ分子ロボットに動的な運動・機能などを実現する基礎を築いた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we constructed methods to produce and control dynamical cell-sized molecular robots by the control of micrometer-scale nonequilibrium fields and spatiotemporal assembly of molecules. As a result of this study, we developed methods to produce asymmetric complex-shaped gel microparticles and a method to dynamically assemble the microparticles. We achieved autonomous motions of the asymmetric complex-shaped gel microparticles using chemical reaction energy. Additionally, we succeeded in biological functions of the asymmetric complex-shaped gel microparticles for cell-sized molecular robots using living cells and DNA molecules. Finally, we achieved the control of collective motions of microparticles using nonequilibrium electrical conditions. Through this study, we developed the basic technologies for the construction and control of dynamical cell-sized molecular robots.

研究分野：生物物理学, 分子ロボティクス, DNAナノテクノロジー, マイクロ流体工学

キーワード：分子ロボット 人工細胞 DNAナノテクノロジー マイクロマシン 非平衡 自己組織化 ゲル エマルジョン

1. 研究開始当初の背景

自然界に見られる自己組織化や自律性を備えた現象の原理や機能を取り入れた人工システムを構築することは、工学的にも物質科学・生命科学的にも重要な目標の一つである。このような自己組織化した自律システムは、分子のスケール(ナノメートル)の反応から、マイクロ・ミリメートルスケールのシステムまで階層的に結びつく非常に複雑な動的な自己組織化現象であり、物質・エネルギー的に非平衡系が必須であることが知られている。現在まで、様々な自己組織化システムが構築されてきたが、多くは「静的」な自己組織化現象に基づくものであり、今後は、生命システムのような動的システムの構築原理の実用的な知識へと体系化が必要とされている。

2. 研究の目的

本研究では、マイクロメートルスケールの非平衡場を構築・制御し、分子を時空間的・動的に自己組織化させ、さらに、非平衡場のエネルギーを利用して自律的に駆動する、「動的な細胞サイズ分子ロボットの創製と制御」を行うことを目的とする。これを通して、生命システムに見られるような、非平衡動的な分子システムを設計・創製・制御するための方法論の構築を行い、物質・生命科学や情報・システム工学に革新をもたらすことを目指す。

3. 研究の方法

本研究では、動的な細胞サイズ分子ロボットの開発を次の4つの項目で実施した。

(1) ボディの開発

遠心型マイクロ流体デバイスを用いて、細胞サイズ(数十 μm)のゲル粒子を生成し、細胞サイズ分子ロボットのボディを作製した。このデバイスを用い、複数のコンパートメントを持つビーチボールのような形状の細胞サイズ粒子を作り、ビーチボールの一部を溶解し、タービンのような構造など、複雑な形状を作製して、ボディとした。また、細胞サイズゲル粒子の「組み立て」による分子ロボットのボディの複雑化も行った。

(2) 自律駆動機能の付与

非対称な形状をもつ細胞サイズ分子ロボットのボディに、形状的な非対称性のある部分に自律振動するゲルや化学反応触媒を導入し自律運動の実現を行った。化学反応で気泡や分子が生成され、気泡放出による運動量獲得や、分子濃度勾配で生じる界面張力差による流れにより非平衡系の自律運動を実現した。

(3) バイオ機能の付与

非対称な形状をもつ細胞サイズ分子ロボットのボディに、生細胞を導入したり、非対称な形状をもつ細胞サイズ分子ロボットをバイオ機能のあるDNAで構築したり、人工細胞膜小胞リポソームにタンパク質発現系をすることで、バイオリジカルな機能のある細胞サイズ分子ロボットの構築を行った。

(4) 集団挙動の創発

個々の細胞サイズ分子ロボットの運動だけではなく、集団によって創発する運動の実現と

制御に関する研究も実施した。ここでは、電極に一定電圧を印加して、エマルジョンやマイクロ粒子が運動し、自律的に方向性のある運動を創発する現象を発見し解析を行った。

4. 研究成果

(1) ボディの開発

遠心力を利用した液滴射出マイクロ流体システムにより、直径約100 μm の複雑形状(プロペラ型等)の粒子を生成し、形状の非対称性による推進の制御を行い、並進運動、回転運動、およびその複合である円運動を実現することができた。また、同マイクロ流体システムを発展させ、鞭毛様の多重らせん構造のマイクロファイバーを生成する技術の開発にも成功した。

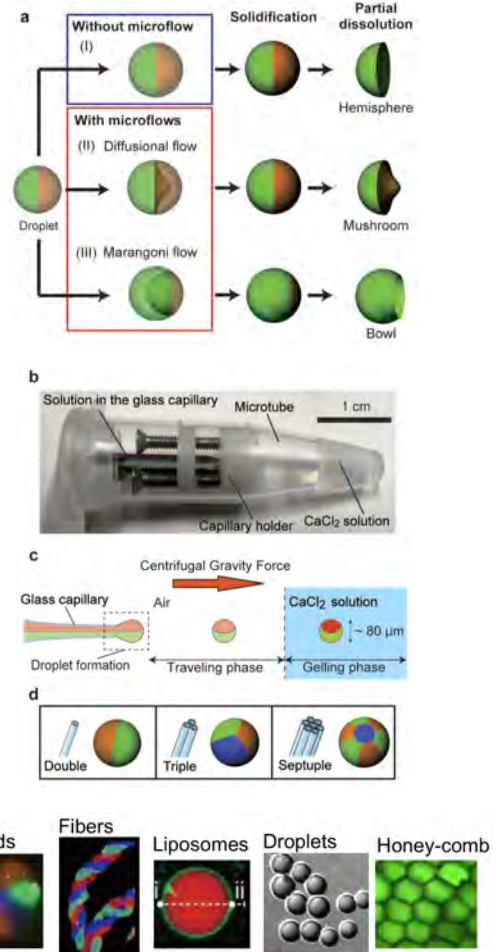


図1. 遠心型マイクロ流体デバイスによる複雑形状のゲル生成と、細胞型分子ロボット用の複雑形状粒子・らせんファイバーなど

外場に応答して動的に自己組織化するマイクロスケールのゲル粒子の生成・制御と理論の構築を行った。具体的には、上記マイクロ流体システムにより、直径約100 μm の磁性体を封入したヤヌス型のマイクロ粒子を形成し、回転交流磁場(歳差磁場)内においてマイクロゲル粒子の駆動および自己組織化のダイナミクスを観察した。その結果、歳差磁場の回転速度依存的に、自己組織化パターンを形成・制御することに成功した。

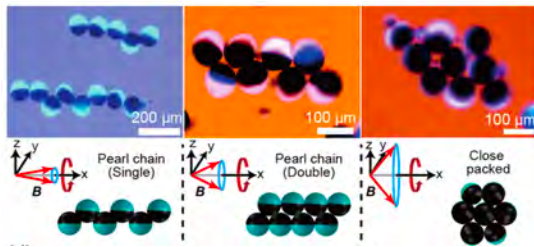


図 2. マイクロ粒子の動的自己組織化

(2) 自律駆動機能の付与

白金触媒によって生成する気泡で自己推進するマイクロサイズの複雑形状ゲル粒子の構築と制御および理論の構築を行った。具体的には、遠心力を利用した液滴射出マイクロ流体システムにより、直径約 $100 \mu\text{m}$ の複雑形状の粒子を生成し、形状の非対称性による推進の制御（並進/回転/円運動）を実現し、数理モデルによって運動をシミュレートすることができた。

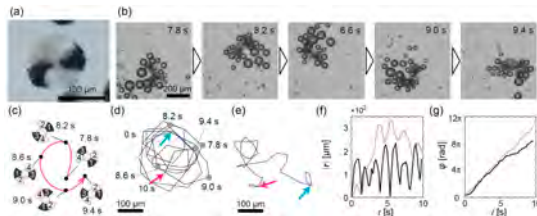


図 3. 触媒反応によるマイクロ粒子の自律運動

化学振動反応である Belousov-Zhabotinsky 反応を細胞サイズの分子ロボット実現へ応用するため、力学的なエネルギーに自励変換して駆動する自励振動高分子の構築を行った。様々な環境で駆動できるような検討を行うとともに、マクロスケールへの拡張も検討した。さらに、細胞サイズの分子ロボットの実現に最適な高分子の化学構造を決定することを目指して、様々な自励振動高分子を合成し、その振動挙動と基礎物性について計測を行った。

(3) バイオ機能の付与

ヤヌスゲルビーズの材料を細胞が封入可能なコラーゲンゲルへと応用展開をし、微小なマイクロゲルビーズ空間内で細胞間の相互作用を含むアセンブルユニットの開発を行った。

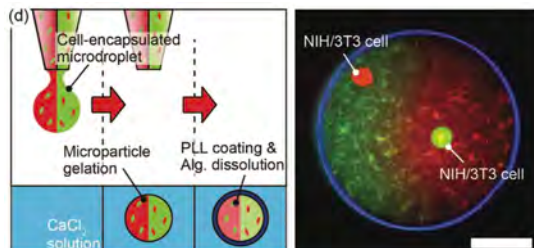


図 4. 細胞封入によるバイオ機能の付与

DNA スケルトン構造による小胞型分子ロボット、RNA 転写をベースとした DNA 反応を有す

る小胞型分子ロボットを構築した。DNA スケルトンでは、形成メカニズムの解明とともに、形成後に RNA 転写反応できる酵素を含む水溶液へ抽出することに成功した。DNA スケルトンには RNA を転写できる配列の付加により情報を蓄積するとともに発現できる情報デバイスとしての細胞サイズ分子ロボットの構築に目処がたった。

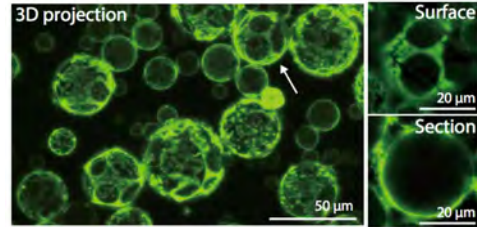


図 5. DNA マイクロスケルトンゲル

DNA オリガミ技術による小胞型分子ロボットを実現した。この小胞型分子ロボットでは、イオン透過性のある小孔の機能を付与することに成功した。また、形成メカニズムに関する詳細な研究の結果、ソフトマター物理学におけるピッカリングエマルション型であることが分かった。これにより、さらなる機能付加の設計方法が分かってきた。

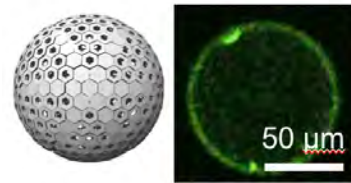


図 6. DNA オリガミカプセル

脂質二重膜小胞(リポソーム)の生成と制御に成功し小胞型分子ロボット構築技術を発展させた。小胞膜の裏表の組成を制御する技術も開発した。また、小胞内での生体分子反応(ここでは、遺伝子情報からのタンパク質発現)も実証した。

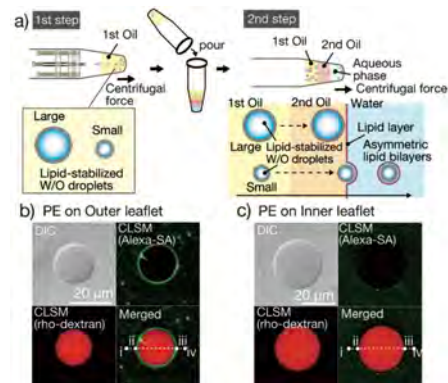


図 7. 細胞封入によるバイオ機能の付与

(4) 集団挙動の創発

マイクロ粒子の自律的な集団運動を実現し、その物理モデルの構築や運動のシミュレーションにも成功した。

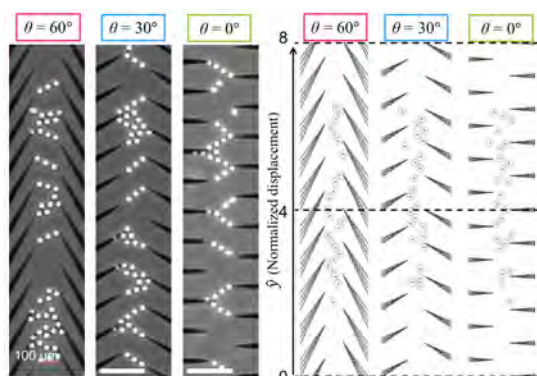


図 8. 電圧印加下でのマイクロ粒子の集団運動の実験とシミュレーション

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 28 件)

- [1] Chikako Kurokawa, Kei Fujiwara, Masamune Morita, Ibuki Kawamata, Yui Kawagishi, Atsushi Sakai, Yoshihiro Murayama, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Masahiro Takinoue, Miho Yanagisawa, “DNA cytoskeleton for stabilizing artificial cells”, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS), vol.114, no.28, pp.7228–7233, (2017). doi: 10.1073/pnas.1702208114. 査読有
 - [2] Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Formation of DNA micro-skeleton structures in water-in-oil microdroplets”, Proc. microTAS, pp.159–160 (3C1-4), (2017). 査読有
 - [3] 瀧ノ上正浩, “生体内で働く分子ロボットの実現へ: 情報媒体としての DNA 分子と DNA コンピューティング”, 情報管理(JST), vol. 60, no. 9, pp. 629–640 (2017). 査読無
 - [4] Satoru Yoshida, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe, “Compartmentalized spherical collagen microparticles for anisotropic cell culture microenvironments”, Advanced Healthcare Materials, vol.6, 1601463 (2017). doi:10.1002/adhm.201601463. 査読有
 - [5] Shoya Yasuda, Masayuki Hayakawa, Hiroaki Onoe, Masahiro Takinoue, “Twisting microfluidics in a planetary centrifuge”, Soft Matter, vol.13(11), 2141–2147 (2017). doi:10.1039/C6SM02695H. 査読有
 - [6] Masayuki Hayakawa, Hiroaki Onoe, Ken H. Nagai, Masahiro Takinoue, “Influence of asymmetry and driving forces on the propulsion of bubble-propelled catalytic micromotors”, Micromachines, vol.7, 229 (2016). doi:10.3390/mi7120229. 査読有
 - [7] Satoru Yoshida, Masahiro Takinoue, Eiji Iwase, Hiroaki Onoe, “Dynamic transformation of self-assembled structures using anisotropic magnetized hydrogel microparticles”, J. App. Phys., vol.120, 084905 (2016). DOI: 10.1063/1.4961422. 査読有
 - [8] Satoru Yoshida, Masahiro Takinoue, Eiji Iwase, Hiroaki Onoe, “Dynamic transformation of self-assembled structures using anisotropic magnetized hydrogel microparticles”, J. App. Phys., vol.120, 084905 (2016). DOI: 10.1063/1.4961422. 査読有
 - [9] Satoru Yoshida, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe, “Vertically Separated Anisotropic 3D Collagen Microchamber Array”, Proc. microTAS, pp.7–8 (1A1-3), (2016). 査読有
 - [10] Masamune Morita, Hitoyoshi Yamashita, Masayuki Hayakawa, Hiroaki Onoe, Masahiro Takinoue, “Capillary-based Centrifugal Microfluidic Device for Size-controllable Formation of Monodisperse Microdroplets”, J. Vis. Exp., 108, e53860 (2016). DOI: 10.3791/53860. 査読有
 - [11] Masayuki Hayakawa, Hiroaki Onoe, Ken H. Nagai, Masahiro Takinoue, “Complex-shaped three-dimensional multi-compartmental microparticles generated by diffusional and Marangoni microflows in centrifugally discharged droplets”, Sci. Rep., vol. 6, 20793 (2016). DOI: 10.1038/srep20793 査読有
 - [12] Haruka Sugiura, Manami Ito, Tomoya Okuaki, Yoshihito Mori, Hiroyuki Kitahata, Masahiro Takinoue, “Pulse-density modulation control of chemical oscillation far from equilibrium in a droplet open-reactor system”, Nature Commun., vol.7, 10212 (2016). DOI: 10.1038/ncomms10212 査読有
 - [13] Masamune Morita, Hiroaki Onoe, Miho Yanagisawa, Hiroaki Ito, Masatoshi Ichikawa, Kei Fujiwara, Hirohide Saito, Masahiro Takinoue, “Droplet-Shooting and Size-Filtration (DSSF) Method for Synthesis of Cell-Sized Liposomes with Controlled Lipid Compositions”, ChemBioChem, vol. 16, no. 14, pp. 2029–2035 (2015). DOI: 10.1002/cbic.201500354 査読有
 - [14] Hitoyoshi Yamashita, Masamune Morita, Haruka Sugiura, Kei Fujiwara, Hiroaki Onoe, Masahiro Takinoue, “Generation of Monodisperse Cell-Sized Microdroplets using a Centrifuge-Based Axisymmetric Co-Flowing Microfluidic Device”, J. Biosci. Bioeng., vol.119, no.4, pp.492–495 (2015). DOI: 10.1016/j.jbiosc.2014.09.018 査読有
 - [15] Ken H. Nagai, Masayuki Hayakawa, Masahiro Takinoue, “Self-propelled particles with rotationally asymmetric shape”, Curr. Phys. Chem., vol. 5, no. 1, pp. 73–81 (2015). DOI: 10.2174/1877946805999150430123824. 査読有
- [学会発表] (計 104 件)
- [1] 瀧ノ上正浩, “温度冷却過程で油中水滴界面上で生成される DNA マイクロスケルトン構造”, Biothermology Workshop, 招待講演, 12月26日, 2017, 東京大学・本郷キャンパス, 東京
 - [2] 瀧ノ上正浩, “アクティブマテリアル研究とし

- ての人工細胞・分子ロボットの構築”, SMACTIVE マテリアルシンポジウム, 招待講演, 12月14日, 2017, 産業技術総合研究所つくば中央第二事業所, 筑波
- [3] 瀧ノ上正造, “細胞サイズの液滴界面でのDNAゲルの自己組織化とマイクロ相分離”, 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017), 招待講演, ワークショップ: 「サイズ」で斬る分子細胞生物学, 12月8日, 2017, 神戸ポートアイランド, 神戸
- [4] Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Formation of DNA micro-skeleton structures in water-in-oil microdroplets”, The 21th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (microTAS 2017), Oral, No.2C3-2, Oct. 22-26, 2017, Savannah International Trade & Convention Center, Georgia, USA.
- [5] Risa Watanabe, Masamune Morita, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Construction of artificial cell nuclei with RNA transcription capability using a microdroplet interface”, 2nd Japan-Korea International Symposium on Cyborgnics: Integration between cell and electronics, Poster presentation, Sep. 21-23, 2017, Ryotiku Bettei, Beppu City, Oita
- [6] Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Generation of higher-order self-assembled DNA microstructures inside water-in-oil microdroplets”, 19th IUPAB congress & 11th EBSA congress, P735:B84, July 19, 2017, Edinburgh International Conference Centre, Edinburgh, UK
- [7] 瀧ノ上正造, “DNAゲルマイクロカプセルのマイクロパターン形成の物理と分子ロボット工学への応用”, 第78回応用物理学会秋季学術講演会, 招待講演, シンポジウム: 最新動向: 生体材料と先端デバイスをつなぐ学際的アプローチ, 9月5日, 2017, 福岡国際会議場, 福岡
- [8] Masahiro Takinoue, “Microfluidic droplet reactor for artificial/living cellular systems”, 第54回日本生物物理学会, 招待講演, シンポジウム: 多細胞合成生物学, 11月25-27日, 2016, つくば国際会議場, 茨城
- [9] Satoru Yoshida, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe, “Vertically Separated Anisotropic 3D Collagen Microchamber Array”, The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (microTAS2016), Oral, No.1A1-3, Oct. 9-13, 2016, Convention Center Dublin, Dublin, Ireland.
- [10] Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Self-assembly of DNA microstructures on a cationic lipid interface of water-in-oil microdroplet”, The 22nd International Conference on DNA Computing and Molecular Programming (DNA22), Poster, No.P51, Proceedings p. 112, Sep. 4-8, 2016, Ludwig-Maximilians-Universität (LMU), Munich, Germany
- [11] 瀧ノ上正造, “バイオソフトマターのマイクロ制御による分子ロボティクス”, 理研シンポジウム「細胞システムの動態と論理 VIII」, 招待講演, 4月14-15日, 2016, 理化学研究所 (和光), 埼玉
- [12] Masahiro Takinoue, “Microfluidic construction of artificial cell-like reactors”, The Pittsburgh Conference & Exposition (Pittcon) 2016, Invited Talk, March 6-10, 2016, Georgia World Congress Center, Atlanta, Georgia, USA
- [13] Satoru Yoshida, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe, “Anisotropic Spherical Collagen Microparticles for Confined 3D Cell Culture System with Spatially-designed Microenvironment”, The 29th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2016), January 24-28, 2016, Shanghai International Convention Center, Shanghai, China.
- [14] Masahiro Takinoue, “Droplet-based microfluidic technologies for artificial cell-like models and molecular robotics”, Dec. 15, 2015, Invited Talk, Institute of Pierre-Gilles de Gennes for microfluidics (IPGG), Paris, France
- [15] Masamune Morita, Masahiro Takinoue, “Microfluidic synthesis of giant liposomes for the study of artificial cells”, 1st Workshop on Synthetic Natural Systems in European Conference of Artificial Life (ECAL), Jul. 20-24, 2015, Invited Talk, York University, York, UK
- [16] Shoya Yasuda, Masayuki Hayakawa, Hiroaki Onoe, Masahiro Takinoue, “Generation of Multi-helical Microfibers and Marble Microbeads using Orbital-rotation and Axial-spin Centrifuge”, The 19th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (microTAS 2015), Poster, No.W.288e, Oct. 25-29, 2015, Hwabaek International Convention Center, Gyeongju, Korea
- [17] Satoru Yoshida, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe, “Dynamic structural transformation of self-assembled hydrogel microparticles under periodically-changed magnetic field,” The 18th International Conference on Solid-State Sensors Actuators and Microsystems, Jun. 21-25, 2015, Anchorage, USA.
- [18] Masamune Morita, Masahiro Takinoue, “Synthesis of Monodisperse Micro-Droplets Controlled by Co-Flowing Liquid Streams in Glass-Capillary Based Microfluidic Device”, Physics of Structural and Dynamical Hierarchy in Soft Matter, Poster no. P11, March 16-18, 2015, Institute of Industrial Science, Univ. of Tokyo, Japan.
- [19] Masamune Morita, Hiroaki Onoe, Miho Yanagisawa, Kei Fujiwara, Hirohide Saito, Masahiro Takinoue, “The Rapid Synthesis Of Cell-Sized Liposomes By Centrifuge-Based Microfluidic Device”, The 18th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences

(microTAS 2014), Oral, Oct. 26-30, 2014, San Antonio, USA

- [20] 瀧ノ上正浩, “マイクロ流体の非平衡現象制御による分子ロボット・人工細胞の構築”, 第9回 CIMoS セミナー, 招待講演, 7月4日, 2014, 自然科学研究機構 分子科学研究所 協奏分子システム研究センター, 岡崎, 愛知

〔図書〕(計 3 件)

- [1] 瀧ノ上正浩, “人工細胞の創製とその応用 (Promising Construction and Applications of Artificial Smart-Cells)”, 第2章人工膜創製技術: 第5節バイオソフトマターの物理工学に基づく非平衡開放系の人工細胞の構築と制御, シーエムシー出版, (2017/01/31), 215 ページ, ISBN 978-4-7813-1233-0
- [2] 栗村朋, 市川正敏, 瀧ノ上正浩, 第5章第6節 静電位によって駆動される微小水滴, 材料表面の親水・親油の評価と制御設計, テクノシステム, (2016/07/27), 600 ページ, ISBN 978-4-924728-76-9
- [3] 瀧ノ上正浩・他 (共著), 分子ロボティクス研究会 (編), “DNA 分子デザインのすべて〜BIOMOD 虎の巻(2016 年度版)”, CBI eBook Series No. 2, 情報計算化学生物学会 (CBI 学会) 出版, (2016/04/15), 224 ページ, ISBN 978-4-9903708-9-3

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 4 件)

名称: マイクロビーズ及びその製造方法
発明者: 尾上弘晃, 吉田 悟, 瀧ノ上正浩
権利者: 学校法人慶應義塾
種類: 特許
番号: 特願 2015-210971
出願年月日: 2015 年 10 月 27 日
国内外の別: 国内

名称: 異方性ハイドロゲル、マイクロビーズ、マイクロビーズの製造方法、足場及び足場の製造方法

発明者: 吉田 悟, 尾上弘晃, 瀧ノ上正浩
権利者: 吉田 悟, 尾上弘晃, 瀧ノ上正浩
種類: 特許
番号: 特願 2016-198973
出願年月日: 2016 年 10 月 07 日
国内外の別: 国内

○取得状況 (計 1 件)

名称: 液滴製造デバイス、液滴の製造方法、リポソームの製造方法、固定具及び液滴製造キット
発明者: 瀧ノ上正浩, 森田 雅宗, 山下仁義
権利者: 東京工業大学, 凸版印刷株式会社
種類: 特許
番号: 特許第 6031711 号
取得年月日: 平成 28 年 11 月 4 日
国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.takinoue-lab.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瀧ノ上 正浩 (TAKINOUE, Masahiro)
東京工業大学・情報理工学院・准教授
研究者番号: 20511249

(2) 研究分担者

尾上 弘晃 (ONOE, Hiroaki)
慶應義塾大学・理工学部・准教授
研究者番号: 30548681

原 雄介 (HARA, Yusuke)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・研究グループ長
研究者番号: 90452135

森田 雅宗 (MORITA, Masamune)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究員
研究者番号: 90708504

(3) 連携研究者

永井 健 (NAGAI, Ken)

北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教
研究者番号: 40518932

(4) 研究協力者

なし