

研究課題別 事後評価結果

1. 研究課題名: ATP 駆動型ソフト&ウェット運動素子の開発と応用

2. 研究代表者: 龔 劍萍 (北海道大学 大学院理学研究科 教授)

3. 研究内容及び成果

本研究は、アクチンやミオシンの自己組織化を利用しながら人工的に再構築することで、ATP 駆動型のソフト&ウェット運動素子を実現することを目的とした。ここで提案しているゲル運動素子は、ミオシン分子とアクチン分子を基本構成材料とするためATP酵素反応やエネルギー変換機能といった生物由来の特徴を本質的に備えている。その上、人工的に高次構造化やスケールアップ化、化学架橋を行っているため、生体機械と同じようなエネルギー効率や柔軟性を有すると同時に、熱的、機械的、化学的に安定であるという利点を持ち併せている。本研究目標が実現すれば、これまで実現されたことのない ATP の化学エネルギーで駆動する人工ソフト&ウェット型の運動素子を作製することができ、生体適応性ソフトマニピレータやソフトアクチュエータへの応用が可能となる。

以下、研究成果の概要をまとめる。

1) アクチンファイバーの 3 次元自己組織化を制御し、ゾルーゲル変換型運動素子を設計

これまでの研究の中で、ホタテ貝から抽出した筋肉タンパク質であるアクチンがポリL-リジン等のポリカチオンとの静電的相互作用により巨大アクチンコンプレックスを形成することを発見し、カチオン種によってその形状が異なることも明らかになっていた。そこで本研究では、様々なカチオン性直鎖高分子やゲル表面とアクチンの 3 次元自己集合挙動を明らかにするとともに、ゲル表面のマイクロパターン化や光イオン化等の手法を使い、アクチンの自己組織化を制御することを試みた。ポリカチオンと共存塩の濃度変化等の検討を行った結果、アクチンとポリカチオンのコンプレックスの長さは核の数、太さは反発力と結合力のバランスによって決まることが判明した。この集合体を形成するメカニズムを透過電子顕微鏡 (TEM; Transmission Electron Microscope) 等で調べ、その実験結果からアクチンバンドルの成長に関して異方的核形成および成長モデルを提案した。

また、3 次元 TEM 法を用い、これらアクチンバンドルの 3 次元構造を検証した。その結果、アクチンとポリカチオンの静電的相互作用のみならず、カチオン種によるアクチンに対する特異的相互作用力 (カチオンに対するアクチン上の特異的相互作用部位の存在、疎水性相互作用力等) の大きさの違いも 3 次元構造の形成に対して影響をおよぼすと考えられた。これら 3 次元物質形成に関する知見は、一般の高分子ゲルの調製に役立つものである。

2) アクチン・ミオシン筋肉タンパク質の再構築過程を制御し、様々な集合体構造を作り出すとともに、構造と筋肉タンパク質ゲルの運動特性の相関を解明 (アクチン・ミオシン運動系)

アクチンゲルは、ミオシン上で自然状態のアクチンに比べて速く直線的に運動することが

わかっている。そこで種々のポリカチオンを相互作用させて形成したアクチンゲルを運動させたところ、全てのアクチンゲルが運動した。この運動性についてポリカチオンの化学種の影響を調べた結果、主鎖に電荷を持つポリカチオンによるアクチンコンプレックスは極性が揃っている割合が小さいために低い運動速度を示すが、側鎖型ポリカチオンによるコンプレックスは極性が揃っている割合が大きいため自然状態アクチンと比べて高い運動性を示すことが明らかになった。これは、アクチンゲル中において多くのアクチンフィラメントが同じ方向に運動することにより、「協同性」が起こっていることを示唆する。

この運動の制御は分子の集合と方向性(並び方)にあり、制御された大きな運動を取り出すには大型分子集合体が必要である。そこで、これらコンプレックス形成モデルを基に、カチオン性高分子である PDMPAA-Q (poly-3-acryloylamino propyl trimethyl ammonium chloride)と濃度勾配を用い相互拡散によりアクチンを混合し、アクチンとポリカチオンから形成されたコンプレックスの核を局所的に発生させるという手法を用い、コンプレックスの巨大化を試みた。蛍光顕微鏡・および TEM を用いてこのコンプレックスの構造評価を行ったところ、ネットワークを構成するアクチンバンドルの太さは溶液の塩濃度に比例した。一方、ネットワークのメッシュサイズはポリカチオン濃度に反比例し、塩濃度増加に応じて大きくなることが明らかとなった。また、長く成長して枝分かれしたアクチンバンドルからアクチンネットワークが形成されていることが判明した。以上の結果から、マイクロチャネル等による溶液拡散を用いてアクチンコンプレックス形成を時空間的に制御可能であることが明らかになった。

一方、原子間力顕微鏡により巨大ネットワークの物性を評価したところ、弾性率とメッシュサイズを掛け合わせた値とバンドル太さ比例関係が見られた。以上の知見を活用して非対称的拡散場を用いることにより、生体内に比べてはるかに希薄なアクチン溶液中で、機械的に安定な強度を持つ巨大ネットワークを得た。これはナノメートルサイズ分子からミリオーダー組織体を設計する指針となる。

3) 集合体形成の知見を用い、運動制御可能なゲル運動素子を設計・作製(微小管キネシン運動系)

アクチンは、カチオン性高分子を導入することで比較的極性の揃った集合体を形成し、モータータンパクであるミオシンとの相互作用により約 $1 \mu\text{m}/\text{sec}$ の速さで運動することがわかっている。しかし、ミオシンモーターの逐次前進性(プロセスビリティ)が低いことや、最大発生力が 1pN 程度とそれ程大きくないことから、その動力機能をいかに利用するかが大きな課題であった。そこで、高出力かつ高いプロセスビリティを有する分子機械である「微小管・キネシン系」に着目し、*in vitro* で秩序立てて再構築することでより実用可能な ATP 駆動型アクチュエータの作製を目指した。

運動性の高い微小管の集合体を形成するために、微小管の高い剛直性を活かし、基板に固定したキネシンモーターの上を微小管が滑り運動している中で巨大化させるという方法を採用した。微小管にビオチンを修飾し、ビオチンと特異的に結合する四つのサイトを持つストレプトアビジンをキネシン上で運動させた状態で添加することにより、方向性の揃った微小管

束の形成を試みた結果、微小管同士が結合して巨大化する様子が観察された。このように微小管-キネシンを用いることでアクチン-ミオシン系とは異なる特色を持つ新規アクチュエータの作製に成功した。また、マイクロチャネルを用いて微小管とポリカチオンを相互作用させることにより構築した数 mm におよぶ等方的な三次元ネットワークに化学エネルギーである ATP を導入すると、ネットワークが配向方向に滑り運動を発現した。これはネットワークがある極性をもって再構築されていることを示すものである。

以上のように生体の筋肉で未解決の問題である分子モーターによる滑り運動の機構、階層構造の役割、収縮の協同性等を新しい視点から解決できる方法を生み出した。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

期間中の外部発表、特許等の実績を示す。

発表論文: 11 件

口頭発表: 29 件

特許出願: (国内) 1 件

アクチンやミオシンといった生体分子を巧みに用いたナノバイオマシンの作製に関する基礎研究として、非常に高く評価できる結果である。材料開発の視点を生体分子系に取り入れることで新しい知見が得られており、特にアクチンの巨大自己組織化による配向制御等やそれに伴う運動性のコントロール等、将来の実用性も含め、インパクトは大きい。今後も、筋肉をはじめとする生命現象の理解につながる人工モデルの作製研究に期待したい。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

生物と無生物を比較すると、生物には極めて効率的な動力システムがあり、そのシステムを構成する主要成分はアクチンやミオシンと呼ばれるタンパク質分子である。そこでは ATP をエネルギー源とし、それを加水分解することで生じる化学エネルギーを直接力学エネルギーに変換している。本研究、これらのタンパク質を高分子で加工(自己組織化)してゲル化させ、ATP を用いて運動を組織化することに成功した。分子モーターに関する研究は世界的に実施されているが、高分子材料化学の観点からのアプローチは独創的であり、ナノレベルのバイオマシンに関する研究としてレベルは非常に高く、本研究で得られた知見は将来の展開につながるものと思われる。力学特性の吟味に時間を要することが推察されるが、生体の筋肉等の運動に関する理解につながると考えられ、応用面のみならず学問的意味においても期待値の高い研究と評価出来る。

4-3. その他特記事項(受賞歴等)

龔 劍萍 高分子学会賞 平成 17 年 5 月