

筋肉タンパク自己組織化ゲルによるソフトナノマシンの創製

「組織化と機能」領域 龔 劍萍

要 旨

本研究において、筋肉蛋白のアクチンとミオシンをホタテから取り出し、それぞれ自己集合させながら化学架橋をすることでナノメータからマイクロメータのソフト&ウェットなゲルを作ること成功した。このように人工的に再構築されたアクチンゲルとミオシンゲルがATPを加えながら相互作用をさせることで、滑り運動を示すことを明らかにした。さらに、これらの筋肉蛋白ゲル間の運動速度や直線性がアクチンフィラメントやミオシンフィラメントの配向性と強く相関していることを明らかにした。本研究によって、人工的に再構築したアクチンとミオシンは、生体中と同様、ATPに対して応答する能力を有し、運動素子として利用できることを始めて解明した。

I. 研究の狙い

ゲルによるソフトマシンの開発が契機となって世界的にもソフト&ウェットマシンへの関心が集まるようになってきた。これというのも高効率や柔軟性、低摩擦や環境適合性さらには生体適合性を満足しうる新しいシステムの需要が高まってきたことにある。そこで最も注目を浴びているのが、生物のシステムである。なぜ生物はあれほどまでに滑らかに運動を発現し、そして外部からの応力に対ししなやかに対応できるのだろうか。この生物の様な運動システムを作成するためには生物類似材料の開発とそれに運動機能を付与することが必須である。

本研究は筋肉蛋白のアクチンとミオシンを基本 Building Block として使い、人工的に再構築した自己組織化筋肉蛋白ゲルを用いて、熱揺らぎ程度のエネルギーで駆動するソフトナノマシンの実現を目標とする。具体的にはアクチンとミオシンをホタテから取り出して、それぞれ自己組織化と化学架橋によって、アクチンゲルとミオシンゲルを得る。この二つのゲルを2次元的に接触させ、ATPを添加することで運動を実現させることである。さらには、アクチン集合体やミオシン集合体の構造と運動特性の関係を明らかにし、運動制御が可能なソフトナノマシンの製作に挑む。

本研究は生物由来のミオシン分子、アクチン分子を化学修飾することにより、高次機能および熱的、機械的、化学的安定性を付与し、同時に生体機械と同様のエネルギー効率を有するソフトマイクロマシンの創出を目指す。

II. 研究成果と考察

1) 筋肉タンパクを用いたゲルバイオマシンの設計および作成

機能性高分子複合体である筋肉を1分子レベルまで分解することで得られる蛋白質分子-アクチン・ミオシン-をそれぞれ自己組織化させながら化学架橋することで再構築型ゲル



図1 アクチン-ポリカチオンのコンプレックス形成による巨大アクチンバンドル。

バイオマシンの作成を試みた。アクチンがカチオン性ポリマーの導入により様々な形状（ワイヤー状・ファイバー状・リング状）を有した数十マイクロメートルまでの巨大コンプレックスを形成することを明らかにした（図1）。

その巨大コンプレックスのサイズやモルフォロジーはカチオン性ポリマーの化学構造に依存することも解明した。主鎖型のポリカチオンに比べ、側鎖に荷電するポリカチオンはアクチンとより細長い巨大コンプレックスを形成することを明らかにした。

ミオシンは自己組織化と同時にシェアストレスを印加することにより分子レベルの配向構造をもった数百マイクロメートルほどのファイバーを形成することがわかった（図2）。

その配向性は印加するシェアストレスの強さを変化させることで制御可能である。このようにして再構築された筋肉タンパクを化学的に架橋することで巨大アクチンゲルおよびミオシンゲルが得られ、これをゲルバイオマシンの運動素子とした。

2) ゲルバイオマシンの生理学的キャラクターゼーション

このように人工的に再構築されたミオシンゲルは筋肉タンパク特有の生理活性(ATPase活性)を保持しており、ミオシンゲル上においてNativeのアクチンが滑り運動をすることを明らかにした（図3）。さらに、ミオシンゲル上でのアクチンの最大滑り運動速度はミオシンゲルの ATPase 活性に比例することを明らかにした。

3) ゲルバイオマシンの運動発現と運動制御

さらに配向ミオシンファイバーゲル上で、種々のポリカチオンにより作成した巨大アクチンゲルの滑り運動発現に成功した（図4）。ネイティブアクチンに比べ1.3倍も速く滑り運動する巨大アクチンゲルの作成にも成功している。さらにネイティブアクチンの平均移動距離（L）は観測時間（タイムスケール）の1/2乗に比例するのに対し巨大アクチンゲルはほぼ1乗に比例することから非常に高い運動方向性を有していることを解明した。

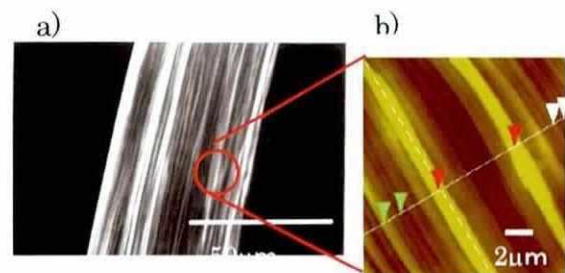


図2 配向ミオシンゲルの作成法。流れによるシェアをかけながらミオシンをEDCで架橋する。a)は得られた配向ミオシンゲルのSEM像。ミオシンのマイクロメートル単位での配向が確認できる。b)は配向ミオシンゲルの一部をAFMで拡大観察した像。ミオシン配向の間隔は数マイクロメートルであることがわかる。

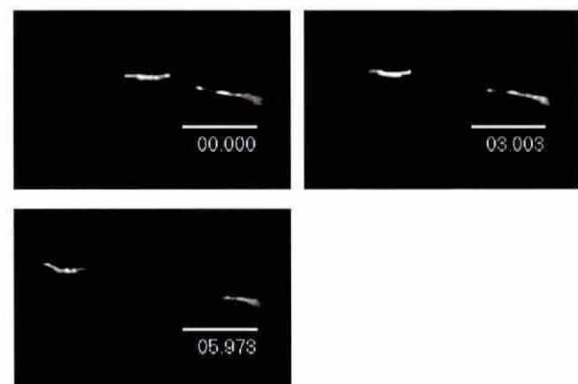


図3 ミオシンゲル上での巨大アクチンの運動発現。測定開始(0秒)から3秒、6秒後の状態を示す。巨大アクチンが画面右から左へ運動する様子がわかる。

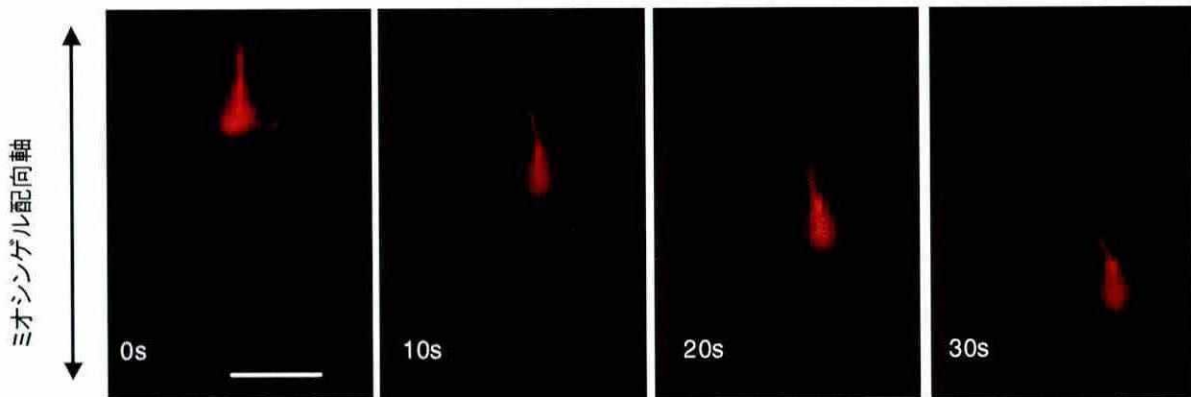


図4 配向ミオシンゲル上での運動発現。巨大アクチンがミオシンゲルの配向軸に沿って直線的に運動する様子がわかる。

4) ゲルバイオマシンの運動特性と集合体の構造との相関性

巨大アクチンゲル中の F-アクチンには極性を示すミオシンヘッド (HMM) 由来のやじり構造が観察された (図5)。F-アクチン同士の極性は巨大アクチンゲルの作成の際に導入するカチオン性ポリマーの種類で変化し、側鎖型ポリカチオンでは極性の高いコンプレックスを、主鎖型ポリカチオンでは低い極性をもつことを明らかにした。さらに巨大アクチンゲルの運動性は巨大アクチンゲルの極性と非常に強い相関をもち、極性が高いほど運動速度が上昇することを明らかにした (図6)。

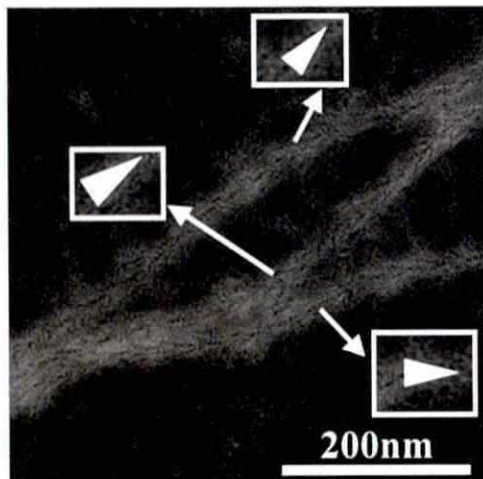


図5 アクチンゲルの極性観察。
矢印は観察されたやじりの向きを表す。

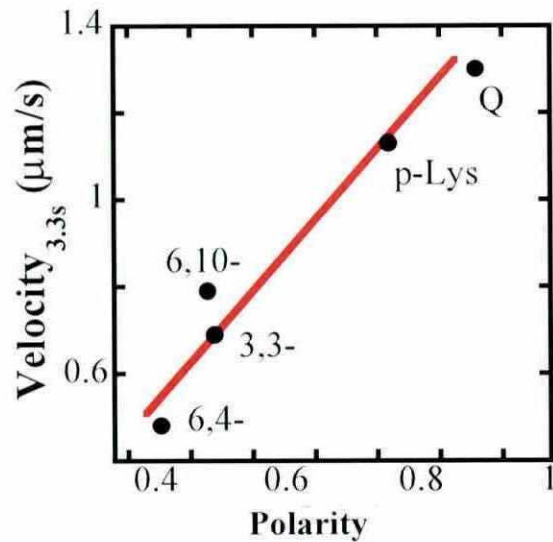


図6 アクチンゲルの極性と運動速度の関係。
横軸は観察されたやじり構造が同じ方向に揃う割合、縦軸はミオシン上でのアクチン運動の速度である。図中の文字表記は使用したポリカチオンの種類を表す。

III. 今後の展望

筋肉蛋白アクチンとミオシンを基本 Building block として使い、人工的に再構築し、ATP 駆動型ゲルマシンの発想と試みはこれまでに例がなく、世界で始めてである。そのため、このように構築した筋肉蛋白ゲルが高い生理活性を保ち、ATP で動いた研究成果を *Advanced Material* 誌で発表されてから、*Nature* 誌の *Science Update* やフランスの科学雑誌(*Sciences Avenir*)に紹介されるほど世間に大きな着目を集めた。

本研究のようなナノ・メゾスコピックのゲルマシンについての研究は、これまでに筋肉で未解決の問題であるミオシン・アクチンすべり運動の機構、階層構造の役割、収縮の協同性などを新しい視点から解決の糸口を得られるものである。筋肉蛋白の集合体が個々のものより高い運動性を示すことが階層構造創発 (Emergence) に帰因するものと考えられる。

本研究により、これまで実現されなかった ATP エネルギーで駆動する人工ソフトマシンの創製、及び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の応用が期待される。これらの成果はナノバイオニクス産業への発展に画期的な材料革命となり得る可能性を秘めている。

発表論文

- 1) A. Kakugo, S. Sugimoto, K. Shikinaka, J. P. Gong, Y. Osada, "Characteristics of Chemically Cross-linked Myosin Gels", *J. of Biomater. Sci.*, in press.
- 2) A. Kakugo, K. Shikinaka, K. Matsumoto, J. P. Gong, Y. Osada, "Growth of Large Polymer-Actin Complexes", *Bioconjugate Chem.* 14,1185-1190(2003).
- 3) J. P. Gong, Y. Katsuyama, T. Kurokawa, Y. Osada, "Double Network Hydrogels with Extremely High Mechanical Strength", *Advanced Materials*, 15,1155-1158(2003).
- 4) T. Kurokawa, J. P. Gong, Y. Osada, "Substrate Effect on Topographical, Elastic, and Frictional Properties of Hydrogels", *Macromolecules*, 35, 8161-8166(2002).
- 5) A. Kakugo, S. Sugimoto, J. P. Gong, Y. Osada, "Nanoactuators built of covalently bound myosin and actin gel fibers", *Advanced Materials*, 14, 1124-1126(2002).

その他

- 1) "Muscle artificial enkit" *SCIENCE ET AVENIR* p20 Oct, 2002 (France の雑誌).
- 2) "Building up some muscle", Artificial muscle made from natural building blocks, *Nature*, Science update, 16, Aug, 2002.
- 3) 「動物たんぱくで人工筋肉作製」, 日経産業新聞, 2003 年 5 月 28 日。