

課題番号 : F-16-KT-0096  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名(日本語) : 細胞内物質導入の基礎研究  
Program Title (English) : Study on introducing extracellular materials into cell  
利用者名(日本語) : 横川 隆司  
Username (English) : R. Yokokawa  
所属名(日本語) : 京都大学大学院工学研究科  
Affiliation (English) : Kyoto University

## 1. 概要(Summary)

細胞内の物質輸送や有糸分裂において、モータタンパク質であるキネシンやダイニンが複数寄与していることが知られている。しかし、*in vivo* では非常に多くのモータタンパク質と微小管が運動に関わっておりそのまま特性を評価することは困難である。そこで、複数のモータタンパク質による運動を *in vitro* で基板上に再構築することでその運動評価をおこなうことが、本研究の目的である。ここでは、キネシンを配置するためのナノピラーアレイの製作をおこない、キネシン分子の間隔を制御する手法を検討した。

## 2. 実験(Experimental)

### ・利用した主な装置

- A1 高速高精度電子ビーム描画装置
- A15 大面積超高速電子線描画装置
- B26 ナノインプリントシステム

### ・実験方法

Si ウェハ上に電子線レジストを塗布し、電子線描画装置により直径 50-100 nm, 間隔 300-500 nm のナノピラーパターンを描画した。従来、A1 高速高精度電子ビーム描画装置では一日に数枚しか描画することができなかったが、A15 大面積超高速電子線描画装置を利用することで 1-2 時間で同数の基板を描画することができるようになった。バイオアッセイにおいては、毎回新しい基板を必要とするためこのようにデバイス作製のスループットが改善することは研究の推進に大きく貢献する。

この金のピラー構造を作製した基板を用いてフローセルを作製して、タンパク質の固定、アッセイ実験をおこなった。Self-Assembled Monolayer (SAM)を用いて金にはキネシン分子を付加し、シリコン基板上はタンパク質の非特異吸着を防止した。その後、微小管運動を観察した。

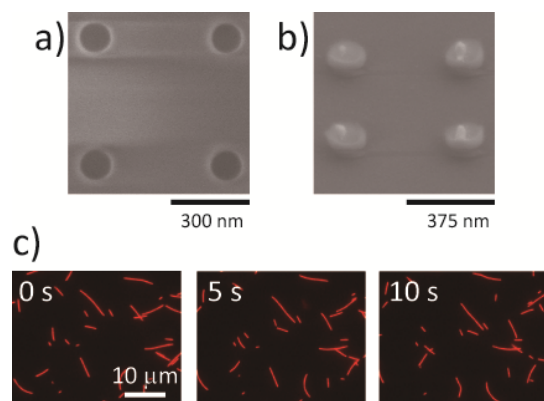


Fig. 1 SEM images of a) EB resist pattern and b) Au nanopillars. b) Microtubules driven by kinesin motors.

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

Fig. 1a にレジスト構造, Fig. 1b に金のピラー構造の SEM 写真を示す。設計値は直径 100 nm, 間隔 500 nm であった。この基板を用いて微小管の運動アッセイをおこなった様子を Fig. 2 に示す。現在運動速度の解析をおこなっており、分子数や分子間隔の依存性を評価したい。

## 4. その他・特記事項(Others)

特になし。

## 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) T. Kaneko, S. Ando, H. Shintaku, H. Kotera, R. Yokokawa, "Patterning of Kinesin Molecules on Au Nano-Pillars by Selective SAM Coatings," 29th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2016), 11D-9-2, Kyoto, Japan, November 8-11, 2016, 2016.
- (2) T. Kaneko, H. Shintaku, H. Kotera, R. Yokokawa, "Nano- Patterning of Motor Proteins to Control Number of Kinesin Molecules Transporting a

Single Microtubule," The 30<sup>th</sup> IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS2017), pp. 53-56, Las Vegas, USA, 2017.

6. 関連特許(Patent) なし.