

課題番号	: F-17-KT-0176
利用形態	: 機器利用
利用課題名(日本語)	: 生体分子, 細胞, 組織操作のためのマイクロ・ナノデバイス開発 III
Program Title(English)	: Micron/nano devices for engineering of biomolecules, cells and tissues III
利用者名(日本語)	: 金子泰洗ポール, 横川隆司
Username(English)	: T. Kaneko, R. Yokokawa
所属名(日本語)	: 京都大学大学院工学研究科マイクロエンジニアリング専攻
Affiliation(English)	: Department of Micro Engineering, Kyoto University
キーワード/Keyword	: 電子線描画, 分子パターンニング, モータタンパク質, キネシン, 協働性評価

1. 概要(Summary)

モータタンパク質であるキネシンやダイニンは, ATP の化学エネルギーを運動エネルギーに変換することで, 細胞内の物質輸送や有糸分裂に寄与している. この際, 複数分子のモータタンパク質が協働することで, 1 分子で作用するよりも大きな速度や力を発揮できることが知られている. 協働するためには荷物に結合するモータタンパク質の分子配置と分子数が重要であると考えられているが, これらを実験において制御することは困難であり, 協働性について理解が進んでいなかった. そこで本研究では, キネシンの分子パターンニングをおこなうことで分子配置と分子数を規定することを目的とし, これらがキネシンの協働性に与える影響を評価した.

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

A15 大面積超高速電子線描画装置

【実験方法】

Si 基板に電子線レジストを塗布し, A15 大面積超高速電子線描画装置により直径 50 nm, 間隔 200–1000 nm のナノピラーパターンを描画した. 4 インチの Si ウエハにピラーのパターンを 24 チップ分描画し, ダイシングにより切り出すことで, 高スループットかつ低コストでナノピラー基板を作製することができた. また, ウエハへ描画している最中に電子線ビームのフォーカスがずれて良好なパターンが得られないという問題が発生した. しかしプラットフォームの専門職員と描画装置のメーカーの連携により, プロセスの改良と装置のバージョンアップをおこなうことで問題を解決することができた.

ピラーパターンの現像後, 金の蒸着およびリフトオフのプロセスをおこなうことで, 金のナノピラーアレイを得た. シリコン基板上にタンパク質の吸着を抑制する

Polyethylene glycol (PEG)を選択的にグラフトした. フローセルを構築して, 金ピラーにビオチン-アビジンの特異的結合によりキネシンを選択的に固定した. キネシンは, kinesin-1とNcdの2種類をそれぞれパターンニングした. その後, 微小管と ATP の混合溶液を導入して, パターンニングされたキネシン上での微小管の運動を観察した.

3. 結果と考察(Results and Discussion)

Fig. 1a にパターンニングされた kinesin-1 上で運動する蛍光微小管の顕微鏡像を示す. 微小管は特定の方向を向いており, その方向はピラーの配置と一致した (Fig. 1b). これは, キネシン分子が金ピラー上にのみ存在していることを示している. またモータ分子数が微小管速度に与える影響を評価したところ, kinesin-1 は影響されず Ncd はモータ数が大きくなると速度が低下した. これは, モータの種類によって協働性が異なることを示唆している.

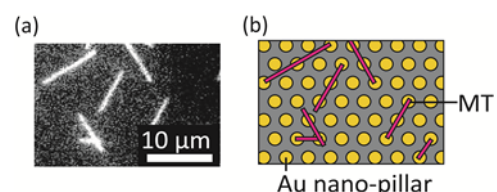


Fig. 1 Microtubules gliding on patterned kinesin-1. (a) Fluorescence image. (b) Schematic illustration of (a).

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. Ohba, K. Furuta, K. Oiwa, H. Shintaku, H. Kotera and R. Yokokawa, “Development of a nano-patterning of kinesins to control the number and arrangement of

motors by combining Au nano-pillars and SAM”,
The 55rd Annual Meeting of the Biophysical
Society of Japan, 2017.

6. 関連特許 (Patent)

なし.