

2 バイオ材料の知に学ぶ

2 Learn from Intelligence in Biomolecule System

2-1 タンパク質でできた分子モーターを創る・観る・使う

2-1 Creating, Measuring, and Using Molecular Motors Made of Proteins

指宿良太 古田 茜 古田健也

IBUSUKI Ryota, FURUTA Akane, and FURUTA Ken'ya

現代では情報ネットワークが扱う情報量が日々増え続けており、情報通信関連が占める電力消費の問題が顕在化しつつある。対案として、生体分子を用いて計算を行うなど、生物の圧倒的に優れた省エネ戦略に学ぶ研究が盛んになってきているが、従来の生物学の分析的手法だけでは、生体材料を用いてどのような装置を設計・構築すればこのような情報処理を実現できるのかを明らかにすることは原理的に難しい。このような場合、リバースエンジニアリングのように、類似物を繰り返し作っては動かして観察するような構成的手法が効果的である。そこで本稿では、天然の生物分子モーターを改造して DNA 結合能を人工的に付加した様々な分子モーターを構築する取組を簡単に紹介する。将来的にはこれを駆動部品として様々なトポロジーを持つサーキット上で動作させることにより、分子による新しいアーキテクチャを持つ計算機を提案したい。

Today, the amount of information handled by communications technology continues to grow every day, and the problem of the energy consumption is becoming apparent. In response, a number of recent studies have appeared focusing on superior energy-saving strategies of living organisms, including the development of biomolecular computers. However, conventional analytical methods of biology alone are not sufficient to unveil how to construct such devices from biomaterials. Rather, it would be effective to build many analogues of naturally occurring biomachines and to see what happens, as in reverse engineering processes. Here, we briefly review our recent efforts focusing on the development of artificial DNA-binding motors. The motors were extensively engineered from a natural protein motor to add DNA-binding capability and thus to walk on DNA tracks with diverse topologies. Using such a motor as a driving element, we aim to propose a molecular computer with completely new architecture.

1 まえがき

現代では途上国にもスマートフォンが普及し、インターネットなどの情報ネットワークが扱う情報量が日々増え続けている。科学技術振興機構が作成したレポート [1] によると、2019 年現在、情報通信関連が占める電力消費は、世界の電力消費の 1.3 % と試算されている。今後、動画などの大きなデータを気軽にやり取りすることが日常的になってくると予想されており、この傾向は 2019 年に発生した新型コロナウイルスの影響で更に加速するだろう。したがって、マイクロプロセッサの処理能力がいくら向上しても、それを上回る勢いで取り扱う情報量が増えていくと予想される。

このままで行くと、例えば 2050 年には情報通信関連だけで世界の総エネルギー供給量を超えてしまうという予測もされている [1]。何らかの抜本的な対策が必要であることは明らかである。

対案として、生体分子を用いて計算を行うなど、生物の省エネ戦略に学ぶ研究が盛んになってきている [2]-[6]。例えば DNA の遺伝暗号を用いて、巡回セールスマン問題などのように組合せ爆発を伴う計算を多数の DNA 分子を用いた並列計算によって行わせる DNA コンピューティングは、2000 年代に一時ブームになった。しかしその後、DNA が水溶液中で反応する柔らかいポリマーであり、ポリマーの量に限界があるため計算の規模に制限があることや、計算結果を人

間を読める形に変換するためにDNAポリマーを電気泳動という方法で分別して集め、その配列を読み取る必要があることが足かせになっていた。この作業には時間と手間が掛かり、作業自体にもエラーが起こる。したがって、並列計算による時間短縮のメリットを、柔らかいポリマーから答えを読み取ることによるデメリットが上回ってしまうのである。

既存のコンピューターをそのままDNAなどを用いたシステムで置き換えようとする、上記の理由から実用化が難しいのはある意味当然と言える。ただ、生物は既存のコンピューターのような形で計算を行っているわけではないはずだ。どうやって分子と分子の反応による計算結果を取り出し、エラーを訂正しているのだろうか(そもそもどれがエラーでどれがシグナルなのかを分別しているのだろうか)?その答えはまだ得られていない。ただ、生物は「下等」と呼ばれるものであっても、環境情報の集約や仲間との通信・識別、自発的な意思決定など、消費しているエネルギーから考えると信じられないくらい複雑で高度な情報処理を行っていることが分かっている。ディープラーニングなどのアルゴリズムに使うような膨大なエネルギーコストをいちいち支払ってしまうと生物は生き残ることができないので、計算量自体を極めて小さくするような工夫を行っていると考えるのが自然だろう。

この工夫の中身を知るために、従来の生物学では、分析的な手法によって細胞内の分子を根こそぎ同定し、すべての分子の性質を明らかにすることを目指していたが、この手法だけでは、どのように分子ネットワークを設計・構築すれば上記のようなことを実現できるか、という点を明らかにすることは原理的に難しいということが指摘されてきた。このような複雑な系を理解するためには、類似物を作って動かして理解する、という構成的手法が効果的である[7]。ただし、分子ネットワークの類似物を作る、と言っても計算機シミュレーションだけで理解に到達するのは困難である。というのは、上記のような生物の工夫が、物質の柔らかさ、分子認識の曖昧さ、応答の非線形性などに依存している可能性があり、シミュレーションでこれらをどのように仮定すればよいかは現時点で自明ではないからである。やはり、生体材料そのものを用いて「作って理解する」手法を取る必要がある、シミュレーションはその結果を正しく解釈するためにこそ有用である。ただ、生体材料を用いて分子ネットワークを人工的に作るための道具立ては、これまでは十分でなかった。例えばDNAを用いた人工的な分子論理ゲート[8]や、DNAだけで構成されたDNAロボット[9][10]などの分子機械が作られている。しかし、例えばDNAロボットの速度は生物由来の機械と比較して数万分の1であ

るなど性能は非常に低い。したがって、これらを用いて分子ネットワークを作っても、応答が返ってくるまでに余りにも時間が掛かり過ぎるため、実験系としては現実的ではない。

そこで、本稿では、新規分子モーター、つまり、生物が進化の過程で培ってきた高速な分子機械をエンジンとして用い、これにDNA結合能を人工的に付加した高速で高効率な分子機械[11]を駆動部品として、これを様々なトポロジーを持つサーキット上で実際に動作させることにより、分子の分配や濃縮、更には分子による新しい計算機を構成することを目指す取組を紹介する。この取組は、細胞内の分子によって実現されている分子計算機的设计原理を、従来の細胞のイメージングなどの方法ではなく、人工物で構成した「偽物」を作って比較検討する過程で理解することを目的としている。生物が行っている情報処理や「計算」の大部分はまだ謎の部分が多いが、基本的には、外部からのシグナルに反応し、特定の物質を輸送・増幅して、決定を下す、ということの繰り返しである。これらは人工のコンピューターのように、ギガFLOPSのような高速処理は行っておらず、実際、化学反応や分子の構造変化の時間スケールは早くてミリ秒である。つまり、生物の情報処理は一見非常に遅いように見えるが、人工機械を凌駕するくらい高機能かつ省エネである。このようなギャップを理解するためには、現状で理論的な枠組みが無い以上、実際に細胞が使っている装置に似たものを作り、実験を繰り返してこの装置への入力と出力を記録し、得られた数多くの実験データから一定のルールを帰納するような構成的アプローチをとることが突破口となり得る。このような新しい方法は、言わば生物の情報処理システムのリバースエンジニアリングであり、次世代の情報処理に関する理論構築にとって大きなブレークスルーをもたらす可能性があると考えている。

2 天然の生物分子モーターを魔改造する

2.1 天然には存在しない、アクチンフィラメント上を一方方向に動くダイニン型分子モーターを創る

これまでのように、たった一回の進化の歴史の産物である既存の生物分子モーターを分析する研究だけでは、個別の生命活動に適した構造や機能を理解することはできても、ナノメートルスケールにおける一方方向性運動の本質に迫ることは容易ではなかった。この原理を明らかにするためには、既存の生物分子モーターの分析に加えて、単純な機能を持つ要素を組み合わせることによって目的とする機能を創り出すような構成的な研究手法が効果的である。

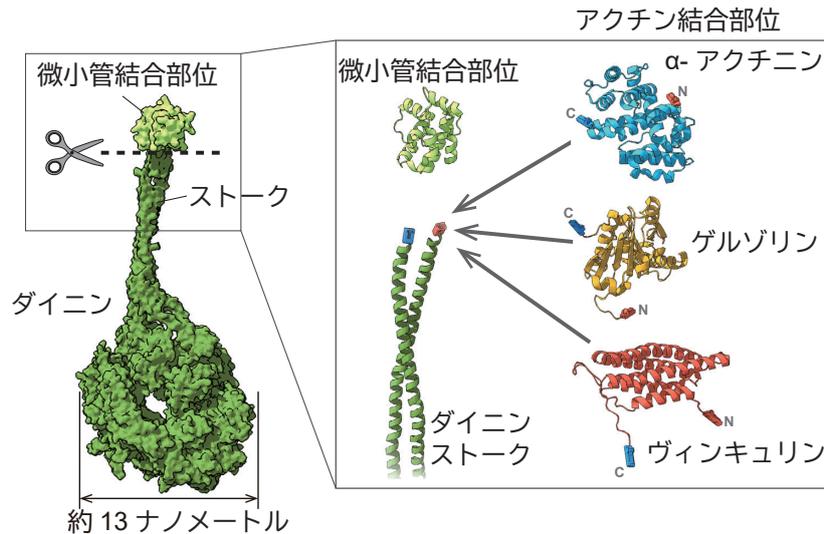


図1 天然のタンパク質分子モーター・ダイニン(左)にアクチン結合部位を融合する方法の概略。参考文献 [12] より改変。

そこで私たちはまず初めに、生物分子モーターの一種、ダイニンの「エンジン」部分を用い、ダイニンが本来レールとしている微小管というフィラメントとの結合部位を、ダイニンとは無関係なアクチンフィラメントと結合するタンパク質モジュールに置き換えたものを作製した(図1、参考文献 [12])。もし、従来考えられてきたようにレールとのインターフェースが本体部分の酵素活性と密接に共役する必要があるならば、全く無関係なアクチン結合部位に置き換えたときに簡単に運動能を失うであろうと予想された。ところが、予想に反して、この新規分子モーターはアクチンフィラメントを滑らかに一方向に動かすことができた。運動方向と構造との間の対応など、得られた知見を基に運動モデルを検討した結果、私たちは、これらのモーターが熱運動の嵐を乗り越えるためにフィラメントとの結合・解離機能と酵素活性などのタイミングを精密に合わせることで抑え込んでいるのではなく、むしろインターフェースの構造の非対称性に頼るだけ、という単純なメカニズムによって熱運動によるランダムな動きを一方向に整流することで運動を実現しているという可能性を提案した。これは、これまで生物分野によく見られた神秘的なメカニズムを排し、単にどのような物質をどのように配置すれば分子マシンとして機能するか、という本質的な設計原理にアクセスできる可能性を示している。

2.2 DNA 上で一方向に物を輸送するモーターを創る

上記のようなアクチンフィラメント上を動くダイニンモーターを創ることができたことにより、次のステップとして、より制御が容易で計算に適した生体材料である DNA をレールとする新しい一方向性のリニ

アモーターを実現できる可能性を検討した。もし、DNA をレールにすることができれば、人工的に合成可能で安定な材料を使用できるというメリットだけでなく、DNA の配列特異的な結合を利用することができる。これにより、近年急速に発展してきた DNA ナノ構造体と言われる複雑な三次元構造 [13] を使って自在にサーキットを組み、その上で動くモーターを設計できる。つまり、これが実現できれば、分子モーター自身が分子を動かすことによって、電気泳動などの人の手を介さずに、自律的に結果を出力することができるような機械が構成可能かもしれない。これは生物が日々行っている情報処理の方法を真似ることに繋がる。

私たちは、2.1 で述べたアクチンフィラメント上を結合するモーターと同様に、DNA 結合タンパク質とダイニンモーターを用いて、新しい DNA ベースのモーターを構築した。天然に存在する DNA 結合タンパク質は非常にバラエティーに富み、それぞれのタンパク質は特異的な DNA 配列に結合するという特徴を持っている。DNA 結合タンパク質の場合、特定の DNA 配列 (A、G、C、T の塩基の組合せ) の部分にだけ結合する性質を持っている。これは日常生活で使われている鍵に例えられる。鍵はそれぞれ固有の溝の形や番号で表される暗号を持っていて、この暗号が合わない鍵では開けることができないという「特異性」を持つことによりその機能を果たす。天然の生物分子モーターでも、タンパク質でできたレールの上に特異的に結合する性質を利用して動いていることを考えると、DNA 結合タンパク質の特異的な結合をうまく使えば、DNA レール上を一方向に歩く新しいモーターが実現できるかもしれないと考えた。

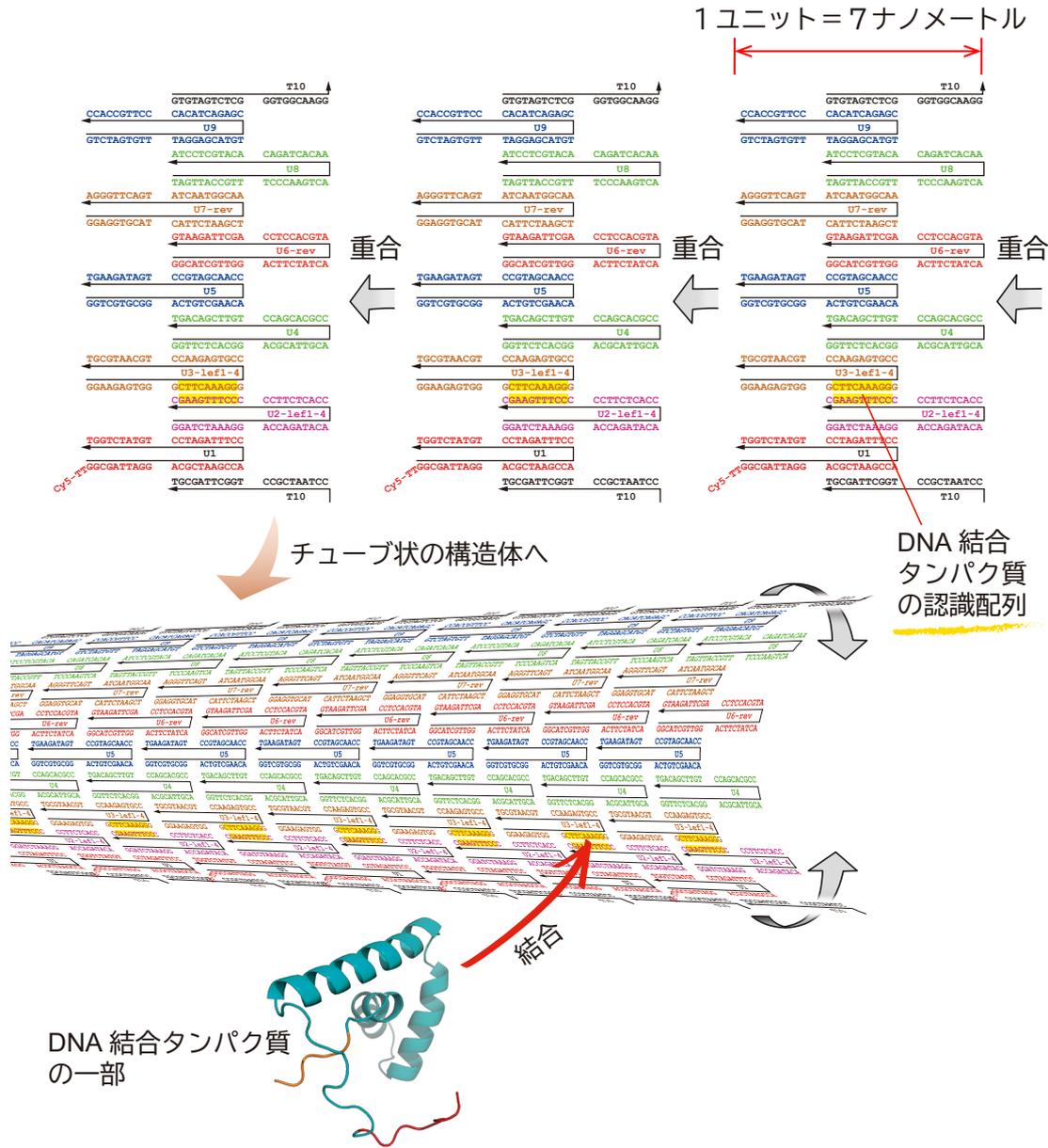


図2 新規分子モーターのレールとなるDNAナノ構造体の模式図。DNA結合タンパク質の認識配列を含んだ7ナノメートルのユニットが重合し、チューブ構造を作る。

まず私たちは、図2に示すような中空のチューブ構造を設計し、新規分子モーターのレールとして機能するような構造体を作製した。新規分子モーターが結合するための足場として、7ナノメートルごとに特定のDNA暗号が配置されるようにして、ここにDNA結合タンパク質が決まった向きで結合するようにした。次に、新規分子モーターを創るために適切なDNA結合タンパク質を選定した。分子モーターとDNAとの結合が強すぎても弱すぎてもうまく機能しないと考えられるため、天然のDNA結合タンパク質から適切なものを選ぶ必要がある。詳細は割愛するが、当研究室で18種類のDNA結合タンパク質の遺伝子を作製し、これをダイニンの「エンジン」部分と融合したところ、出

来上がったモーターのうちの半数に当たる9種類のモーターがDNAレール上を一方方向に運動できることが分かった。その速度は、通常の光学顕微鏡レベルの機器で容易に検出可能な平均毎秒10~200ナノメートルであり、予想よりも多くのDNA結合タンパク質が新規分子モーターのインターフェース部分として機能することが分かった。それらのうちのいくつかは、直交性、つまり、同じDNAレール上に同時に存在した場合にも、お互いに干渉することなく別々の配列を独立に認識して結合する性質を持っており、クロストークは起きなかった。これらのモーターの動きは、私たちの研究室で手作りした高精度な顕微装置によって計測された。ここで用いた顕微技術は、1分子の蛍光色

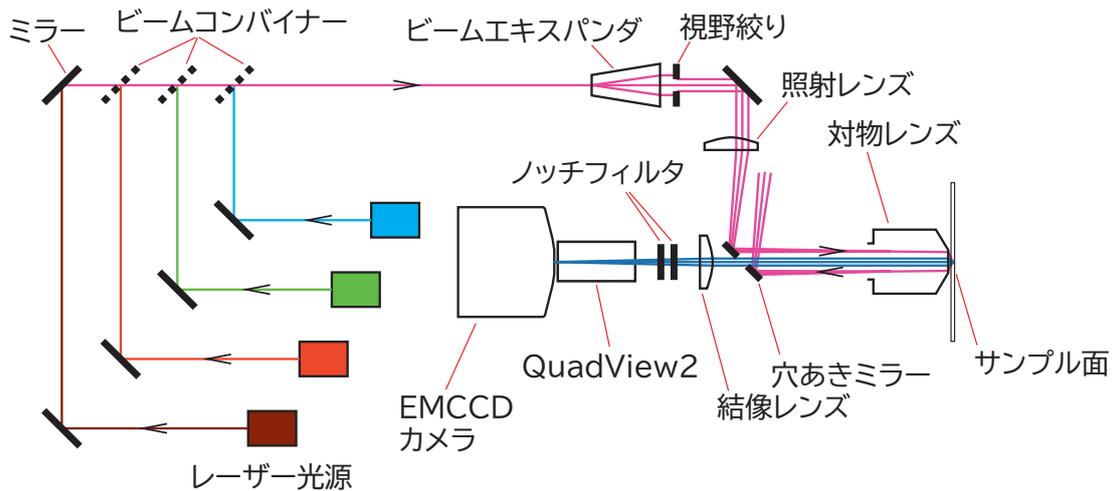


図3 穴あきミラー式全反射蛍光顕微鏡法

素を観察するための全反射蛍光顕微鏡法と呼ばれるものである。全反射蛍光顕微鏡法は、ガラスと水の屈折率の違いにより、その境界でレーザー光を全反射させ、その際に僅かにしみだした光を使ってガラスの近傍(数百ナノメートル)にある蛍光色素のみを励起することで極めて低いバックグラウンドを実現する顕微法である。私たちの場合、複数のモーターが複数のDNAレール上を行き交う様子を観察するため、500～800ナノメートルの範囲の4つの異なる波長の蛍光物質を同時に観察する必要がある。そのため、4台の異なる波長を持つレーザー光源を用い、中心に穴の開いたミラーによって、暗視野照明と呼ばれる方法でサンプル面を照らし、その結果得られた蛍光像をミラーの穴を通して超高感度 CCD カメラに投影する、という特殊な方法で観察を行った(図3、[14])。

上記のような直交性のある複数の輸送素子を使った系が実現できたので、レール上で微小物質の濃縮や分別などの仕事をするマイクロメートルサイズの装置の開発が可能になった。私たちは現在、異なる波長をもつ蛍光分子を付加したDNAナノ構造体を濃縮・分別する実験系を構築し、その動作過程を顕微鏡下で観察しているところである。

3 今後の展望

DNA上を動くリニア型の分子モーターの開発に成功し、その運動速度は細胞内で働いている生物分子モーターのいくつかと同程度であったことから、これらのモーターが微小分子の輸送に現実的に使用可能なレベルの速度を持つことが示された。今後は、原理の証明にとどまらず、分子の選別・濃縮を行う実験系を用いて論理回路を構成したり複雑な計算を行ったりするような実験系を実装する。

更にもその先の展望として、生物分子モーターの「エンジン」の内部構造に関し、基本的な設計方法を理解するための実験を進めることを考えている。現状ではATPを加水分解して運動を起こす機構に関して、どのような指針で設計されているのかは全く明らかではない。ここでも、最小限の要素で新たな生物分子モーターの「偽物」を系統的に創るような構成的手法が効果的である。そこで、これまでのように天然の分子モーターを使わず、もっと単機能でシンプルな酵素、例えばATPやその他の基質を代謝するような良く知られた天然のドメインを部品として用い、DNAレールと結合するドメインと組み合わせることで最小限の構成で分子モーターを創る実験を進める。今後、ここから得られた知見を用いて、生物が用いている超高性能な分子機械を自由に再設計し、生物が持っている情報処理システムに似た入力と出力を持つ装置を人工的な分子機械による分子ネットワークとして構成する。このような新しい生物学によって、これまで理解できていなかった分子による情報処理・計算の方法が明らかになれば、エネルギー消費を極めて小さく抑えつつ、高度な情報処理を担う全く新しい装置が日常生活に登場することが期待される。

謝辞

本研究は、生体物性プロジェクトのメンバー、大岩和弘 主管研究員、度々試作にご協力いただいた未来ICT研究所工作室、未来ICT研究所企画室・神戸管理グループのスタッフの方々など、多くの支援によって成り立ったものである。また、本研究はJSPS科研費JP 18 H05420、JP 18 H02417、JP 18 J40041の助成を受けたものであり、ここに謝意を表す。

【参考文献】

- 1 国立研究開発法人科学技術振興機構低炭素社会戦略センター, 低炭素社会実現に向けた政策立案のための提案書 技術普及編 情報化社会の進展がエネルギー消費に与える影響, 2019.
- 2 D. V. Nicolau, Jr., M. Lard, T. Korten, F. C. van Delft, M. Persson, E. Bengtsson, A. Mansson, S. Diez, H. Linke, and D. V. Nicolau, "Parallel computation with molecular-motor-propelled agents in nanofabricated networks," Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, vol.113, pp.2591-2596, 2016.
- 3 G. M. Church, Y. Gao, and S. Kosuri, "Next-generation digital information storage in DNA," Science, vol.337, p.1628, 2012.
- 4 L. M. Adleman, "Molecular computation of solutions to combinatorial problems," Science, vol.266, pp.1021-1024, 1994.
- 5 K. Nakajima, H. Hauser, T. Li, and R. Pfeifer, "Information processing via physical soft body," Sci. Rep., vol.5, p.10487, 2015.
- 6 Bio4Comp, <https://bio4comp.org/>
- 7 K. Kaneko and I. Tsuda, "Constructive complexity and artificial reality: an introduction," Physica D: Nonlinear Phenomena, vol.75, pp.1-10, 1994.
- 8 D. Woods, D. Doty, C. Myhrvold, J. Hui, F. Zhou, P. Yin, and E. Winfree, "Diverse and robust molecular algorithms using reprogrammable DNA self-assembly," Nature, vol.567, pp.366-372, 2019.
- 9 A. J. Thubagere, W. Li, R. F. Johnson, Z. Chen, S. Doroudi, Y. L. Lee, G. Izatt, S. Wittman, N. Srinivas, D. Woods, E. Winfree, and L. Qian, "A cargo-sorting DNA robot," Science, vol.357, pp.1095-1096, 2017.
- 10 J. Pan, F. Li, T. G. Cha, H. Chen, and J. H. Choi, "Recent progress on DNA based walkers," Curr Opin Biotechnol, vol.34, pp.56-64, 2015.
- 11 R. Ibusuki, K. Oiwa, H. Kojima, and K. Furuta, "Creating Protein-Based Molecular Motors That Move along DNA Nanotubes," Biophysical Journal, vol.114, pp.647a-648a, 2018.
- 12 A. Furuta, M. Amino, M. Yoshio, K. Oiwa, H. Kojima, and K. Furuta, "Creating biomolecular motors based on dynein and actin-binding proteins," Nat Nanotechnol, vol.12, pp.233-237, 2017.
- 13 N. C. Seeman, "Nanomaterials based on DNA," Annu Rev Biochem, vol.79, pp.65-87, 2010.
- 14 H. Ueno, S. Nishikawa, R. Iino, K. V. Tabata, S. Sakakihara, T. Yanagida, and H. Noji, "Simple dark-field microscopy with nanometer spatial precision and microsecond temporal resolution," Biophys J, vol.98, pp.2014-2023, 2010.



指宿良太 (いぶすき りょうた)

未来 ICT 研究所
フロンティア創造総合研究室
研究技術員
博士(理学)
生物物理学・DNA ナノテクノロジー・人工分子モーター



古田 茜 (ふるた あかね)

未来 ICT 研究所
フロンティア創造総合研究室
招へい研究員/日本学術振興会
特別研究員
博士(理学)
生物分子モーター・軸糸ダイニン



古田健也 (ふるた けんや)

未来 ICT 研究所
フロンティア創造総合研究室
主任研究員
博士(学術)
生物物理学・生物分子モーターの設計・製造