

# ミオシン蛋白質を利用した電子スイッチの開発 (0215009)

## An application for electronic switch of myosin, a muscle protein

小濱一弘 群馬大学大学院 医学研究科  
Kazuhiro Kohama, Gunma University Graduate School of Medicine

日野瑞城<sup>†</sup> 中村彰男<sup>†</sup> 石川良樹<sup>†</sup> 高附英世<sup>††</sup>  
Mizuki Hino<sup>†</sup> Akio Nakamura<sup>†</sup> Ryoki Ishikawa<sup>†</sup> Hideyo Takatsuki<sup>††</sup>  
<sup>†</sup>群馬大学大学院 医学研究科 <sup>††</sup>ウエストヴァージニア大学  
<sup>†</sup>Gunma University Graduate School of Medicine  
<sup>††</sup>West Virginia University, Computer Science & Electronical Engineering

研究期間 平成 14 年度～平成 16 年度

### 概要

ミオシンは筋肉を構成する主要蛋白質で、モーター蛋白質の代表と考えられ、アクチンとよばれるもうひとつの蛋白質を ATP を分解することによって動かす性質がある。本研究はこの動きを微視的にとらえ、スイッチ素子として利用する事を目的としている。具体的には i) 従来のガラス板を用いた技術を改良して、加工のできるシリコン基板やポリメタクリレート基板を使用する。次に、ii) 加工したこれらの基板でアクチンを動かす。iii) 動きの制御をカルシウムイオン濃度の変化により行うため、カルシウム感受性のあるミオシンを発現蛋白質として得る。iv) 電場による制御を試みる。v) iii) 発現蛋白質の手法により、より速くうごくミオシンを得る試みをする。

### Abstract

The use of biological material such as DNA and protein is now drawing the interest of the electron engineering scientists. The objective of our research is to understand the utility of actin-myosin system of muscle contraction. Actin moves on a glass surface coated with myosin by consuming ATP. We examined the movement on the surface of a few wafers that could be processed into devices. Further, Ca<sup>2+</sup> was employed to regulate the movement.

1. スタートになる技術：筋肉よりアクチン(図 1A)とミオシン(図 1B)を精製する。顕微鏡用ガラス板(coverclip,図 1C)にミオシンをコートし、同じガラス板(slide glass)途の間に flow cell を作る。ATP を含む蛍光ラベルアクチンを pipet にてここに流し込み、図 1D に示す蛍光顕微鏡装置にてアクチンの動きを調べ、速度を測定する。

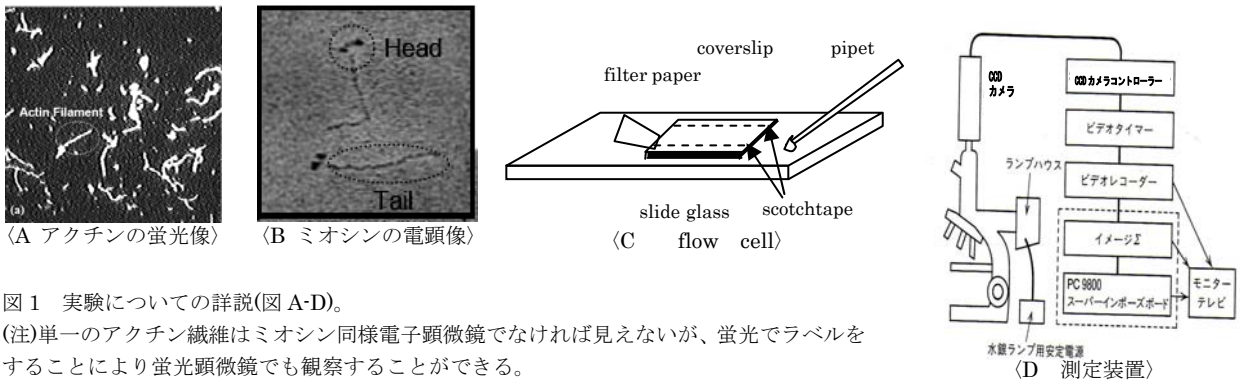


図 1 実験についての詳説(図 A-D)。  
(注)単一のアクチン繊維はミオシン同様電子顕微鏡でなければ見えないが、蛍光でラベルをすることにより蛍光顕微鏡でも観察することができる。

2. 束化したアクチン繊維の動き：アクチン結合蛋白、ファッシンを混合するとアクチンは束化し剛性もち、電子スイッチに向けて改良された。図 2 に示す様にこの束化アクチンも単一アクチン(図 1A)と同様の速度で動いた。図 2 の白丸は単一線維で黒丸が束化繊維である。

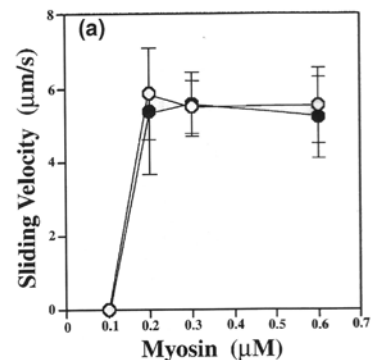


図 2 束化アクチン

3. 集中イオンビームでガラス板を加工し凸型のガイドを作ってアクチンを動かした（この項は通信総研の大岩博士のお世話になった）。更に既存の電子素子とプラットフォームと共用できる可能性のあるシリコン基板及びポリメタクリール基板上でもアクチンの動きを検出した。

4. カルシウム感受性ミオシンを分子生物学上の発現蛋白質として得て、アクチンの動きをCa<sup>2+</sup>により制御できた(図 3)。

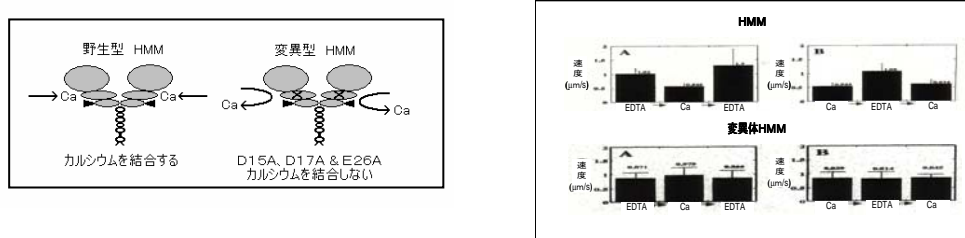


図3 カルシウム結合性を示すHMMとそれを失った変異体HMMによりアクチンを動かす。前者はアクチンの動きがCa<sup>2+</sup>により制御されているが、後者はそれが失われていた。

5. ミオシンの中でも最速の車軸藻ミオシンの発現化に成功した(まだ機能の検定には至っていない)。これにより 10 倍程度の動きの高速化が期待される。

6. 電場によるアクチンの動き制御の試みをウェストバージニア大学の P. Famouri 教授と共にスタートさせた (図 4, まだ十分制御がかかるまでに至っていない)。

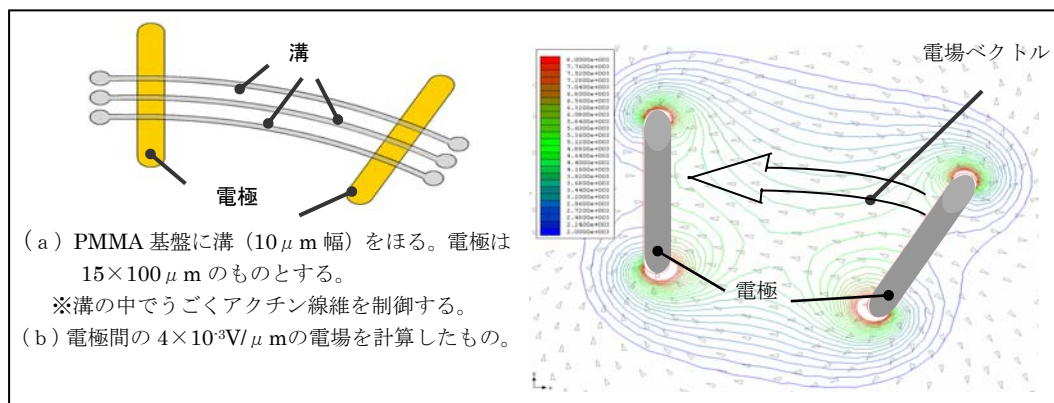


図 4 電場による制御のデバイス

### 誌上発表リスト

- [1] Nakamura, A., Hanyuda, Y., Okagaki, T., and Kohama, K., 「A calmodulin-dependent protein kinase from lower eukaryote *Physarum polycephalum*.」 *Biochem. Biophys. Res Commun.* 328, 838-844, (2005) 被引用度数:0
- [2] Yamada, A., Yoshio, M., Nakamura, A., Kohama, K., and Oiwa, K.: 「Protein phosphatase 2B dephosphorylates twitchin, initiating the catch state of invertebrate smooth muscle.」 *J. Biol. Chem.*, 279, 40762-40768, (2004) 被引用度:0
- [3] Ishikawa, R., Sakamoto, T., Ando, T., Higashi-Fujime, S., and Kohama, K.: 「Polarized actin bundles formed by human fascin-1: their sliding and disassembly on myosin II and myosin V in vitro」 *J. Neurochem.* 87, 676-685, (2003) 被引用度:2

### 申請特許リスト

- [1] 小濱一弘、日野瑞城、石川良樹、中村彰男、須齋嵩、大島昭子、大岩和弘、「東化アクチンを用いたマイクロアクチュエータ」、特願 2005-038287 (国内特許)、2005年2月15日
- [2] 小濱一弘、中村彰男、吉山伸司、田之倉優、永田宏次、「平滑筋弛緩剤とその有効成分の抽出法」 特願 2004-108238 (国内特許)、2004年5月25日
- [3] 小濱一弘、中村彰男、川道穂津美、田中秀幸、「Recombinant Myosin」 PCT/JP03/09741 (国際特許)、2003年7月31日

### 報道発表リスト

- [1] "筋肉たんぱく質によるスイッチ考案 カルシウムイオン濃度で動きを制御へ"。ナノテク専門ニューズレター 日経先端技術 36 日本経済新聞社、2003年4月28日