

トピックス

DNA 人工分子モーターの合理的性能向上

原島崇徳^{1,2}, 大友章裕³, 飯野亮太^{1,2}¹ 自然科学研究機構分子科学研究所² 総合研究大学院大学³ 京都大学大学院理学研究科化学専攻

1. はじめに

分子モーターは、化学エネルギーを力学エネルギーに変換する超小型の動力装置である。自然界のモータータンパク質は細胞内物質輸送や鞭毛の回転など多様な生体機能を担い、その運動機構に関する研究が数多くなされてきた。一方、モータータンパク質の研究に触発され、人工的に分子モーターを設計する研究が近年行われている。特に DNA 分子を用いた人工分子モーターは、塩基配列特異性に基づく結合・解離反応の設計自由度の高さから有望視されている。一例として、足場となる RNA レール上を歩行する DNA ウォーカーが挙げられる¹⁾。DNA ウォーカーは自身の構造内に RNA 分解酵素を含み、結合した足場 RNA を切断し次の足場へ乗り移る **Burnt-bridge Brownian Ratchet (BBR) 機構**により運動する。BBR はモータータンパク質のキチン分解酵素にも見られる運動機構である²⁾。

一方、既存の DNA 人工分子モーターは運動速度が遅いという欠点がある。例えば DNA ウォーカーの運動速度は約 0.1 nm/s だが、これは 10-1000 nm/s の運動速度を有する生体分子モーターに比べ約 1000 倍遅い。この欠点を克服する取り組みにおいて現在最も成功している人工分子モーターが、DNA 修飾金ナノ粒子および RNA 修飾基板から構成される DNA ナノ粒子モーターである³⁾。DNA ナノ粒子モーターは、分解速度が相対的に速い RNA 分解酵素 (RNase H) を採用することにより、運動速度は人工モーターでは最速の約 1 nm/s まで向上した。しかし、依然としてモータータンパク質と伍する速度は実現していない。

2. 一粒子追跡による運動素過程の解明

本研究では、既存の最速の人工分子モーターである DNA ナノ粒子モーターに着目し、運動のボトルネック

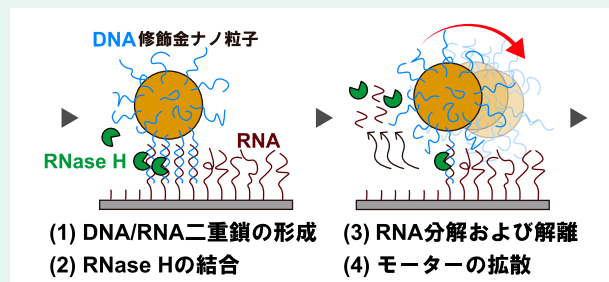


図 1

DNA ナノ粒子モーターの運動機構。

を特定・改善することにより運動速度を高速化することを目的とした。

DNA ナノ粒子モーターは、レールとなる RNA を分解しながら前進する BBR モーターである。具体的には図 1 のように (1) ナノ粒子上 DNA と RNA レールの二重鎖形成 (2) RNA 分解酵素 (RNase H) の結合 (3) RNA の分解・解離 (4) モーターの拡散過程の共役により動作する。我々はこの (1) ~ (4) において最も遅い過程、すなわちボトルネックを特定・改善することが、高速化における最も合理的なアプローチと考えた。

まず、DNA ナノ粒子モーターの運動素過程を解明するため、全反射型暗視野顕微鏡による一粒子追跡を実施した。モーターを構成する金ナノ粒子は強い散乱シグナルを示すため、散乱イメージングにより高速・高精度な一粒子追跡が可能となる (図 2a)⁴⁾。

結果として、DNA ナノ粒子モーターは一時的な停止 (ポーズ) と瞬間的な移動 (ステップ) を繰り返して運動することが初めて明らかになった (図 2b)。また、ステップサイズは約 20 nm とモータータンパク質と同等な一方、停止時間は約 70 秒と非常に長いことが分かった。従って、ステップに対応する DNA ナノ粒子モーターの拡散過程は十分速く、停止に対応

Rational Performance Improvement of a DNA Artificial Molecular Motor

Takanori HARASHIMA^{1,2}, Akihiro OTOMO³ and Ryota IINO^{1,2}¹Institute for Molecular Science, NINS²The Graduate University for Advanced Studies, SOKENDAI³Department of Chemistry, Graduate School of Science, Kyoto University

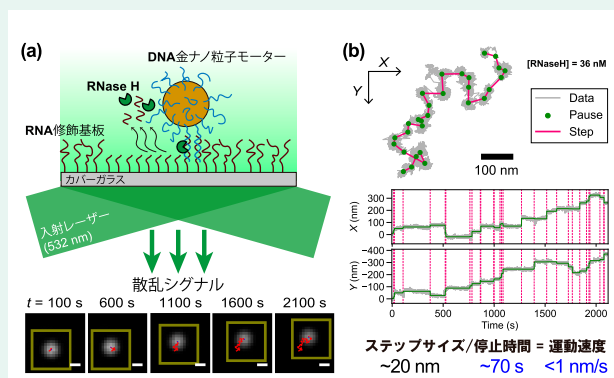


図 2 (a) 全反射型暗視野顕微鏡による DNA ナノ粒子モーターの一粒子追跡。スケールバーは 200 nm。 (b) 運動軌跡のステップ解析。

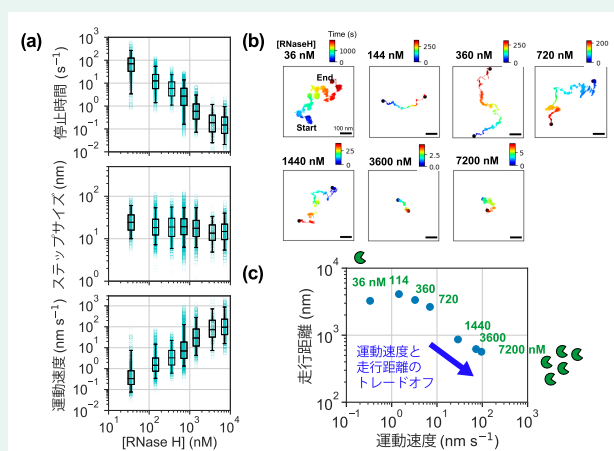


図 3 (a) 停止時間、ステップサイズ、運動速度の RNase H 濃度依存性。 (b) 異なる RNase H 濃度条件の運動軌跡の例。 (c) 運動速度と走行距離の関係。

する化学過程にボトルネックが含まれることが分かった。

3. 運動速度と走行距離のトレードオフ関係

次に、化学過程に含まれる酵素結合反応を加速させるため、酵素濃度を増加させる実験を行った。結果として、停止時間は短縮、ステップサイズは一定となり、運動速度は最大で 100 nm/s まで増加した (図 3a)。このことから、酵素結合過程が運動のボトルネックであることが判明した。しかし一方で、高濃度の酵素条件では高速化の代償として、基板からの脱離が促進され走行距離が短縮してしまうことが分かった (図 3b)。具体的には運動速度 10 nm/s を境に走行距離は約 3 μm から 600 nm まで低下した (図 3c)。他方で、自然界のモータータンパク質は高速な運動と 1 μm 以上の走行距離を両立している。DNA ナノ粒子モーターにおける運動速度と走行距離のトレードオフの原因を究明

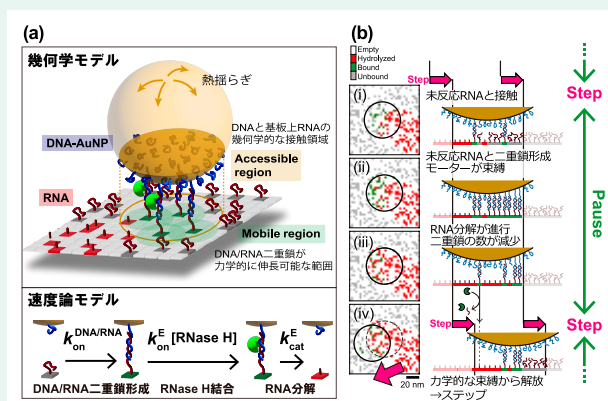


図 4 (a) 幾何学的速度論シミュレーションの構成。 (b) ステップ運動の機構。

するためには、化学過程の進行とモーターの運動がどのように共役しているのかを詳細に解明する必要がある。

4. 幾何学的速度論シミュレーションの開発

化学過程の進行とモーターの拡散の共役機構を可視化するため、幾何学的速度論モデルに基づく運動シミュレーションを開発した (図 4a)。幾何学モデルとして、DNA の長さやナノ粒子の形状から計算される基板への接触領域を定義した。接触領域内の DNA/RNA 分子間において、二重鎖形成、RNA 結合、RNA 分解の逐次反応を確率的に進行させた。本構成により、実験で観察された DNA ナノ粒子モーターのステップ運動を再現することに成功した。シミュレーションから示唆された運動機構を図 4b に示す。まずステップ直後、モーター上 DNA と未反応 RNA の二重鎖形成が進行し、モーターが固定される (i-ii)。次に、RNase H 結合および RNA 分解が進行する (ii-iii)。二重鎖のサイト数が減少するとモーターの束縛が解かれステップが起きる (iii-iv)。ブラウン運動自体はランダムであるが、モーターの後方の RNA はすでに分解されているため、モーターは後方以外の未反応 RNA と接触した場合のみ再び二重鎖形成し、前進する。

5. 運動速度と走行距離のトレードオフの原因究明

次に、実験から得られた停止時間とステップサイズの RNase H 濃度依存性データを用いて、各化学過程の速度定数を最適化した。速度定数の探索範囲は、バルク蛍光計測の結果を参照して設定した。最適化の結果、RNase H が高濃度の条件では、運動のボトルネック過程が RNase H の結合から DNA/RNA の二重鎖形成に切り替わることが明らかとなった (図 5a)。このことか

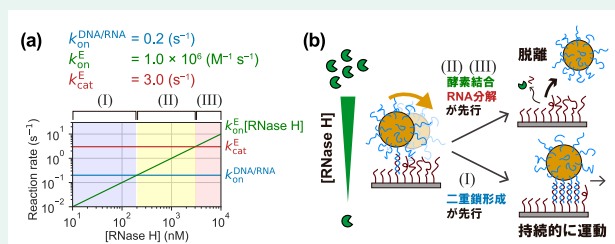


図 5 (a) 各化学過程の反応速度の RNase H 濃度依存性. (b) RNase H 濃度の増加による脱離の促進機構の模式図.

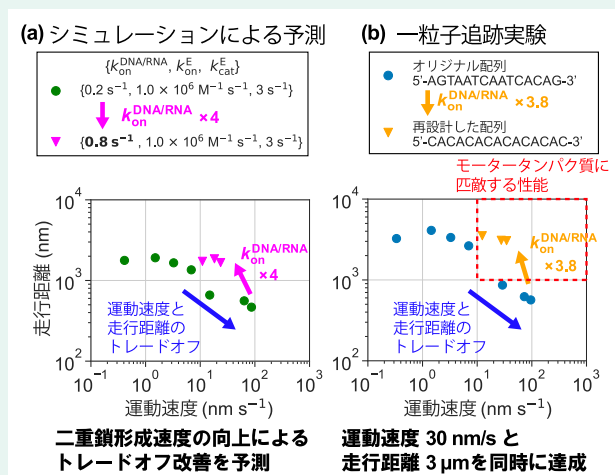


図 6 (a) シミュレーションによる性能予測. (b) オリジナル配列および再設計した配列を用いた DNA ナノ粒子モーターの性能比較.

ら、運動速度と走行距離のトレードオフは図 5b のモデルにより説明される。RNase H 低濃度の領域では、形成中の二重鎖への RNase H 結合よりも新たな RNA との二重鎖形成の方が速く進行するため、モーターは持続的に運動できる。一方、RNase H 高濃度では新たな二重鎖が形成する前に形成中の二重鎖の分解が進行するため、モーターが基板から脱離しやすくなる。

6. DNA/RNA 配列の再設計によるモーターの改造

図 5 のモデルから、トレードオフの改善には二重鎖形成速度 ($k_{\text{on}}^{\text{DNA/RNA}}$) の増加が重要であると推測される。実際に、 $k_{\text{on}}^{\text{DNA/RNA}}$ を仮想的に 4 倍増加させたシミュレーションを行ったところ、トレードオフが改善される予測が得られた (図 6a)。この予測に基づき、 $k_{\text{on}}^{\text{DNA/RNA}}$ の増加を目指した塩基配列の再設計を行った。再設計の指針として GC 含有率の増加および反復配列を導入し、バルク蛍光計測により $k_{\text{on}}^{\text{DNA/RNA}}$ が 3.8 倍向上した配列を見出した (図 6b)。この配列を用いてモーターを作製し一粒子追跡実験を行った結果、シミュレーションの予測を再現するようにトレードオフ

が改善された。最大の酵素濃度条件では、30 nm/s の運動速度と 3 μm の走行距離が同時に実現された。この性能は天然のモータータンパク質に匹敵し、ナノサイズの人工分子モーターとしては過去最高となる⁵⁾。

7. おわりに

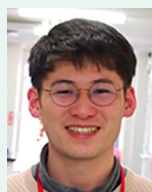
本研究では、ボトルネックの特定・改善により、モータータンパク質に匹敵する運動速度と走行距離をナノサイズの人工分子系で初めて実現した。

真に生体分子に匹敵する人工分子モーターの実現に向けた次の課題は、完全な運動一方向性の獲得である。既存の DNA ナノ粒子モーターは等方的な構造と二次元 RNA 修飾表面から構成されている。BBR 機構により後退運動は抑制されるものの、モーターは前方だけでなく左右方向への方向転換も可能であるため、運動一方向性は不完全である。我々は、完全な一方向性を実現するため、モーターとレールの形状に異方性を付与する設計を進めている。モーターについては基礎構造をナノ粒子からナノロッドに変更し、レールについては DNA ナノテクノロジーを活用して RNA 修飾 DNA ナノチューブの設計に取り組んでいる。

人工分子モーターは、使用する分子や構造の設計自由度が高い、熱安定性が高い、水以外の有機溶媒中でも働けるといった、モータータンパク質が持たない多くの利点を有する。そして高速・長距離走行・高い一方向性の人工分子モーターを実現することで、例えば、モーターの動きで演算を行う分子コンピューターや、感染・疾患分子をモーターの動きにより検出するセンシング技術の実現などが期待される。

文 献

- 1) Pan, J. *et al.* (2017) *Sci. Adv.* **3**, e1601600. DOI: 10.1126/sciadv.1601600.
- 2) Nakamura, A. *et al.* (2018) *Nat. Commun.* **9**, 3814. DOI: 10.1038/s41467-018-06362-3.
- 3) Bazrafshan, A. *et al.* (2021) *ACS Nano* **15**, 8427-8438. DOI: 10.1021/acsnano.0c10658.
- 4) Ando, J. *et al.* (2018) *Biophys. J.* **115**, 2413-2427. DOI: 10.1016/j.bpj.2018.11.016.
- 5) Harashima, T. *et al.* (2025) *Nat. Commun.* **16**, 729. DOI: 10.1038/s41467-025-56036-0.



原島崇徳

原島崇徳 (はらしま たかのり)

自然科学研究機構分子科学研究所助教

2022 年東京工業大学理学院博士過程修了。博士 (理学)。2022 年より現職。

研究内容：人工分子モーターの設計

連絡先：〒444-8787 愛知県岡崎市明大寺町字東山 5-1

E-mail: harashima@ims.ac.jp



大友章裕

大友章裕（おとも あきひろ）

京都大学助教

2019 年に大阪大学大学院理学研究科化学専攻にて博士（理学）を取得後，日本学術振興会特別研究員（PD），自然科学研究機構分子科学研究所助教を経て現職。

研究内容：生体分子の 1 分子計測，分光計測

連絡先：〒 606-8502 京都市左京区北白川追分町
京都大学理学 6 号館 155 室

E-mail: ohtomo.akihiro.7r@kyoto-u.ac.jp

URL: <https://sites.google.com/kyoto-u.ac.jp/kuchem-mizuno/>



飯野亮太

飯野亮太（いの りょうた）

自然科学研究機構分子科学研究所教授

2003 年に名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻で博士（理学）を取得。JST ERATO 研究員，大阪大学（特任助手，助手，助教），東京大学（講師，准教授）を経て 2014 年より現職。

研究内容：生体・人工分子モーターの 1 分子計測とエンジニアリング

連絡先：〒 444-8787 愛知県岡崎市明大寺町字東山 5-1

E-mail: iino@ims.ac.jp

URL: https://groups.ims.ac.jp/organization/iino_g/index.html