

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業「メカノバイオロジー機構の解明による革新的医療機器および医療技術の創出」

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation (AMED-CREST) [Elucidation of Mechanobiological Mechanisms and their Application to the Development of Innovative Medical Instruments and Technologies]

研究開発課題名：(日本語) 細胞質から核に至る力覚機構の解明と新技術開発から医学展開を目指す基礎研究

(英語) Basic Research for the Mechano-transduction Pathways from Cytoplasm to Nucleus and its Medical Application

研究開発担当者 (日本語) 加齢医学研究所 教授 小椋利彦

所属 役職 氏名：(英語) Institute of development, Aging and Cancer, Professor, Toshihiko Ogura, M.D., Ph.D.

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 新規力刺激-評価系の構築

開発課題名：(英語) Construction of new cell-stimulation system with physical force stimulation and the evaluation system

研究開発分担者 (日本語) 野村 慎一郎

所属 役職 氏名：(英語) NOMURA Shin-ichiro

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究代表者である小椋利彦教授（東北大学 加齢医学研究所）は、せん断応力感知システム、**Exercise pill** 候補薬とその分子標的について、昨年度に引き続き、分子生物学的な手法で集中的な解析を行った。

1) せん断応力下の細胞質／核シャトリング因子 X

昨年度完成させた透明化せん断応力印加装置を用いて因子 X の動的挙動を詳細に観察し、2.0Pa のせん断応力によって速やかに 8 分で核移行が完了するという、驚くほど早い動きが明らかとなった。このような急速な核移行を制御するものとして、Ca²⁺が考えられたため、Ca ionophore で刺激した所、急速な核移行が再現された。この新しい知見を元に、Ca²⁺と因子 X の関係を分子生物学的に詳細な検討を加えた。

2) **Exercise pill** 候補としての小分子化合物 Y

小分子化合物 Y の標的タンパクとして因子 Z を同定しているが、因子 Z のノックアウトマウスで小分子化合物 Y に対する反応が消失していることが明らかとなり、我々の知見の正しさが裏付けられた。そして、小分子化合物 Y に対する反応を詳細に記述すべく、網羅的な解析を行った。また、小分子化合物 Y が、マウスに対して **exercise booster** として働くことを確認した。

共同研究者である野村慎一郎准教授（東北大学 大学院工学研究科）は、研究代表者等と緊密な連携のもと、**GUV liposome** に関する研究を行った。

3) **GUV liposome** 技術の深化と応用

GUV liposome による細胞内への物体直接導入法の深化を行い、導入効率の上昇、付着細胞への直接導入、核内へのビーズ導入などに取り組み、それぞれ成果を得ることができた。現時点で、1 μ m 直径の磁気ビーズ群が、細胞質空間の殆どを占める状態を作ることにも成功し、また、**Histone** タンパク質でコートしたビーズを核内に導入することにも成功した。加えて、細胞を培養皿から剥がさずに、付着した状態でも導入効率を上げることもできた。また、細胞質、核内で自律的に動く分子ロボットの作製を試みた。

以上、せん断応力感知システムの分子メカニズム、**Exercise pill** 候補薬とその分子標的の分子生物学的な解析を中心に行い、また、工学的な手法の取り組みのために **GUV liposome** の技術深化を行うことができた。

Dr. Ogura group performed molecular analyses on shear stress-sensitive factors and exercise mimetics.

1) Nucleo-cytoplasmic shuttling of factor X under sheer stress

Using our novel transparent sheer-stress apparatus, we can now observe dynamic cellular response on live and take time-lapse movies simultaneously. After careful inspection of our movies, we have found that factor X shuttles from cytoplasm to nucleus immediately in response to sheer and that almost all of factor X goes to nucleus within 8 min. This rapid response was induced by Ca ionophore, indicating that Ca signaling regulates shuttling of factor X. We further analyzed the molecular link between factor X and Ca signaling in detail in this fiscal year.

2) Small molecular compound Y as a candidate for exercise pill

We have identified protein Z as a target of the small molecular compound Y. We have also confirmed that knockout mouse of gene Z are refractory to Y. This year, we analyzed in detail on the mechanism of action of this drug comprehensively, to confirm our data.

Dr, Nomura group focused on the GUV liposome technique to make it more sophisticated and applicable for mechano-biological experiments, in collaboration with Dr. Ogura group.

3) Improvement of the GUV liposome technique

We successfully made several improvements on this technique. We are now able to introduce materials directly and efficiently into cytoplasm of living cells, resulting in cells filled up with introduced microbeads in cytoplasm. In addition, we can now introduce microbeads into nucleus, enabling us to manipulate chromatin mechanically in living cells. By making some refinements, cells can be used without detaching from culture dishes. Fr. Nomura group also tried to make molecular robots, which can move in living cells autonomously.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2 件、国際誌 5 件）

1. Yusuke Watanabe, Miyasaka Y. Kota, Atsushi Kubo, Yasuyuki S. Kida, Osamu Nakagawa, Yoshikazu Hirate, Hiroshi Sasaki, Toshihiko Ogura. Notch and Hippo signaling converge on Strawberry Notch 1 (Sbno1) to synergistically activate Cdx2 during specification of the trophectoderm. **Scientific Reports**, 2017, 7:46135. DOI: 10.1038/srep46135.
2. 宮坂恒太、久保純、小椋利彦. 生体システムにおけるメカノトランスダクションー特に、遺伝子発現に注目してー: *Clinical Calcium* 23, 79, 2016 (特集 メカノバイオサイエンスー力の科学と医療の最前線)
3. 宮坂恒太、久保純、小椋利彦. エクササイズピル、エクササイズミメティクスの可能性. *メカノバイオロジーからメカノメディシンへ* (企画 曾我部正博): *医学のあゆみ* vol. 257, No. 10, 1051-1057, 2016
4. Takahiro Tomaru, Yuki Suzuki, Ibuki Kawamata, Shin-ichiro M Nomura and Satoshi Murata, "Stepping operation of rotary DNA origami device", *Chemical Communications*, 2017, in press.
5. Keitel Abraham Cervantes-Salguero, Ibuki Kawamata, Shin-ichiro M Nomura and Satoshi Murata, "Unzipping and Shearing DNA with Electrophoresed Nanoparticle in Hydrogel", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2017, in press, DOI: 10.1039/C7CP02214J.
6. Yusuke Sato, Yuichi Hiratsuka, Ibuki Kawamata, Satoshi Murata, Shin-ichiro M. Nomura, "Micrometer-sized molecular robot changes its shape in response to signal molecules", *Science Robotics*, 01 Mar 2017: Vol. 2, Issue 4; DOI: 10.1126/scirobotics.aal3735.
7. Daisuke Kandatsu, Keitel Cervantes-Salguero, Ibuki Kawamata, Shogo Hamada, Shin-ichiro M Nomura, Kenzo Fujimoto and Satoshi Murata, "Reversible Gel-Sol Transition of Photo-Responsive DNA Gel", *Chembiochem* (2016, Jun), 17(12) 1118–1121; doi:10.1002/cbic.201600088.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 力学刺激が直接遺伝子発現を調節するシステムについて (招待講演) 小椋利彦、日本遺伝学会第 88 回大会 (三島)、2016 年 9 月 7 日 (国内)
2. 遺伝子発現を制御するメカノトランスダクション (招待講演) 小椋利彦、第 94 回日本生理学会大会 (浜松)、2017 年 3 月 28 日 (国内)

3. Atsushi Kubo, Takahiro Niida, Yuki Yamanaka, Masato Kimura, Kota Miyasaka, Yusuke Watanabe, Toshihiko Ogura, A mechano-transduction in zebrafish heart development. Mechanobiology of Disease (Biophysical Society-MBI Thematic Meeting) Sep 27, 2016-Sep 30, 2016, National University of Singapore, Singapore (国際)
4. 柳原由実、山中祐樹、新井田隆宏、久保純、小椋利彦, マウスArid2遺伝子の発現パターンとその機能の解析 第39回日本分子生物学会、横浜 (国内)
5. Yusuke SATO, Yuichi HIRATSUKA, Ibuki KAWAMATA, Satoshi MURATA, Shin-ichiro M. NOMURA, "DNA device and molecular motors control dynamic shape change of giant liposome in response to DNA signal" FNANO(2017), @SNOWBIRD, UT, USA, 20170410-13.
6. Yusuke SATO, Yuichi HIRATSUKA, Ibuki KAWAMATA, Satoshi MURATA, Shin-ichiro M. NOMURA, "Motility control of amoeba type molecular robot by DNA devices and molecular motors" DNA22, @ LMU, Munich, Germany (2016) 20160904-08.
7. Katsuhiko Nishijima, Takashi Nakakuki, Yusuke Sato, Shin-ichiro Nomura, "DNA switcher for a Molecular Robot", International Conference on Information and Communication Technology Robotics (ICT-ROBOT 2016), @Busan, Korea.
8. Yusuke SATO, Yuichi HIRATSUKA, Ibuki KAWAMATA, Satoshi MURATA and Shin-ichiro M. NOMURA, "Construction of liposome-based molecular robot: molecular motors and simple DNA circuit transform their compartment", FNANO(2016), @SNOWBIRD, UT, USA.
9. "Molecular robots under construction: amoeba-type artificial cell model", 野村 慎一郎, 佐藤 佑介, 平塚 祐一, 川岸 由, 小椋 利彦, 川又 生吹, 村田 智, ナノバイオテクノロジーとバイオセンシングに関するジョイントシンポジウム, 第64回応用物理学会春期学術講演会, パシフィコ横浜, Japan, 15, Mar. 2017.
10. "自動人工アメーバ型マイクロ分子ロボット", 野村 慎一郎, NI-SIGNAC-CCS 合同研究会, 東京工業大学大岡山キャンパス, Japan, 10th Mar. 2017.
11. "Molecular robotics approach for creating artificial cells", Shinichiro Nomura, The 6th Conference on Exploring Next-Generation Materials Science and Nanoscience (6NGMSNS), NISEKO CONFERENCE CENTRE, Niseko, Hokkaido, Japan, Jan 7th, 2017.
12. "Robotic Vesicle: Motility Control of Microcapsule by DNA devices and Molecular Motors", Y. Sato, Y. Hiratsuka, I. Kawamata, S. Murata, S. M. Nomura, Thirteenth International Conference on Flow Dynamics, Sendai, Miyagi, Japan, 10-12, Oct. 2016.
13. "細胞様構造をつくる分子ロボットのデザイン", 野村 M. 慎一郎, アストロバイオロジーネットワーク 2016 年年会 (仙台), 東北大学, 22-23, Sept., 2016.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. ノラヤサイエンスバー「できるかな人工細胞, つくってあそぼ分子ロボ」野村慎一郎, 2016/11/19, 国内
2. aPlayer 「人工細胞・人工生命の塚」, 資料提供 野村慎一郎, 茨城県北芸術祭, 2016/9/22, 国内. BSフジ「ガリレオ X」にて紹介.
3. **分子ロボットをつくる** 野村 M. 慎一郎, 「このロボットがすごい 2016」ロボット学会講演会, 2016/9/9, 国内.

(4) 特許出願

なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

1. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業「メカノバイオロジー機構の解明による革新的医療機器および医療技術の創出」

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation (AMED-CREST) [Elucidation of Mechanobiological Mechanisms and their Application to the Development of Innovative Medical Instruments and Technologies]

研究開発課題名： (日本語) 細胞質から核に至る力覚機構の解明と新技術開発から医学展開を目指す基礎研究

(英語) Basic Research for the Mechano-transduction Pathways from Cytoplasm to Nucleus and its Medical Application

研究開発担当者 (日本語) 加齢医学研究所 教授 小椋利彦

所属 役職 氏名： (英語) Institute of development, Aging and Cancer, Professor, Toshihiko Ogura, M.D., Ph.D.

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 新規力刺激-評価系の構築

開発課題名： (英語) Construction of new cell-stimulation system with physical force stimulation and the evaluation system

研究開発分担者 (日本語) 野村 慎一郎

所属 役職 氏名： (英語) NOMURA Shin-ichiro

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者： 小椋利彦（東北大学 加齢医学研究所） 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2 件、国際誌 4 件）

1. Takahiro Tomaru, Yuki Suzuki, Ibuki Kawamata, Shin-ichiro M. Nomura and Satoshi Murata, "Stepping operation of rotary DNA origami device", Chemical Communications, 2017, [in press](#).
2. 佐藤祐介, 川又生吹, 野村慎一郎, "アミーバ型分子ロボットの可能性 特集(1): 臨床検査は人工知能 AI をどのように利用できるか", 医療と検査機器・試薬, 40(3),2017, 印刷中
3. Keitel Abraham Cervantes-Salguero, Ibuki Kawamata, Shin-ichiro M. Nomura and Satoshi Murata, "Unzipping and Shearing DNA with Electrophoresed Nanoparticle in Hydrogel", Phys. Chem. Chem. Phys., 2017, in press, DOI: 10.1039/C7CP02214J.
4. Yusuke Sato, Yuichi Hiratsuka, Ibuki Kawamata, Satoshi Murata, Shin-ichiro M. Nomura, "Micrometer-sized molecular robot changes its shape in response to signal molecules", Science Robotics,01 Mar 2017: Vol. 2, Issue 4; DOI: 10.1126/scirobotics.aal3735.
5. Daisuke Kandatsu, Keitel Cervantes-Salguero, Ibuki Kawamata, Shogo Hamada, Shin-Ichiro M. Nomura, Kenzo Fujimoto and Satoshi Murata, "Reversible Gel-Sol Transition of Photo-Responsive DNA Gel", Chembiochem (2016, Jun), 17(12) 1118–1121; doi:10.1002/cbic.201600088.
6. "BIOMOD: 分子ロボティクスの次世代育成大会" 佐藤祐介, 瀧ノ上正浩, 野村 M. 慎一郎, 生物物理 56 (5), 290-292 (2016). doi: 10.2142/biophys.56.290

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Yusuke SATO, Yuichi HIRATSUKA, Ibuki KAWAMATA, Satoshi MURATA, Shin-ichiro M. NOMURA, "DNA device and molecular motors control dynamic shape change of giant liposome in response to DNA signal" FNANO(2017), @SNOWBIRD, UT, USA, 20170410–13.
2. Yusuke SATO, Yuichi HIRATSUKA, Ibuki KAWAMATA, Satoshi MURATA, Shin-ichiro M. NOMURA, "Motility control of amoeba type molecular robot by DNA devices and molecular motors" DNA22, @LMU, Munich, Germany (2016) 20160904-08.
3. Katsuhiko Nishijima, Takashi Nakakuki, Yusuke Sato, Shin-ichiro Nomura, "DNA switcher for a Molecular Robot", International Conference on Information and Communication Technology Robotics (ICT-ROBOT 2016), @Busan, Korea.
4. Yusuke SATO, Yuichi HIRATSUKA, Ibuki KAWAMATA, Satoshi MURATA and Shin-ichiro M. NOMURA, "Construction of liposome-based molecular robot: molecular motors and simple DNA circuit transform their compartment", FNANO(2016), @SNOWBIRD, UT, USA.

5. "Molecular robots under construction: amoeba-type artificial cell model", 野村 慎一郎, 佐藤 佑介, 平塚 祐一, 川岸 由, 小椋 利彦, 川又 生吹, 村田 智, ナノバイオテクノロジーとバイオセンシングに関するジョイントシンポジウム, 第 64 回応用物理学会春期学術講演会, パシフィコ横浜, Japan, 15, Mar. 2017.
6. "自動人工アメーバ型マイクロ分子ロボット", 野村 慎一郎, NI-SIGNAC-CCS 合同研究会, 東京工業大学大岡山キャンパス, Japan, 10th Mar. 2017.
7. "Molecular robotics approach for creating artificial cells", Shinichiro Nomura, The 6th Conference on Exploring Next-Generation Materials Science and Nanoscience (6NGMSNS), NISEKO CONFERENCE CENTRE, Niseko, Hokkaido, Japan, Jan 7th, 2017.
8. "Robotic Vesicle: Motility Control of Microcapsule by DNA devices and Molecular Motors", Y. Sato, Y. Hiratsuka, I. Kawamata, S. Murata, S. M. Nomura, Thirteenth International Conference on Flow Dynamics, Sendai, Miyagi, Japan, 10-12, Oct. 2016.
9. "細胞様構造をつくる分子ロボットのデザイン", 野村 M. 慎一郎, アストロバイオロジーネットワーク 2016 年年会 (仙台), 東北大学, 22-23, Sept., 2016.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. ノラヤサイエンスバー「人工細胞と分子ロボ」, 野村慎一郎, 2016/11/19, 国内
2. aPlayer「人工細胞・人工生命の塚」, 資料提供 野村慎一郎, 茨城県北芸術祭, 2016/9/22, 国内.
BS フジ「ガリレオ X」にて紹介.
3. 分子ロボットをつくる 野村 M. 慎一郎, 「このロボットがすごい 2016」ロボット学会講演会, 2016/9/9, 国内.

(4) 特許出願

なし