

# 自然界的奈米驅動器：生物分子馬達簡介

林致廷 國立台灣大學電子工程學研究所 助理教授

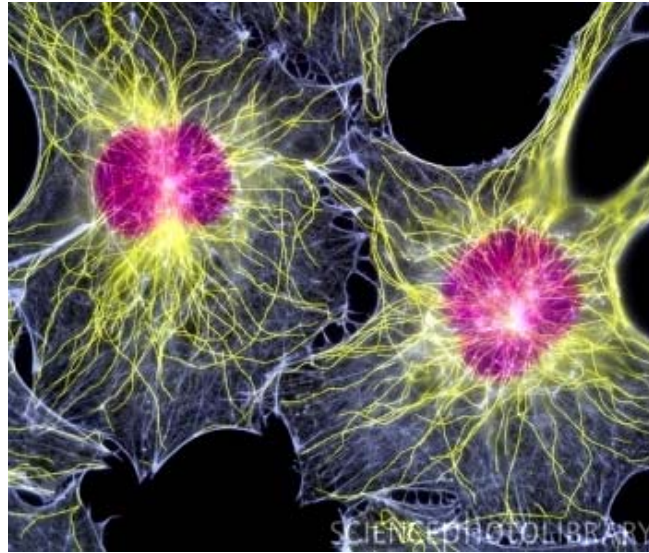
## 摘要

近年來因為基礎生物分子研究的蓬勃發展，相關生物分子應用科技上有愈來愈多的研究成果發表，其中利用生物體內之奈米分子馬達來擷取生物能源亦引起廣泛的注意。本文將針對生物分子馬達進行簡單的介紹，並進一步說明其於體外運行的方式及利用統計力學建立模型，此模型的建立不但可以提供生物分子馬達相關應用的奈微米流體管道之設計準則，更可以此一模型為基礎對於在不同的外在環境下，諸如電場或流場，微管的運動方式提供有效的分析工具，以增進生物分子馬達於不同應用層面的發展。

## 一、前言

隨著生物科技的蓬勃發展，運用奈微米技術來提昇生醫檢測相關應用技術即成為重要的研究領域之一，同時，是否可以整合生物分子、細胞及組織所具有的功能進行實際的工程方面的應用亦成為一新興的研究領域。在數以萬計不同的生物分子(biomolecules)中，生物蛋白質馬達(biomolecular motor protein)在細胞內主要負責主動式驅動機制(active-driven mechanism)以維持細胞活動所需之相關機械式動作(mechanical operation)，生物演化出此種蛋白在於突破基於擴散效應與布朗運動之低效能運送機制，以轉化儲存於分子中的化學能成為運動的機械能為主，進行主動的運輸或是驅動，這些生物蛋白質馬達因其能以極有效率(high efficiency)且強健(robust)的方式將生物體內儲藏的化學能轉換成為生物細胞日常活動所需的機械能或電能，所以在基礎生物科學的研究領域內備受重視(Vale *et al.*, 1985)。近年來，多種生物蛋白質馬達於生物體內的基本運作模式及運作特性已漸次為科學家所瞭解，因此，進一步地，一系列針對生物蛋白質馬達可能的應

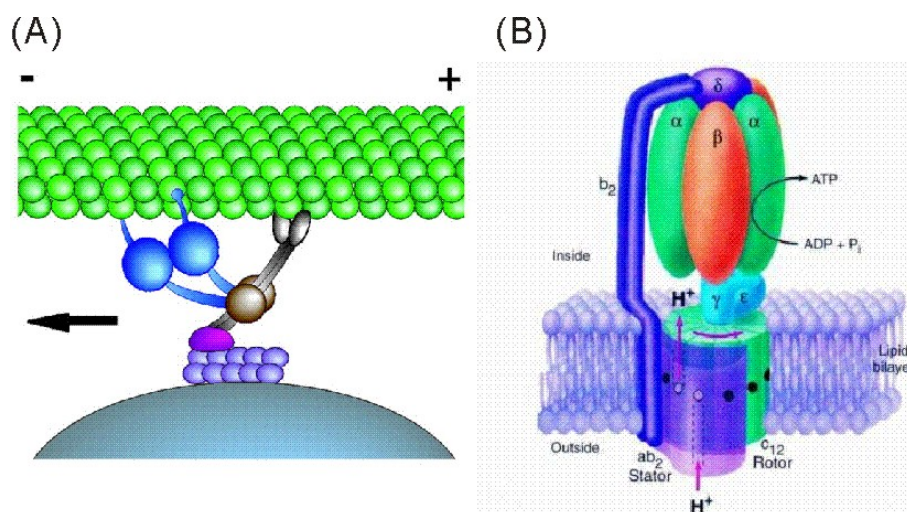
用，諸如植入式裝置(implant device)的能源擷取(energy harvest)及奈微米級分子運送裝置(molecular transportation)等，皆於國際的應用生物科技學術界中受到廣泛的討論並成為創新的研究領域之一。



圖一、細胞骨骼螢光顯微鏡照片(<http://www.immediart.com/>)。其中，紫色部分為細胞核，黃色部分為微管(microtubule)，淺藍色部分為微絲(actin)。

就如同現有電動機械馬達所具有的定子(stator)及轉子(rotator)一般，生物蛋白質馬達主要有分兩種方式進行驅動，一種是旋轉趨動的方式，另一種是直線驅動的方式，其中旋轉驅動的生物馬達分子主要為 ATPase，為一跨細胞膜之旋轉馬達，如同一般生活常見之旋轉馬達一樣，定子(stator)為固定在細胞膜上之蛋白質結構(protein domain, F0)，轉子則為另一與定子結構相互嵌入之蛋白質結構(protein domain, F1)，其主要功用在於產生細胞內其他蛋白質結構所需之高能化學分子：三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)。而於直線驅動方式的蛋白質馬達，亦可以分成兩種主要構成：一為細胞骨骼(cytoskeleton)：其作用有如電動機械馬達中之定子，為相對靜止不動的部分，此一細胞骨骼亦是構成細胞型狀的結構體，如圖一所示；另一則為馬達蛋白(motor protein)：其作用有如電動機械馬達中的轉子，為相對運動的部分，將化學能轉換為機械能之奈微米架構即為

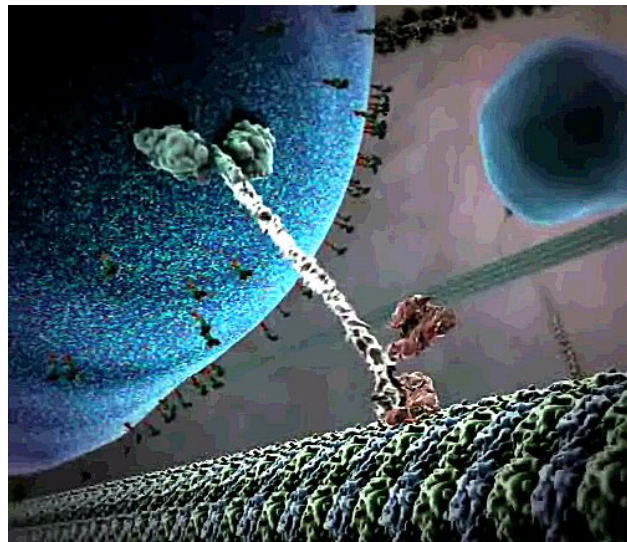
motor protein 結構之一部分；所以，簡而言之，可以將細胞骨骼視為在機械工廠中的運行軌道而馬達蛋白則是運行各個軌道上的驅動器。在現有已發現的生物蛋白質馬達大致上可以分成三種主要的族系(family)：(1)微管(microtubule)與驅動蛋白(kinesin)；(2)微管(microtubule)與動力蛋白(dynein)；(3)微絲(actin)與肌凝蛋白(myosin)。這三組生物蛋白質馬達基本的動能產生機制皆是水解三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)的化學能轉化成機械能進行運用，而在各種的細胞活動中這三組生物蛋白質馬達皆各有其職，如：微管與驅動蛋白主司細胞內的直線傳輸運動，驅動蛋白沿著微管的結構由負端運動至正端；微管與動力蛋白同樣主司細胞內的直接傳輸運動，然動力蛋白是順著微管結構由正端運動至負端；微絲與肌凝蛋白主要則是進行收縮及伸張的驅動方式，這一組亦是構成肌肉細胞能夠收縮伸張的主要驅動機制來源。這一些生物蛋白質分子馬達是自然演化出的奈米馬達，如圖二所示，其運用主動式的驅動方式讓細胞具有更有效地傳輸及運動機制。有鑒於生物蛋白質分子馬達種類繁多，本著容易於生物晶片上的應用方式，在本篇的文章中將著重於介紹微管與驅動蛋白這一組具有直線運動模式之生物分子馬達。



圖二、生物蛋白質馬達示意圖。(A)微管與動力蛋白(<http://jcs.biologists.org/>)；  
(B)ATPase(<http://www.ibri.org/>)

## 二、微管與運動蛋白

運輸蛋白(Kinesins)是生物體內數種主要的生物蛋白質馬達中的一種，其藉由水解(hydrolyze)生物體內最主要的高能量分子—三磷酸腺苷(Adenosine Triphosphate, ATP)來獲取化學能並將之轉化為機械能用來主動運送(active transportation)細胞內的物質，其中最重要的特性就是可以沿著細胞內的微管(microtubules)以每一步八奈米的步伐做線性運動，如圖三所示，進一步的說明，運輸蛋白及微管的關係就有如火車頭及鐵軌的關係，運輸蛋白沿著微管的方向帶著其他分子貨物(vesicles)移動，且其能夠直接從週邊環境的細胞液中取得高能量分子轉化成動能而不需要外界供給其他形式的能量諸如電能或磁能。以下即針對此組生物蛋白質馬達做進一步的介紹。



圖三、微管與驅動蛋白於細胞中運作示意圖(<http://maepro.uta.edu/>)。圖中下方長型物體即是微管，中間有如 I 型結構者即為驅動蛋白，左上方成橢圓球狀物則為輸送之球泡(vesicle)。

**微管(microtubule)**

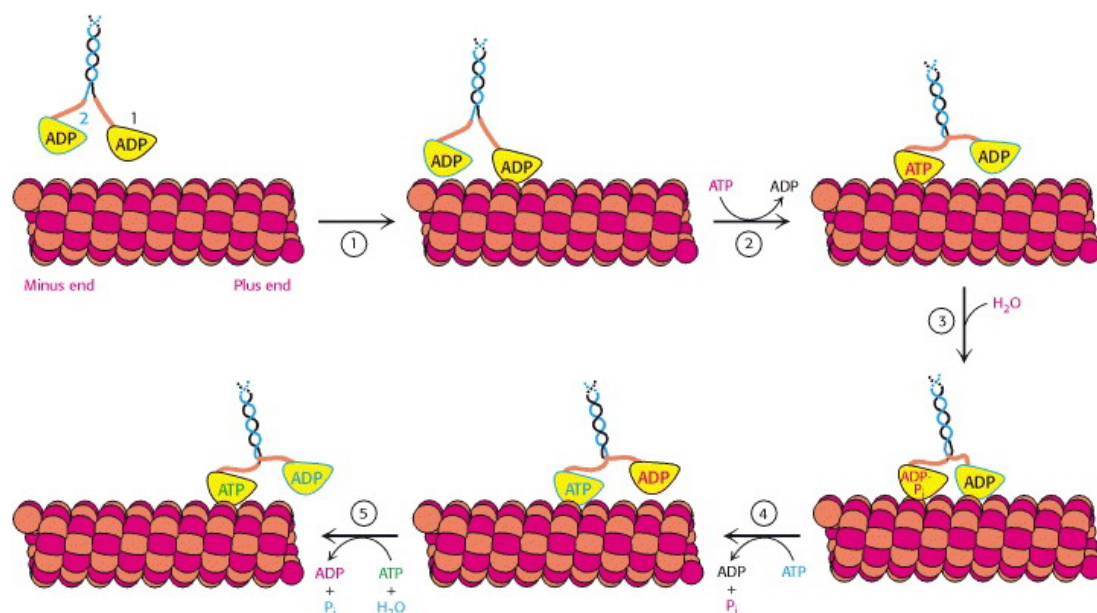
微管(microtubule)是細胞內最主要的一種細胞骨架，此一骨架支撐起細胞的型狀，也因為其密集的程度，使得驅動蛋白可以十分便利地運用這些細胞骨架做為軌道。微管一般是由 13 條纖維(protofilament)構成的中空管狀結構(Amos and Amos, 1991)，如圖四所示，直徑 22~25 奈米，在人工環境之下，有時候會以 12~14 條纖維構成微管，但是非 13 條纖維構成的微管通常會因為內部應力的不平衡而產生微管彎曲的狀況。構成微管的每一條原纖維都是由微管蛋白二聚體(tubulin dimer)排列聚合而成，此一微管蛋白二聚體由  $\alpha$ -tubulin 和  $\beta$ -tubulin 構成(Desai and Mitchison, 1997; Downing, 2000)，此兩種亞基的結構相似均可結合三磷酸鳥苷(Guanine TriPhosphate, GTP)，但是， $\alpha$ -tubulin 結合的 GTP 從不發生水解或交換，結合後在微管中 GTP 將成為是  $\alpha$ -微管蛋白的固有組成部分；而作為 GTP 酶， $\beta$ -tubulin 可水解結合的 GTP，而已結合的 GDP 可交換為 GTP。值得注意的是，為因應細胞活動的需求，微管具有動態不穩定性(dynamic instability, Walker *et al.*, 1988; Janosi *et al.*, 2002)，換句話說，只有在細胞需要的時候才會由微管蛋白組合(polymerize)而成，在沒有需要的時候，細胞會將其還原成微管蛋白(tubulin)的型態。因為微管形成後亦負責維持細胞的形狀，其基本的機械性質諸如撓度(flexural rigidity)等也已利用熱擾動(thermal fluctuation, Gittes *et al.*, 1993)、流體動力場(hydrodynamic flow, Dye *et al.*, 1993)及光學鑷子(optical tweezers, Kurachi, *et al.* 1995)等技術進行分析，其撓曲剛度(flexure rigidity)約在  $1\pm 2\times 10^{-24} \text{ N}\cdot\text{m}^2 \sim 30\pm 2\times 10^{-24} \text{ N}\cdot\text{m}^2$ ，相關基本的機械及力學性質可以說是探討的相當清楚。此外，微管和微絲(actin)一樣，具有生長速度較快解離速度較慢的(+)端和生長速度較慢解離速度較快的(-)端。

### **驅動蛋白(Kinesin)**

此一分子馬達首先於章魚及哺乳類動物的腦中發現(Vale *et al.*, 1985, Brady *et al.*, 1985)，由驅動區(globular motor domain)、長形連結區(coiled-coil segment)及結合區(globular tail domain)所組成。在細胞環境中，驅動蛋白主要是依靠兩個

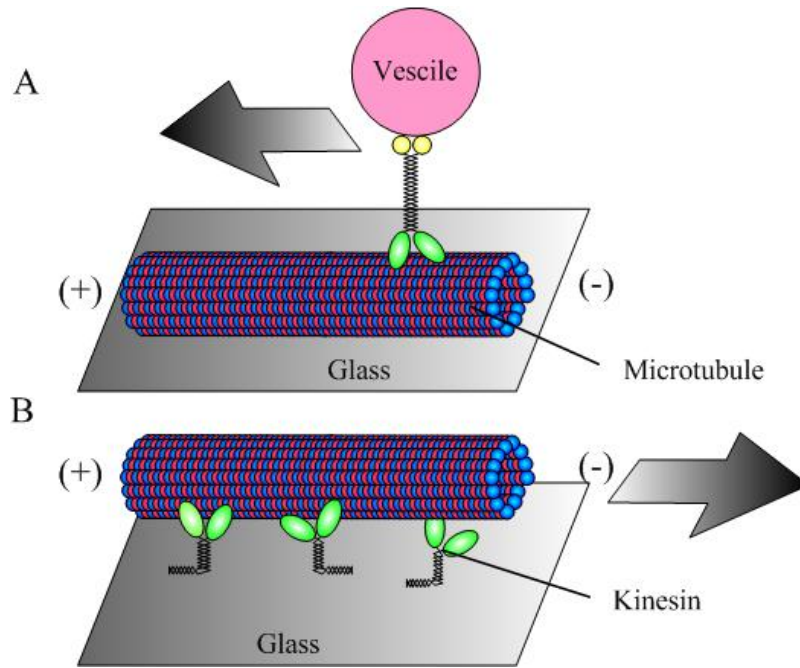


驅動區交互與微管結合達成移動前進的效果，更仔細的說明，當驅動蛋白中的一個驅動區與微管結合後，其 ATP 反應區將結合一 ATP 分子並水解此一 ATP 分子取得儲存於磷酸根中的化學能量後，轉換成應變能(strain energy)後，造成驅動蛋白的分子形狀改變，這一個改變將使的另一個驅動區往前移動至下一個微管結合區進行結合開始下一次的 ATP 水解，此一反應將可以讓驅動蛋白的兩個驅動區交互前進，相關水解 ATP 於微管上運動的模型可以簡示如圖四。驅動蛋白這一分子馬達普遍存在於所有細胞中，它被運用於各種細胞活動中，諸如：有機質的輸送(organelle transport, Hirokawa, 1998)、染色體分裂(chromosome segregation, Walczak and Mitchison, 1996)及細胞間訊號的傳遞(cellular signaling, Sissons et al., 1997)。經由非生物環境(*in vitro*)的實驗測試，此一分子馬達的基本關鍵參數已經確定，諸如：其可產生 4 至 7 pN 的力量(Hunt et al., 1994; Meyhofer and Howard, 1995)、每一次可移動 8 nm 的距離(Svoboda et al., 1993; Kojima et al., 1997)而由化學能轉為機械能的轉換效率約為 50%(Hua et al., 1997; Vischer et al., 1999)。經由以上的發現，可以獲得兩大重大的結論：(1)此一分子馬達已證實可於非細胞內(*in vitro*)環境運作；(2)此一分子馬達的運動方向取決於 Microtubule 的方向(polarity)，一般生物體內皆時由負端移動到正端。



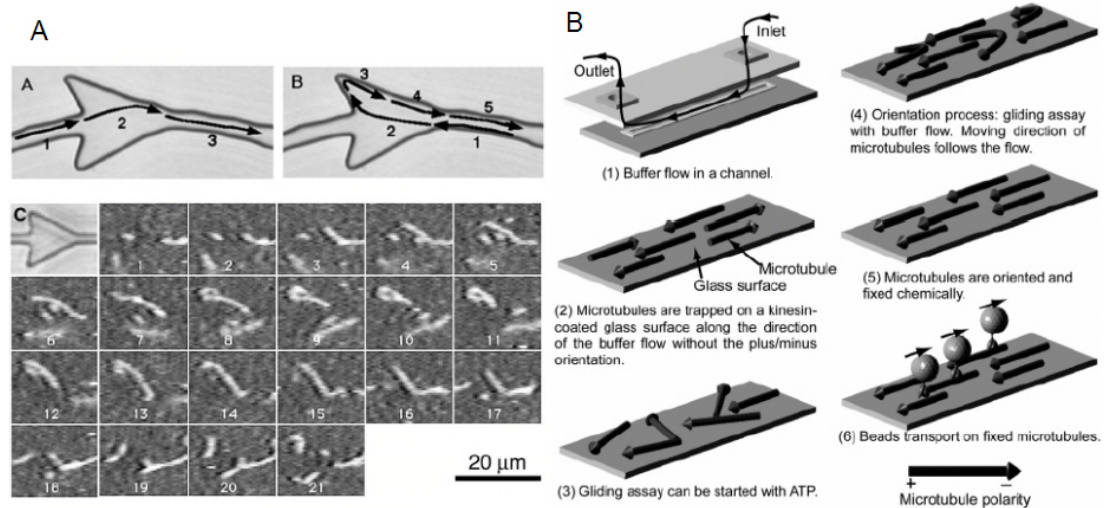
圖四、微管與運動蛋白驅動機制示意圖(<http://ncbi.nlm.nih.gov>)。

在生物體外的環境，經過之前的實驗研究證實，驅動蛋白與微管亦可以達到和生物體內同樣的主動式移動的功用，然而，不同於細胞體內(*in vivo*)的運作模式—微管靜止不動而驅動蛋白於微管上移動，應用於體外環境的運作模式除了比照體內將微管固定於晶片表面，讓驅動蛋白在微管上移動；通常還有另外一種方式，就是將驅動蛋白固定於微流體管道或是微流體晶片的表面上不動，而讓微管於驅動蛋白上滑動(*gliding*)，如圖五所示。這兩種在體外應用驅動蛋白的方式各有利弊，以固定微管讓驅動蛋白在微管上移動的方式，可以清楚的觀察到單一驅動蛋白的移動模式與機械特性，然而因為驅動蛋白兩個驅動區交互與微管結合的過程中，會有一定的機率會造成兩個驅動區皆沒有與微管結合，如此會使得驅動蛋白離開微管而成為浮動無法前進的狀況，這種狀況在細胞體內也可以經常觀察的到，但是，細胞體內的微管密度十分的高並且成三維的架構排列，所以浮動的驅動蛋白可以很快的利用布朗運動與其他的微管進行結合，從而開始新的運動。有鑒於此，在體外應用驅動蛋白的實驗上，即有研究學者將驅動蛋白固定在生物晶片的表面，當微管與晶片表面的驅動蛋白結合時，因為微管的長度通常皆是微米等級，因此，同時將可以有較多的驅動蛋白與微管結合，利用多數驅動蛋白共同協力的驅動方式不但可以避免因為單一驅動蛋白無法順利結合時所造成的問題，更可以取得遠大於單一驅動蛋白所能驅動的力量，有助於將其應用在驅動人造物體的可能性。



圖五、(A)運動蛋白及微管於細胞內之運作模式示意圖；(B)運動蛋白及微管於細胞外之運作模式示意圖。

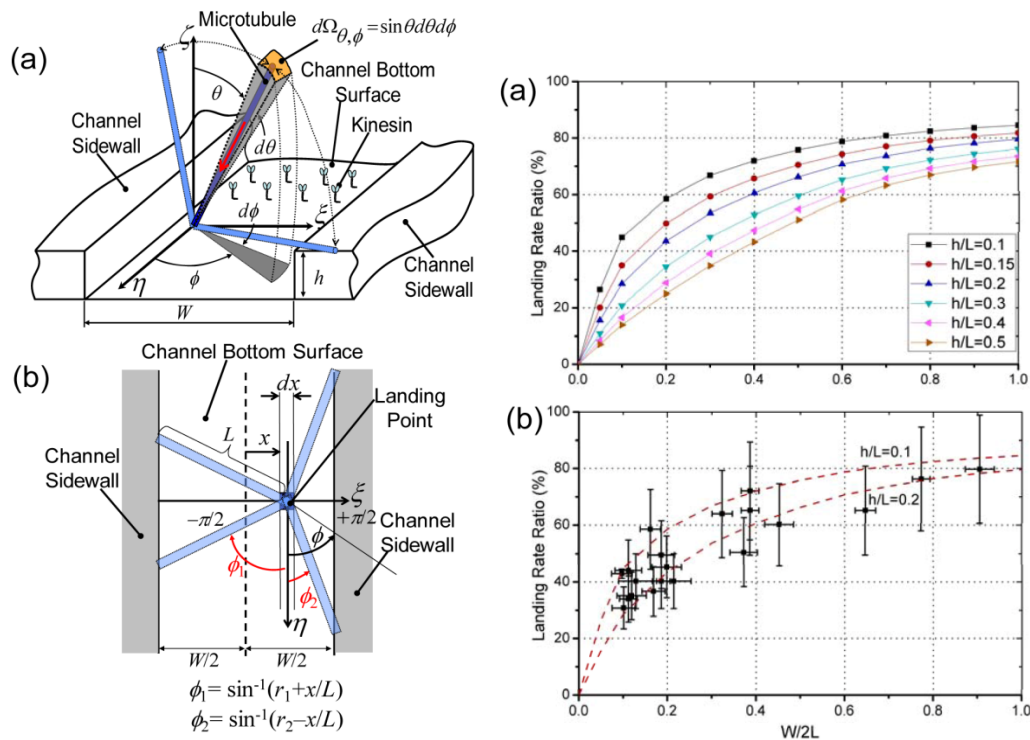
### 三、微管與微結構互動之模型



圖六、生物晶片上利用微管進行運動之研究成果。(A)利用微結構導引微管運動的方式(Hiratsuka *et al.* 2001)；(B)利用微流場導引微管運動的方式(Yokokawa *et al.*, 2004)



為了能夠在生物晶片的表面上利用驅動蛋白與微管協助我們進行奈微米等級的運輸，有很多學者已針對此一項目進行研究(Hiratsuka *et al.*, 2001; Yokokawa *et al.*, 2004; van den Heuvel *et al.* 2006)，如圖六所示，其中，以在晶片表面上固定驅動蛋白進行運送微管的方式為基礎，再利用微結構的設計來達成引導微管運動的方向普遍受到相關研究學者的使用(Lin *et al.*, 2006; Lin *et al.*, 2008)，而相關的奈微米流體結構對於滑動(gliding)於運輸蛋白(kinesin)上的微管(microtubule)而言，可以模擬為滑動之障礙物(obstacle)，此一障礙物不但會影響微管由緩衝溶液(buffer)中進入奈微米流體管道，亦會影響微管於運輸蛋白上滑動的方向。因此，利用統計力學(statistical mechanics)中波茲曼分布(Boltzmann's distribution)的基礎模型，考量微管於運輸蛋白上滑動的能量分布及微管及奈微米流體管道相互的作用，將可以對奈微米流體管道對微管滑動的影響做一整體性的分析，並建立微管於體外環境(*in vitro*)中的運作模型，進一步設計生物晶片實驗架構以驗證所發展之微管運作模型。



圖七、微管進入微結構管道示意圖及實驗結果(Lin *et al.*, 2009)。

微管在浮動(floating)於緩衝溶液中時，其韌長(persistence length)長達數釐米(mm)，而在做實驗之微管一般長度為數微米( $\mu\text{m}$ )至數十微米( $\mu\text{m}$ )，即使有考慮熱擾動的狀況，數十微米長的微管仍然不會因為熱擾動而有彎曲的現象，因此，其在浮動時可以模擬為一彈性之中空圓柱，此一中空圓柱之直徑為 25 奈米(nm)，長度為數微米( $\mu\text{m}$ )。當此一中空圓柱因熱擾動(thermal fluctuation)擴散(diffusion)至奈微米流體管道表面時，根據其接近晶片及微結構表面的角度(orientation)，可以明確地知道微管是否可以晶片的表面將受到微結構的影響，而只有接觸到晶片表面的微管才會受到表面驅動蛋白的牽引進入表面進行運動，考慮各種微管進入的存在機率(probability)及利用奈微米流體管道的形狀(topography)作為邊界條件(如圖七所示)，整個模型即可以用進入角度的方式進行考慮：

(1)

因此，也就可以據此求得微管可進入奈微米流體管道之機率，而  $\theta$  及  $\phi$  為微管接近表面時的型態參數。此種方法不但可以計算出微管是否可以與奈微米流體管道中的運輸蛋白結合(binding)的機率，更可以並且據此估算微管進入奈微米流體管道的機率以利奈微米流道的設計，此一模型可以利用實驗進行驗證，並取得良好的預測結果(95%信心區間，測試數量  $N=2000$ )。

#### 四、結論

利用自然演化之生物分子馬達來進行生物晶片的驅動是一個新興的研究領域，利用基本的力學結構知識與統計力學的基礎，將可以有效的建立相關生物分子馬達於生物晶片上互動之模型，在此一新興的研究領域將可建立極佳的先導性

設計準則。此一文章相關研究工作感謝國科會(NSC95-2218-E-002-072)。

## 參考資料

1. Brady, S. T., "A Novel Brain ATPase with Properties Expected for the Fast Axonal Transport Motor," *Nature*, 1985, 317, 73-75.
2. Desai A. and Mitchison, T. J., "Microtubule Polymerization Dynamics," *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 1997, 13, 83-117.
3. Gittes, F., Mickey, B., Nettleton, J., and Howard, J., "Flexural Rigidity of Microtubules and Actin filaments Measured from Thermal Fluctuations in Shape," *J. Cell Biol.*, 1993, 120, 923-934.
4. Hirokawa, N., Noda, Y., and Okada, Y., "Kinesin and Dynein Superfamily Proteins in Organelle Transport and Cell Division," *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1998, 10, 60-73.
5. Hua, W.; Young, E.C.; Fleming, M.L.; Gelles, J., "Coupling of Kinesin Steps to ATP hydrolysis," *Nature*, 1997, 388, 390-393.
6. Hunt, A. J., Gittes F., and Howard J., "The Force Exerted by a Single Kinesin Molecule against a Viscous Load," *Biophysical J.*, 1994, 67, 766-781.
7. Kojima, H., Muto, E., Higuchi, H., and Yanagida, T., "Mechanics of Single Kinesin Molecules Measured by Optical Trapping Nanometry," *Biophys. J.*, 1997, 73, 2012-2022.
8. Lin C.-T., Kao, M.-T., Kurabayashi, K., and Meyhofer E., "Efficient Designs for Powering Microscale Devices with Nanoscale Biomolecular Motors," *Small*, Vol. 2, p281-287, 2006.
9. Lin, C.-T., Kao, M.-T., Kurabayashi, K., Meyhofer, E., "Self-contained,

- biomolecular motor-driven protein sorting and concentrating in an ultrasensitive microfluidic chip”, *Nano Letters*, Vol. 8, p1033-1040, 2008.
10. Lin, C.-T., Kao, M.-T., Meyhofer, E., Kurabayashi, K., “Surface landing of microtubule nanotracks influenced by lithographically patterned channels,” *Applied Physics Letters*, 95, 103701, 2009.
  11. Meyhofer, E. and Howard, J., “The Force Generated by a Single Kinesin Molecule against an Elastic Load,” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92, 574-578.
  12. Vale, R. D., Schnapp B. J., Reese, T. S., and Sheetz, M. P., “Different Axoplasmic Proteins Generate Movement in Opposite Directions along Microtubules *In Vitro*,” *Cell*, 1985, 43, 623-632.
  13. van den Heuvel, M. G. L., de Graaff, M. P., and Dekker C., “Molecular sorting by electrical steering of microtubules in kinesin-coated channels,” *Science*, **2006**, 312, 910-914.
  14. Yokokawa, R. Takeuchi, S., Kon, T., Nishiura, M., Sutoh K., and Fujita, H. J., “Unidirectional Transport of Kinesin-Coated Beads on Microtubules Oriented in a Microfluidic Device,” *Nano Letters*, 2004, 4, 2265-2270.