

京都大学大学院理学研究科、教授

吉川 研一

「自己生成するナノ秩序体：
高次構造制御と機能発現」

研究期間：平成11年11月1日～平成17年3月31日

1. 研究実施の概要

“生命とは何か”この問いは人類にとって太古からの謎であった。21世紀の初頭である現時点に至っても、“生命体の自己組織化”の不思議は、未だに解けない難問であり続けている。

生命は、自らの体を時間発展により作り出し、損傷を受けても自己修復することにより命を営んでいる。20世紀後半より遺伝子、すなわちDNAの一次構造に関する研究は急進展してきている。しかしながら、生命体の巧妙な自己組織化能については、まだ殆ど手がついていないといっても過言ではないであろう。単一の細胞であっても極めて複雑な存在であり、それを構成する個々の分子の構造や動態を調べるアプローチだけでは、生命の謎を解き明かすのはおそらく不可能であると思われる。生命の謎に迫るには、実空間上でのモデルをつくることにより、“命あるもの”のシステムの特質に迫ることが有効であろう。本研究では、熱力学的に非平衡の条件における時空間での自己組織化現象を、分子レベルからボトムアップ的な手法でもって追求することを目的とした。なかでも、DNAを代表とする高分子の単一分子鎖レベルでの特質を解明し、ナノメートルスケールでの自己秩序体を自己生成させる方法論を確立することを重点課題とした。

以下では、まず、これまでの研究成果の要約を述べる。

[研究成果全体についての概要]

1) 巨大DNA単一分子鎖の折り畳み転移の制御とナノ秩序構造の自己生成

細胞中のゲノムDNAは、一般に知られているように巨大な高分子である。吉川らは、数十キロ塩基対以上の長鎖DNAが数万倍以上の密度変化を伴う折り畳み転移を示すことを、世界に先駆けて明らかにした。CRESTの研究助成により、この折り畳み転移がコイル状に広がった無秩序な状態から、高度に秩序正しく折り畳まれたコンパクトな状態への、不連続な転移であることを明らかにした(Landau流の一次相転移)。このことにより、多様なナノメートルオーダーの折り畳み構造体を単一のDNA分子から生成する手法を確立することに成功した。ごく最近では、真珠の首輪(pearling)構造も単一のDNA分子から作り出せることを示すなど、先導的な研究を進めてきている。これらは、二度に渡ってEur. J. Biochem.の表紙として取り上げられるなど、国際的な反響を呼んでいる。

2) 高分子の高次構造制御に関する一般理論の構築と実験での検証

単一高分子鎖からの、ナノ秩序構造形成に関する理論的な相図を世界で初めて示すことができた。長鎖DNAの折り畳み転移の実験で、これらの全てのナノ構造が現実に形成されることを確認している。またDNAのみならず、アクチンやコラーゲンなどの高次構造転移についても、荷電の効果を取り入れた理論に沿ってその相変化を予測し、一定の厚みを有する束構造(bundle)をデザインして生成させることに成功している。カーボンナノチューブとDNAが複合体を作ることにより、ナノチューブを水溶液中で可溶化することが可能であることも示した。

3) DNA の高次構造スイッチングと遺伝子活性との関連性の解明

長鎖 DNA の折り畳み転移は数万倍の密度変化をともなう。この構造変化と酵素反応との相関を調べることによって、RNA の合成反応（転写反応）に on/off の変化を引き起こすことを、単一分子における可視化の実験を行うことにより明らかにした。従来、遺伝子の活性は鍵と鍵穴の間の相互作用により制御されているとされてきているが、これでは、細胞分化などの厳格な on/off の制御は説明不可能であった。折り畳み転移が遺伝子活性のスイッチとして働くとの新知見は、生命科学の研究に極めて大きなインパクトを与えるものとなっている。最近では、DNA からの発現、すなわちタンパク質合成に至る過程の制御にも研究を進展させており、細胞の 2 時間周期のリズムが形態形成に直接関わっていることを見出し、理論的なモデルを提唱している（Science 2002）。

4) DNA の折り畳み転移と高いキラル選択性

2 重らせん DNA に対しては、様々な相互作用をする化学物質が知られてきている。しかしながら、分子量が数百程度までの光学活性な低分子化合物におけるキラル選択性は、僅かに数%程度であった。本研究では、DNA の折り畳みを引き起こす低分子物質をデザインして合成することにより、99%以上のキラル選択性を実現することに成功した（JACS 2002）。これは、名大の村田グループがなした貴重な成果である。高分子の折り畳みや凝集現象を利用して高度なキラル選択性を図るといった手法は、今後の化学や生化学の分野で大きく発展する可能性が高い。

5) 細胞サイズ(μm スケール)空間での生化学反応系の確立

生命の基本単位の細胞は、リン脂質二分子膜による閉鎖空間を反応場としており、それをもとに多様かつ特異な機能を創出している。この謎に迫るべく、細胞スケールの 2 分子膜系に関する研究を進めている。その結果、DNA を含む転写反応溶液をリン脂質の多層膜と接触させると、反応液を取り込んだ細胞サイズの小胞が自発的に形成される条件を確立することに成功した（Langmuir 誌,2002,の表紙としてとりあげられた）。さらに、タンパク質を合成する小胞系を作り出すことも出来るようになってきている。このような研究成果は、生命の起源の研究などとも関連するのみならずバイオテクノロジーへの応用も有望であり、今後の展開が期待される。さらに、レーザーを活用した化学物質の細胞やリン脂質小胞への搬送実験にも成功している（これは、Nature 誌,2003,の News & View 欄に紹介されるなど、大きな反響をもたらしている）。

6) 定常レーザーによる分子複合体の自発的なリズム運動

エネルギーの定常的な流れの中に置かれた分子複合系は、規則的なリズム運動など、時空間の自己組織化を行うことが出来るものと予想される。しかしながら、これまで定常的な光照射のもとでリズム運動を引き起こすような研究例は皆無であった。我々は CREST の研究を通して、様々な自発的な運動を創りだすことに成功している。このような研究は、生命の自己組織化の謎に迫るものであるとともに、マイクロ・ナノスケールの分子機械についての新しい原理を指し示すものとして、大いに期待される。

7) 化学エネルギーを直接利用した分子複合系の自発運動

リズムを生み出す化学反応として知られている BZ 反応系を応用し、 μm スケールの液滴が方向を制御された運動を引き起こすことに成功した。また、油水系に陽イオン性の界面活性剤を添加し、油水二相の間に化学ポテンシャルを付与することによって、油滴に往復運動や回転運動などの自発的な運動を起こさせる実験系を構築した。これらは、化学エネルギーを直接ベクトル的な仕事に転換する系であり、事実上世界で最初の人工的な“分子機械”であるといえる。

8) 化学反応媒質を用いた非同期形並列演算

生物の演算の方式は、現存のコンピュータとは大きく異なっている。振動反応でのパルス伝播を利用して、実空間上で様々な時間演算が可能なことを示すことができた。この研究は、新しい型の自律演算装置のプロトタイプとなるものであり、この方向の研究は今後飛躍的に発展することが期待される。

上記のように、本CREST研究ではナノ秩序の自己生成に関する研究を展開してきた。これらの研究を進めるにあたって、時間軸上の事象を如何に制御し、如何に新しい時空間構造を創り上げていくのかといった、理論的あるいは物理化学的な設計指針の構築を心掛けてきた。得られた成果は、われわれのグループ独自の発想により研究を発展させてきた結果であり、国内外に類を見ない極めて独創性の高いものとなっている。DNAの折り畳み、分子鎖の部分相分離、化学領域の非線形現象などの、個々のテーマに関しては、少なからぬ数のグループが後発的に参入して来ているが、これらを総合的な観点から統一的に研究を行っている例は皆無と言ってよい。さらに近年社会的な要請の増大から、遺伝子導入技術の確立や遺伝子発現制御、マイクロリアクターの構築、新しいエネルギー変換系の開発などに対する研究が盛んになってきており、いかにして効率的かつ安価な系を構築するかが大きな課題となっているが、その問題を解決する上で、本研究は得られた成果が基本的、あるいは原理的であるが故に、重要な意味を持つ。例えば、従来とは比較にならないほど効率的かつ安全な遺伝子導入を可能にすることなど、社会からの技術的な要求にも柔軟に対応できるものと思われる。さらに学問的にみても、本研究で得られた成果は、分子生物学・生物工学・高分子物理学・臨床医学といった、基礎研究から応用研究にわたる幅広い分野をカバーし、その発展に大きく寄与できると考えている。

2. 研究構想

生命は、核酸やタンパク質等の高分子や数多くの低分子化合物・イオンからなる高度に複雑な自律的システムとみなすことができる。なかでも、生体高分子の高次構造が幅広く種々の生命機能とかかわっていることが明らかになってきている。DNAと細胞内の代謝に関連して、われわれは、個々のDNA分子が明確に不連続な高次構造転移（一次相転移）を示すことを見出した。このような研究の中でホモポリマーであるDNAの単一高分子鎖の折り畳み構造には秩序が存在することを実験・理論両面から明らかにしている。そして、このような高次構造のスイッチング現象が遺伝子の転写や複製の制御とも深くかかわっていることを示唆している。

このような状況のもと、DNA分子の高次構造のスイッチングとそれによる秩序構造の生成の研究を他の天然・合成高分子系に応用し、“単一分子鎖によるナノ秩序対の自己生成”といった分野を新たに切り開くことを本プロジェクトの目的とした。具体的には、DNAやタンパク質のような機能性生体高分子や精密合成された人工高分子について人為的・合目的的に高次構造を制御し、新しいナノ秩序体を作り出す方法論の確立、さらに新たな機能発現を指向した高次構造の創出へと展開させることを目指した。

また、研究を進めていく中で、「生命」を考えるためには、高分子の高次構造転移だけではなく、生命を「非平衡開放系」として捉えて考察するというシステム論的な考え方が不可欠であるということが明らかになってきたため、当初の研究計画に加えて、非平衡開放系における時空間パターン創出のダイナミクスに関する研究も並行して行ってきた。

具体的には、次にあげる4つのグループに分けて研究を行うこととした。

ナノ秩序体構造・機能制御グループ

京都大学大学院理学研究科 吉川研究室

名古屋文理短期大学 吉川研究室

九州大学大学院医学研究院 松田研究室

研究実施項目：DNA凝縮体の高次構造制御法の確立を担当

概要：生命現象では、DNAの高次構造変化に伴い、遺伝情報の読み出しが巧妙に制御されていると考えられる。これまでに、本研究グループにおいて、高次構造と遺伝子発現の密接な関係を明らかにされつつある。蛍光顕微鏡、近接場顕微鏡、原子間力顕微鏡等を用いた1分子観察による詳細な実験的研究から、単一高分子鎖の高次構造と機能発現に関する研究をすすめる。

ナノ秩序体理論構築グループ

京都大学大学院理学研究科 吉川研究室

研究実施項目：ナノ秩序体の高次構造形成に関する理論構築を担当

概要：DNAに代表されるような半剛直(semi-flexible)な高分子鎖は、温度や凝縮

剤の濃度等の溶媒条件によって高次構造転移を起こし、nm オーダーの凝縮体を形成することが分かっている。そして、その凝縮構造は凝縮剤の種類や溶媒の塩濃度、高分子鎖自身の性質に依存性があり、非常に多様であることを我々の研究グループは明らかにしている。しかしながら、これらの構造形成メカニズムについては、まだ十分な理解がなされていない。そこで当該グループでは、分子動力学法やモンテカルロ法を用いた計算機シミュレーションにより、高分子ナノ秩序構造のメカニズムの解明、さらには、ナノ秩序体のデザインを目指した、高分子ナノ秩序構造制御の統一的な理論構築を目指している。

高分子秩序体分子設計グループ

名古屋大学大学院環境学研究科 村田研究室

研究実施項目：合成手法を活用したナノ秩序体研究を担当

概要：本研究グループにより、DNA がキラルな高分子鎖であるため、DNA の折り畳み構造変化において、凝縮剤のキラリティーが重要な役割を果たしていることが明らかにされた。この事実は DNA のみならず、分子同士のキラリティー相互認識が、キラルな高分子の高次構造や機能発現の制御において、重要な因子であることを意味している。そこで、キラリティーのある凝縮剤で形成された DNA 折り畳み構造体のナノスケールにおける高次キラル構造に注目して研究を行う。さらに、従来用いられてきた立体配座的に柔軟な凝縮剤ではなく、正電荷間の立体配座が強固な凝縮剤を用いて、凝縮剤と DNA のモノマー単位あたりの電荷間相互作用を精密に制御することによって DNA 折り畳み構造変化の機構を解明、その制御を目指す。

自己発展型非平衡分子システムグループ

京都大学大学院理学研究科 吉川研究室

フランス ストラスブール大学 中谷研究室

研究実施項目：非平衡分子系の時空間構造形成論の構築

概要：生命体は、膜構造を介して多くの高分子や低分子化合物およびそれらの集合体からなる、高度に複雑な自己発展型非平衡分子システムとみなされることから、時空間構造形成および情報の時間発展の機構解明は必須である。当グループは、これらを実現する基本要素として、1) 非平衡開放条件、2) 分子数が少なく、ゆらぎが顕在化したメゾスコピック (10^6 m 程度) 空間スケール、3) 自己の状態に依存して変化する境界条件に着目し、基本原理の解明を目指して、現在まで化学振動反応における反応場の制御、等温非平衡系で働く分子機械の創成、レーザー光ピンセットによる非平衡場の創出、非平衡開放条件下で自己創成するモデル細胞の構築について研究を進める。

3. 研究成果

3. 1 ナノ秩序体構造・機能制御グループ

哺乳動物細胞由来長鎖DNAのall-or-none折り畳み転移

(K. Yoshikawa, Y. Yoshikawa and T. Kanbe, *Chem. Phys. Lett.*, **354**, 354-359 (2002).)

水溶液中で DNA 分子は、ポリアミンをはじめとする種々の凝縮剤を作用させると、ランダムなコイル状態から二重らせん構造を保ったままコンパクトな凝縮状態へと変化する。このような *in vitro* での分子内相転移現象は、生体中において DNA の高次構造がどのように制御されているかを理解する上でも非常に重要である。本研究では、ブタ肝臓から 20 μm 程度の長さの DNA を抽出し、溶液中での折り畳み凝縮転移を直接蛍光顕微鏡で観察し、さらに詳細な凝縮構造を電子顕微鏡で観察することによって、以前に報告した T4 ファージ DNA の結果と比較検討した。

結果として、

1. ブタ肝 DNA は、T4 ファージ DNA と同様、ポリアミンによって all-or-none の凝縮転移をすることが明らかとなった。
2. 電子顕微鏡による微細な凝縮構造の観察から、T4 ファージ DNA で観察されたのと同様、トロイドやロッド状の凝縮高次構造が観察された。
3. 以上から、DNA 複合体の高次構造は、DNA の種類よりもむしろ凝縮剤の種類が決定要因となっていることが示唆された。

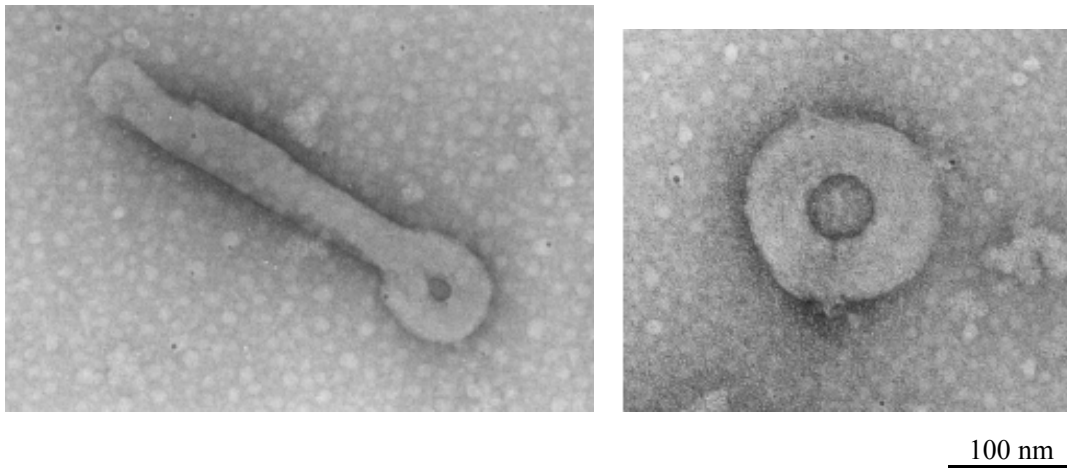


図. スペルミジンによって凝縮させたブタ肝抽出 DNA の透過型電子顕微鏡像

長鎖 DNA の蛍光・原子間力顕微鏡像とそのスケーリング解析

(N. Yoshinaga, K. Yoshikawa and S. Kidoaki, *J. Chem. Phys.*, **116**, 9926-9929 (2002).)

T4 DNA のような長鎖 DNA は蛍光標識色素を用いることにより可視化することができる。単一高分子鎖として粗視化した構造をリアルタイムで計測することができる。この方法は単分子レベルの不均一性を観測するために有効な実験法であるが、光のにじみの効果のため数百 nm 以下のスケールでの構造は観察することはできなかった。一方、原子間力顕微鏡(AFM)を用いると、nm スケールの分子の微細構造を測定できるが、AFM を用いるにはサンプルを表面に吸着させる必要があり、溶液中での構造と同一であるかを確認するのは困難であった。

本研究ではこれらの装置を組み合わせることで相補的に用いることにより同一分子の粗視化された構造とマイクロな構造の画像をはじめて得ることができた。この方法により、溶液中での DNA のダイナミクスを観測した後、同一分子のより微細な構造を可視化することができる。

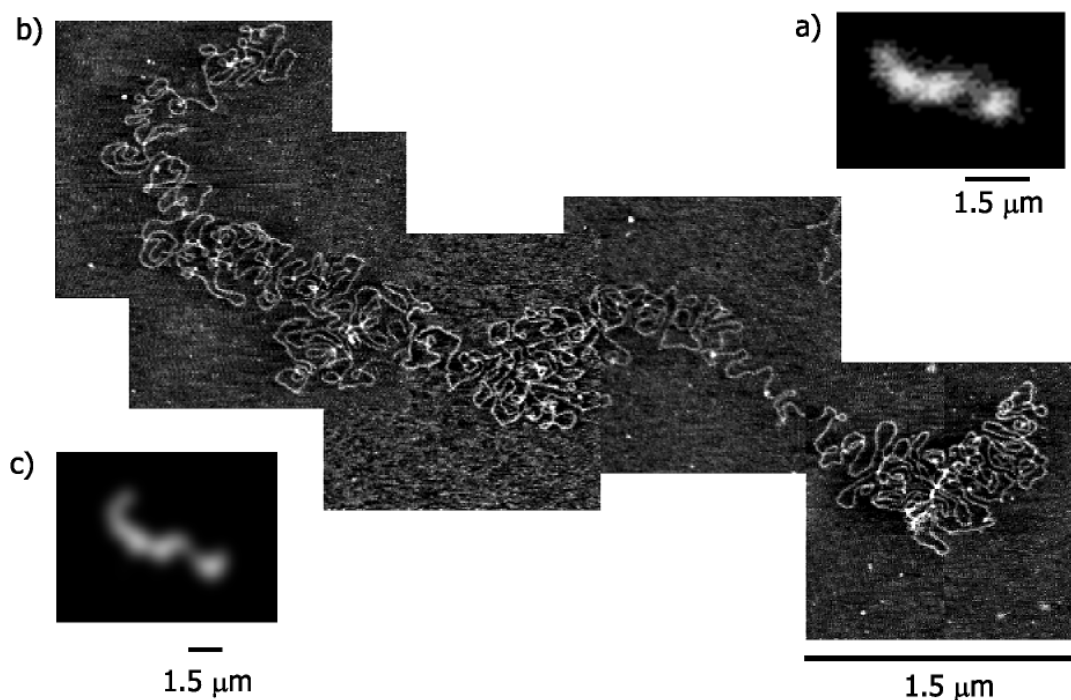


図. T4DNA の原子間力顕微鏡(AFM)像(b)。観察した DNA と同一の分子の蛍光顕微鏡像を a に示す。b の AFM 像から再構成した粗視画像。

得られた画像を解析することにより、蛍光画像での輝度分布がマイクロな高分子セグメント密度揺らぎに相当し、端点間距離 R と鎖に沿った長さ L との間のスケーリング指数 $\nu(R \sim L)$ が $\nu \sim 0.50$ となる通常の排除体積鎖に比べて密な領域がこの粗視化したスケールで存在することを明らかにした。

本研究の方法を用いることで、今後 DNA の様々な凝縮構造（トロイドやロッド、あるいは分子内相分離状態など）の微視的様子が得られることが期待できる。

pH 変化による DNA 高次構造のスイッチング

(N. Makita and K. Yoshikawa, *Biophys. Chem.*, **99**, 43-53 (2002).)

DNA の高次構造変化によって遺伝子発現の調節が可能になる長さ、すなわち数十～数百 kbp の遺伝子群単位の長さの DNA の高次構造変化（凝縮／脱凝縮転移）を、細胞内環境に近い溶液条件で制御し、その様式、要因を解明することは重要な研究課題となっている。本研究では、その最も基本的な因子の一つであるプロトン (H^+) の影響を検討した。ゲノム DNA は通常ヒストンなどの塩基性タンパク質と結合して折り畳まれて存在しているため、DNA 単独に対しての効果のみではなく、細胞内で DNA の折り畳みに関与している物質との相関も含めて、pH が及ぼす DNA 高次構造への影響を、蛍光顕微鏡を用いた単分子観察法によって明らかにした。

DNA の折り畳みには、4 価の陽イオンとして原核・真核細胞内に普遍的に存在するスペルミンを用いた。溶液の pH を一定 (pH 7.0) にした場合、スペルミンの添加によって長鎖 DNA 分子は膨潤した状態から折り畳まれて高密度に凝縮した状態へと、中間の状態を経ることなく不連続に高次構造が変化した。また、スペルミン濃度を一定 ($7.5 \mu M$) にし、溶液の pH を変化させた場合、弱酸性側では完全に凝縮状態、弱塩基性側では完全に膨潤した状態というように、中性付近の pH において DNA 分子は不連続な凝縮／脱凝縮転移を生じた。スペルミンが持つ 4 つの酸解離定数から、pH 変化に伴う各価数のスペルミンイオンの存在比を計算した結果、pH 上昇によって 4 価のスペルミンの存在比が急激に減少する pH 領域と DNA の高次構造転移が生じる pH 領域はほぼ一致し、pH 変化に伴う DNA 分子の高次構造変化の主要因は、4 価のスペルミン濃度であると推測した。

また、スペルミン濃度もしくは pH による DNA の高次構造変化を比較するために、解きほぐれた状態と折り畳まれた状態が共存するようなスペルミンの濃度領域、もしくは pH 領域において、各状態の DNA 分子の存在比を精密に調べて解析を行った。そして、DNA 凝縮に必要なスペルミン分子の個数を概算した。この結果と、対イオンによる DNA 凝縮理論や実験研究、さらに最近報告された DNA 凝縮体形成時の中和度の結果を基に、長鎖 DNA とスペルミンは 2 段階の結合様式を経て凝縮転移を生じるという仮説に至った。

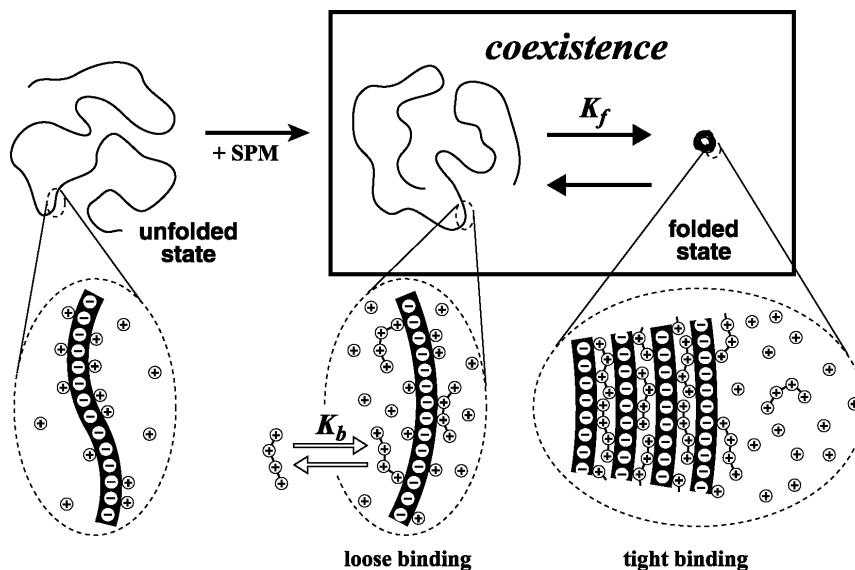


図. スペルミンと DNA との 2 段階の結合様式の模式図

カチオン性ゲルを用いた巨大二重鎖 DNA の高次構造・集合パターン制御

(S. G. Starodoubtsev, S. Kidoaki and K. Yoshikawa, *Biomacromol.*, 4, 32-37 (2003).)

本研究では、電解質高分子鎖のナノ秩序構造制御の方法論の拡充を目的とし、巨大二重鎖 DNA (ポリアニオン) の poly(diallyldimethylammonium chloride) ハイドロゲル (PDADMA カチオン性ゲル) 上での高次構造および集合パターンの特性解析を行った。互いに反対電荷を有するポリマーとゲルマトリックスとの相互作用系は、種々の生体材料の作製やその使用の際などにもよく見られる系であるが、その際のポリマーの高次構造挙動とその制御方法についての知見は限られている。この課題に対して特に本研究では巨大二重鎖 T4 フェージ DNA

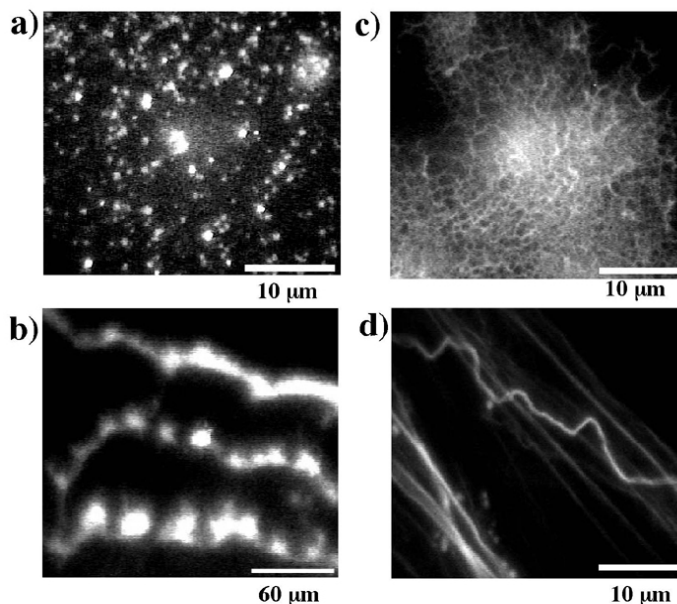


図. PDADMA 上における T4 DNA の高次構造制御。a) 単分子凝縮体。b) 波状多分子集合体。c) ネットワーク状多分子集合体。d) ファイバー状多分子集合体。

をモデル高分子電解質として活用し、蛍光顕微鏡を用いた DNA 分子の直接観察法により、上記 PDADMA カチオン性ゲル上での T4 DNA の単分子凝縮と多分子凝集体の形成について調べた結果、次の 4 種の特徴的な構造形成が見られることがわかった (図)。(a) の単分子凝縮構造は DNA 塩基濃度 20 μM 溶液をゲル表面上に滴下することにより形成された。(b) の波状多分子集合体および (c) のネットワーク状多分子集合体構造は低膨潤状態のゲル上にそれぞれ DNA 塩基濃度 60、20 μM 溶液を滴下した際のゲルのエッジ領域に形成される。

(d) のファイバー状多分子集合体構造は DNA 塩基濃度 20 μM 溶液をゲルに予め作製した流路に沿って強制的に一定の流速で流す際のその流れの効果により形成された。

これらの各構造はポリアニオン DNA 分子とカチオン性ゲルとの間で形成されるポリイオンコンプレックスの高次構造および集合体構造の多様性を示す。また、このような構造の多様性は、電解質高分子鎖のナノ・メゾスコピック構造の制御における、反対荷電ゲルマトリックス表面という場の活用の有効性を示唆するものであり、その活用は電解質高分子鎖の高次構造・集合パターン制御の基礎技術の一つとなり得るものと期待される。

わずかに架橋したカチオン性ヒドロゲルによる DNA 二次構造の認識

(V. G Sergeev, O. A. Novoskoltseva, O. A. Pyshkina, A. A. Zinchenko, V. B. Rogacheva, A. B. Zazin, K. Yoshikawa and V. A. Kabanov, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 11324-11333 (2002).)

ポリカチオン性線状高分子は DNA のアニオン部と相互作用して二本鎖あるいは一本鎖 DNA の凝縮を引き起こすことがわかっている。今回、わずかに架橋したカチオン性ヒドロゲルは二本鎖 DNA と一本鎖 DNA を容易に識別できることがわかった。二本鎖 DNA はヒドロゲル表面上に吸着して捕捉される (図)。コイル状態の T4 DNA 分子はゲル表面の方へ拡散し (a)、コイルの一部がゲルに付着すると (b)、数秒後には凝縮状態になった (c)。最終的にゲル表面全体は非常に高い蛍光強度の連続的な層で覆われた (d)。それに対して、一本鎖 DNA はヒドロゲル内部に入り込む。

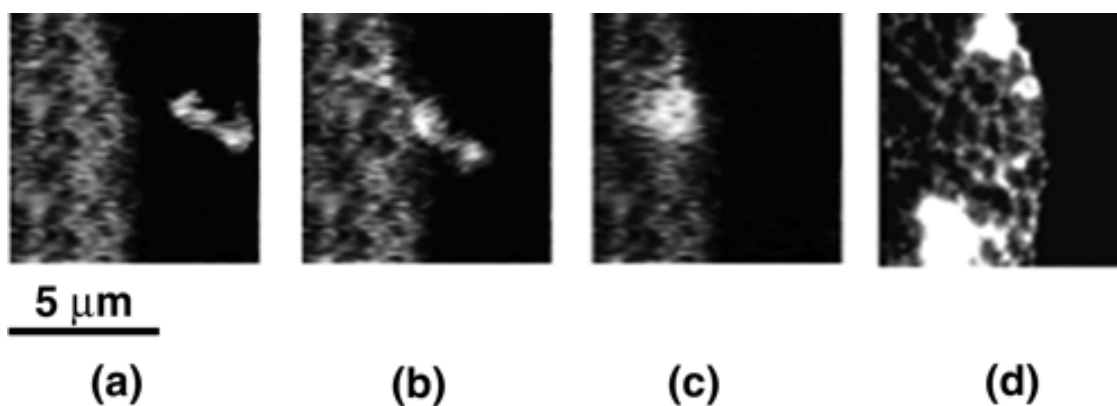


図. 蛍光顕微鏡による二重鎖 DNA がヒドロゲル表面上に吸着される様子 (2 秒間隔)。

時間変化におけるヒドロゲル上の DNA の吸着量を下図に示す。

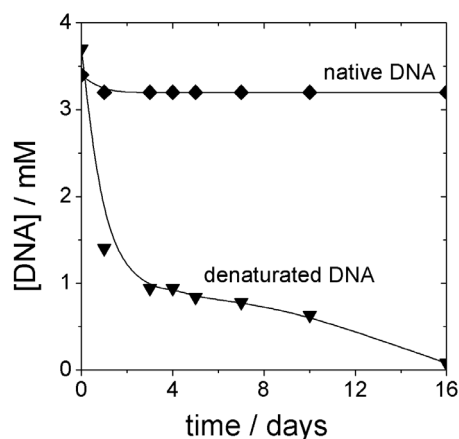


図. ヒドロゲル上の DNA 濃度における時間依存性。(◆)pH 7、二本鎖 DNA (▼) pH 12、一本鎖 DNA。

長鎖 DNA の折り畳み転移による転写活性の On/Off スwitchング

(K. Tsumoto, F. Luckel, and K. Yoshikawa, *Biophys.Chem.* **106**, 23-29 (2003).)

原核細胞、真核細胞の別にかかわらず、その染色体 DNA は細胞そのもののサイズに比して非常に長大である。細胞内では、種々の因子との相互作用を介して染色体 DNA の凝縮の程度が広い領域で変化し、その領域の遺伝子活性が制御されている。このように、長鎖 DNA の折り畳み転移は生化学的な機能発現と深く関連しており、その基礎的な理解は重要である。本論文では、図 1 に示すように、 λ ファージ由来の長鎖 dsDNA (Lambda ZAP II; 40 kbp) 及びその一部分の配列を PCR で増幅した持続長レベルのフラグメント dsDNA (140 bp) を鋳型とする、T7 RNA ポリメラーゼによる *in vitro* 転写系をモデル実験系とし、種々の DNA 凝縮剤存在条件下で RNA 合成量と鋳型 DNA のコンフォメーションとの相関を調べた。その結果、以下のように、長鎖 DNA の折り畳みと転写活性の急峻な変化に相関があると分かった。

- DNA 凝縮剤濃度の増大に応じて、どちらの鋳型 DNA を用いた転写反応においても RNA 合成量は一旦増大した後、徐々に減少した。しかし、さらなる凝縮剤濃度の増大は、長鎖 DNA を鋳型とした場合にのみ、急峻な転写の活性減少と完全阻害を引き起こした。代表的な DNA 凝縮剤であるスペルミンとポリエチレングリコール (PEG) は、化学的性質が大きく異なるが、それぞれの濃度増大に対する転写活性の挙動は相似であった。(図 2)

- 同質量の DNA を含む溶液であっても、DNA 凝縮剤濃度の増大による劇的な折り畳み相転移は、高分子としての性質が現れる長鎖の鋳型 DNA の場合にのみ現れる。そのため、ZAP II DNA を鋳型としたときに見られた転写活性の急峻な変化が折り畳み転移によるものと予想され、蛍光顕微鏡観察の結果、そのような凝縮剤濃度領域の前後では、DNA の高次構造が異なっていることが分かった。(図 3)

本研究により、長鎖 DNA の折り畳み転移による転写のスイッチングの可能性が示された。単一分子鎖レベルのより正確な研究へ発展が期待され、また、DNA の凝縮状態と生物学的な活性に関連する諸問題の理解にも寄与するものと思われる。

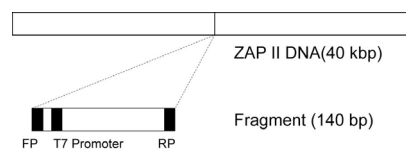


図 1 : 鋳型とした長鎖 DNA (Lambda ZAP II) および短鎖 DNA フラグメント。ZAP II DNA には、T7 プロモーターが組み込まれており、T7 RNA ポリメラーゼにより転写される。短鎖フラグメントは、T7 プロモーターを挟むプライマー (FP・RP) を用いて PCR により合成後、精製した。

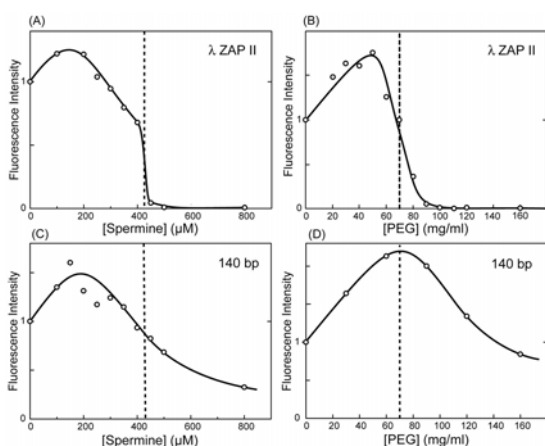


図 2 : 転写活性と DNA 凝縮剤濃度との関係。Lambda ZAP II DNA (上) および 140 bp フラグメント (下) を鋳型として、DNA 凝縮剤のスペルミン (左) およびポリエチレングリコール (右) を様々な濃度で含む条件下で転写し、RNA 合成量を測定した。どちらの凝縮剤においても、長鎖 DNA を鋳型とした場合では、一旦活性が増大後、急峻な転写活性の減少が見られたが、短鎖 DNA を鋳型とした場合では、同様の活性上昇は認められたものの、その後の活性減少は緩慢であった。

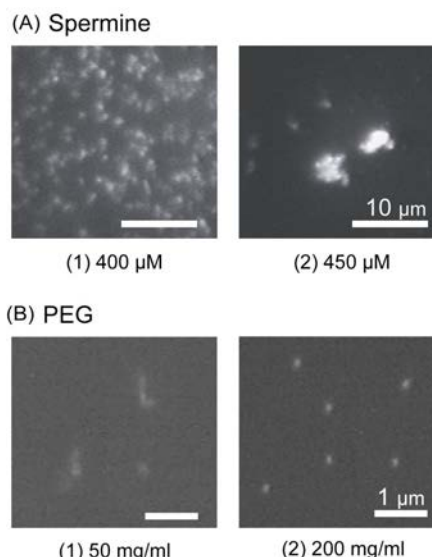


図 3 : ことなる転写条件における、長鎖 DNA の蛍光顕微鏡像。急峻な転写活性の減少がおこる DNA 凝縮剤濃度領域の前後において、鋳型となる長鎖 DNA の折り畳み状態が異なっていた。

DNA の高次構造相転移による転写活性変化の直接顕微鏡観察

(A. Yamada, K. Kubo, T. Nakai, K. Tsumoto, and K. Yoshikawa, q-bio.BM/0408015 (2004))

持続長（約50 nm）に比して十分長い数 μm 程度の長鎖DNA分子は、semi-flexibleな荷電高分子であり、多価陽イオンをはじめとする様々な凝縮剤の濃度等の溶媒環境に応じて、ランダムに広がった‘コイル状態’からコンパクトな‘グロビュール状態’へと折り畳まれる。さらに、蛍光顕微鏡を用いた単分子レベルでの観察により、この折り畳み転移が、コイル状態とグロビュール状態の二状態間の不連続な転移（一次相転移）であること、グロビュール状態は、密に充填された秩序だった構造であることなどが明らかにされてきた。一方でDNAは、生物の遺伝情報を担う物質でもあり、生物はその一次元的な塩基配列をもとに、自身の複雑で高度な体を作り、維持している。生体内では、異なる働きをする細胞であっても共通のDNAを持つことから、塩基配列だけでなく、遺伝子の発現を制御する機構を明らかにすることが、生命現象を理解する上で重要であると考えられる。先に述べたようなDNAの性質は、DNAの高次構造そのものが、細胞内環境に応じて遺伝子発現をon/off的に制御しうることを示唆しており、多分子のDNAアンサンブルを用いた実験でもそれが裏付けられている。

本研究では、単分子鎖レベルにおける DNA の高次構造転移と遺伝子活性の相関を明らかにするため、DNA の塩基配列からタンパク質が合成される際の最も初期の反応である‘転写反応’に着目し、DNA と転写反応によって合成される mRNA（メッセンジャーRNA）を蛍光色素によって同時可視化したのち、蛍光顕微鏡観察を行った。その際、4 価の陽イオンで生体内に一般に存在するスペルミンを凝縮剤として使い、コイル状態とグロビュール状態両状態で転写反応の活性を比較した。その結果、コイル状態では、DNA 分子鎖上に合成された mRNA が観察されたのに対し、グロビュール状態では mRNA は全く発現しないことが明らかとなった（図）。

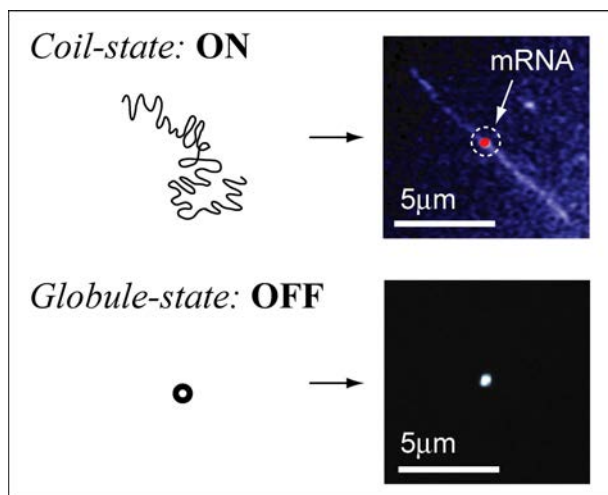


図. コイル状態（右上、引き伸ばされた状態）、および、グロビュール状態の DNA 一分子の蛍光顕微鏡像（ガラス基板上）。グロビュール状態でのみ、mRNA（赤色）が観察される。

エネルギー状態で ON/OFF スイッチされる転写活性

(T. Akitaya, K. Tsumoto, A. Yamada, N. Makita, K. Kubo, and K., Yoshikawa, *Biomacromol.* 4, 1121-1125 (2003).)

転写活性が核内DNAやクロマチンの大規模な高次構造変化に対応して、ON/OFF的に調節されていることは良く知られている。またこれらの現象が、細胞内のエネルギー状態などの環境因子によって調節されることが近年明らかにされ、転写活性調節機構とDNA高次構造との関係を探ることは興味深い。一方、転写の分子機構については現在まで多くの分子生物学的知見が得られているが、その殆どは転写調節タンパクとDNAとの“鍵と鍵穴”的相互作用に注目した、“局所”DNA構造の解析に集中しており、DNAの高次構造変化やON/OFF的な活性調節との関連は未だ不明な点が多い。これまで我々の研究グループでは、長鎖DNAが、ときほぐれたコイル状態と凝縮状態間で不連続転移（折り畳み転移）、すなわちON/OFFスイッチングを起こすことを明らかにしてきている。また、DNAの折り畳み転移がエネルギー状態の変化によっても引き起こされることを明らかにしている。本研究では、長鎖DNAの高次構造変化を顕微鏡観察することにより、NTP(ヌクレオチド三リン酸)や多価カチオンなどの環境因子によって誘起されるDNAの高次構造変化と転写活性との関係を解析した。

T7 RNA polymerase による転写活性を、長鎖DNA (40 kbp) と持続長相当の短鎖DNA (140 bp) を鋳型として比較した。長鎖DNAとしてT7 promoter 配列を含む λ ZAPII、短鎖DNAは λ ZAPII上、T7 promoterを挟んで増幅したPCR productを用いた。転写産物RNAをRiboGreenで蛍光標識して定量し、相対転写活性とした。同一条件下でDAPI染色したDNAを蛍光顕微鏡観察し、高次構造変化と転写活性とを比較した。

転写活性のNTP濃度依存性を上図に示す。40 kbpの λ ZAPII において、NTP濃度の狭い範囲で転写活性が急激に変化した。また0.1 mM 以下で転写活性がほぼ完全に抑制された。転写活性のON/OFF状態で、鋳型DNAの蛍光顕微鏡像を観察した(下図)。転写活性が完全に抑制される条件(OFF状態:[NTP] = 0.2 mM)では、 λ ZAPII DNAは単分子、あるいは多分子で凝縮しているのに対し、活性が高い条件(ON状態:[NTP] = 2.4 mM)では、ときほぐれたコイル状態に移していることが明らかとなった。転写活性が、大規模なDNA高次構造変化を通して、NTP濃度という環境因子によってON/OFFスイッチされることが示された。本研究により、DNAの大規模な高次構造変化を通じた、細胞環境因子による転写因子非依存性の転写機構が存在し、転写因子依存性の局所的な転写機構とは異なる階層として機能し得ることが明確に示された。

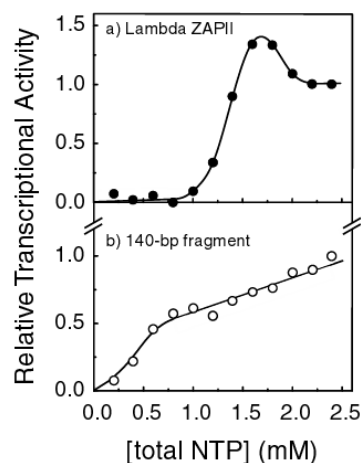


図. 相対転写活性の総NTP濃度依存性. 鋳型DNA: a) λ ZAPII DNA, b) 140-mer 断片. [NTP] = 2.4 mM における

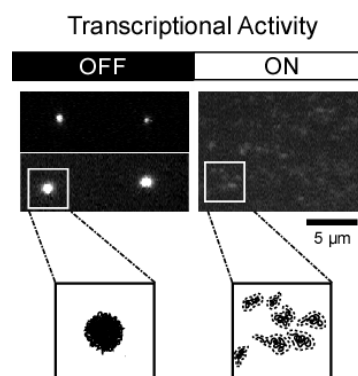


図. 転写の抑制(OFF)状態と活性化(ON)状態での λ ZAPII DNAの構造. (OFF状態:[NTP]=0.2 mM. ON状態:[NTP]=2.4 mM.) 上図はガラススライド表面に吸着したDNAのDAPI染色蛍光顕微鏡像. 下

集光レーザートラップ場を用いた DNA 分子 assembling

(M. Ichikawa, Y. Matsuzawa, Y. Koyama and K. Yoshikawa, *Langmuir*, **19**, 5444-5447 (2003).)

近年、微小粒子、或いは分子の自己組織化を用いることでナノ或いは分子レベルでの ordered structure (規則的な構造体) を作り出す事を目的とした研究が増えてきている。しかし意外にも、自己組織化を外力によってコントロールするという視点は盲点となっていた。当研究チームでは、集光レーザーによる強力なトラップ場において DNA 粒子が直線状に assembling していくことを可能にした。DNA 分子の相転移現象を利用すると、ある条件では

表面が互いに非常に接着しやすくなった状態の粒子の分散溶液が得られる。このコロイド粒子の分散溶液に光ピンセットを入れると、粒子が焦点に集められる。通常、自由拡散する粒子が互いに接着すると、格子状か DLA (diffusion limited aggregation) pattern の様な構造が出来るが、この実験では図 23 Aにある様に数珠の様に見える直線状の構造物が作られる。これは、レーザートラップの異方的な引力と一方向の光の散乱力、そして粒子同士の衝突と接着をそのまま記憶する sticky さ (接着しやすさ) が理由であることを、上図 B のシミュレーションによる実験の再現によって確認した。この現象を利用して作製した構造物を使ったデモンストレーションを図 C に示した。この棒状の DNA assembly を多数作製して、レーザートラップによりガラス基板上に運搬し、貼り付けた。この数珠は熱揺らぎに対しては堅い棒として振舞うので、基板上でそれらを組みあわせて自在にパターンを作ることが出来る。この研究によって、自己組織化を用いたナノ構造体の作製に対して新たなアプローチが示された。

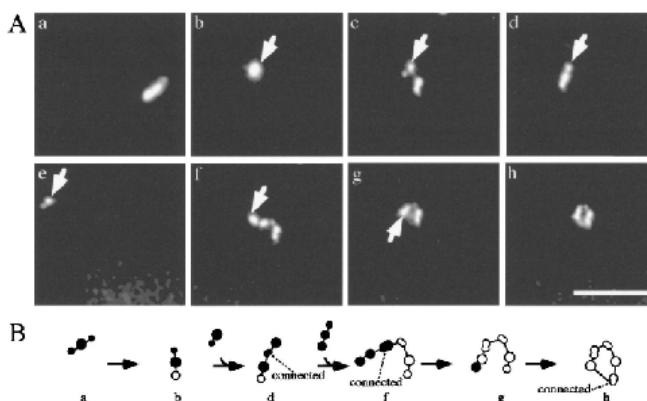


図. 組み立てのスライド写真。a から h まで順番に追ってある。白矢印は光ピンセットのトラップ点を示している。DNA 粒子同士の接触相互作用が引力的になっているので、光ピンセットによる押し付けで互いに接着される。スケールバーは $10 \mu\text{m}$ 。

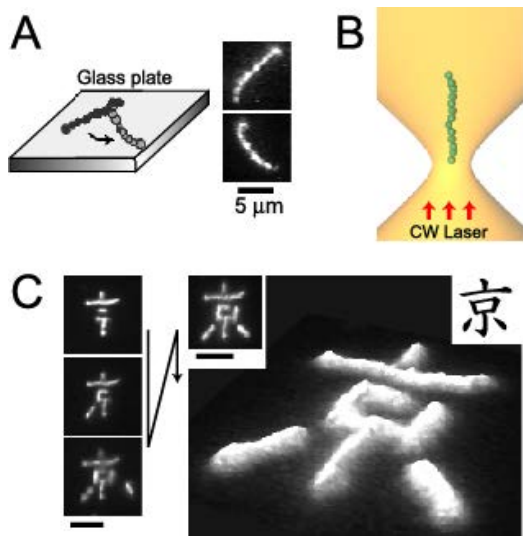


図. 実験により得られた DNA 粒子の数珠状集合体と、シミュレーションによる再現。基板上での組み立てのデモンストレーション。
A. レーザートラップの焦点において得られた数珠状の構造体。ガラス基板に貼り付けて画像を取得した。基板に片端を付けた後、もう片端をレーザートラップで引っ張ることによって一本の弾性棒になっている事を確認した。
B. シミュレーションで得られた集合体。実験を再現する条件でブラウン運動シミュレーションを行った。レーザー焦点において、粒子同士の衝突と結合によって直線状の集合体が成長している事が確認された。
C. 基板上に作製されたパターン。上記の実験で得られた棒を多数用意し、それらをレーザートラップで運ぶことで組み立てた。スケールバーは $5 \mu\text{m}$ 。

コイル DNA のレーザートラップ

(M. Ichikawa, K. Yoshikawa, and Y. Matsuzawa, cond-mat/0408445)

この20年、レーザートラップを用いて DNA の物性を測定する研究が数多く行われてきた。これらの研究では、DNA の片・両端にプラスチックビーズをつけて、そのビーズをつまむ事で DNA を操作している。これは、DNA そのままでは光トラップが困難だからである。実際、コイル状態の DNA をレーザーによって捕捉することには成功していなかった。今回、我々は poly(ethylene glycol) (PEG) 高分子溶液下で DNA をコイル状態のままレーザー焦点に閉じ込める事に成功した。

図1は単分子の T4DNA レーザーの焦点に閉じ込められるまでの、時間変化のスナップショットである。DNA は蛍光像(白)として見えている。図2はトラップされていく DNA と、レーザーを切った後の DNA の長軸長の時間変化を追ったものである。この実験結果を過去の研究と比較する事で、焦点内にトラップされている DNA がコイル状態を保っている事が確認された。実験で得られたトラップ解除後の DNA の長軸長の時間依存は $\sim t^{0.125}$ であった。

一方で、理想鎖とみなせる高分子は、

$$F = \frac{3}{2} k_B T \frac{N b^2}{V^{2/3}}$$

より、体積変化がコイル DNA の圧力に依存して時間発展すると仮定すると、

$$l \sim t^{\frac{1}{8}}$$

の結果が得られるので、トラップ解除後の時間発展は理想鎖に近い膨張過程であると言える。

この結果を利用して、ポテンシャル中の高分子の運動を示した理論の検証も行った。長軸長ベクトルの回転緩和時間を比較する事で、トラップされた DNA の運動は、ポテンシャル中のラウスモデルの計算と定性的に一致している事が示された。

この成果は高分子の実験的研究としての意義だけでなく、DNA にとっての well を顕微プレート上に実現するものであり、現在研究が進められている lab. on a chip などへの利用などが期待される。また、コイルの状態のまま密度を上げられることから、蛍光・分光測定などにも貢献できるであろう。

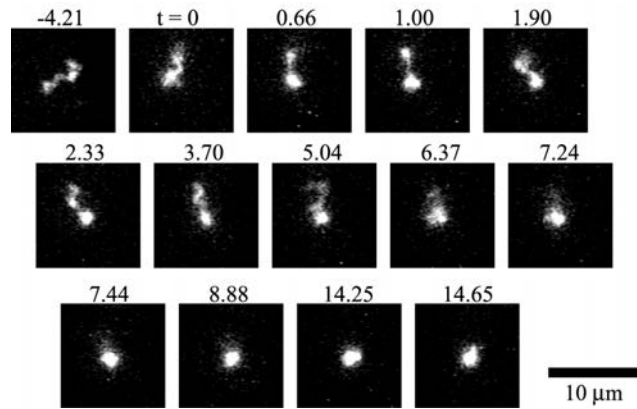


図1: DNA 単分子鎖の蛍光像。時間0よりレーザー焦点への閉じ込めが開始されている。時間の単位は秒。

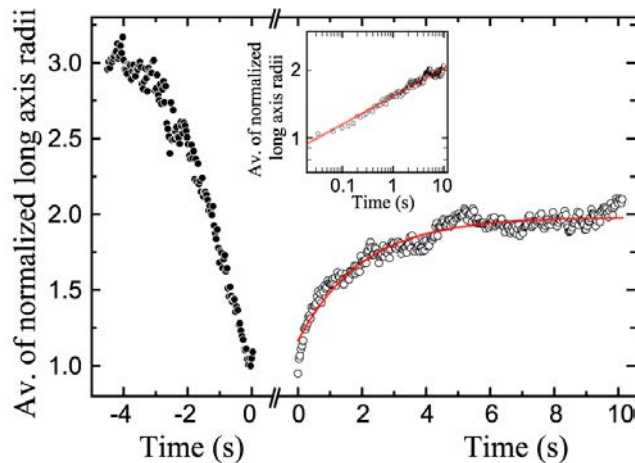


図2: DNA 単分子鎖の蛍光像より測定された DNA の長軸長の時間変化。トラップされる過程と、トラップ解除過程の其々を 22、27 サンプル平均で表したものの。

光ピンセットを用いた細胞へのデリバリーシステム

(K. Kubo, M. Ichikawa, and K. Yoshikawa, *Appl. Phys. Lett.*, **83**, 2468-2470 (2003).)

DDS(Drug Delivery System)に関する研究は、近年注目度も高く盛んに研究されているが、既存の手法は少なからずウィークポイントを持っている。そこで当研究チームでは、従来法に例を見ない光学的手法によるデリバリーシステムの開発を検討した。Nd:YAGレーザー(1064 nm)を倒立顕微鏡の対物レンズを通してステージ上で焦点を結ばせ、操作と観察が同時に行える光ピンセットシステムを構築し、T4DNA凝縮体やゼオライト等のナノ粒子を、単分子で3次元的に輸送できることを確認した(表)。

さらにエンドサイトーシスを持たない植物細胞をモデルとして、細胞内への輸送を試みた。T4 DNA凝縮体、ゼオライト及びT4 DNA・PEG-A・ゼオライト複合体において、細胞壁の有無を問わず細胞内への輸送に成功した(上図)。次に、fura-2・PEG-A・ゼオライト複合体を細胞内へ輸送して細胞内反応を調べたところ、細胞内カルシウムとfura-2の結合による蛍光が確認され、細胞内で複合体から目的の物質がリリースされることが明らかとなった(下図)。細胞内へ単分子のDNAを輸送できるのみならず、ナノ粒子のキャリアを用いることによって、多くの物質を輸送できる可能性が広がった。光学的な非接触マニピュレーションは、捕捉する物質への物理的ダメージが極めて少ない事が推察されるとともに、輸送時に細胞へ与えるダメージも軽減できることが予想される。ナノ・マイクロスケールの光学的なマニピュレーションシステムを利用した新規のデリバリーシステムとして、広範囲での応用が期待できると同時に、単分子操作による新たな遺伝子研究のツールとしても重要不可欠なシステムである。

表. 光ピンセットによるサブマイクロメーターサイズ粒子のトラップ効率

Trapping efficiency Q (10^{-3})**	
Compact T4DNA*	0.075 ± 0.025
Fluorescent bead	0.80 ± 0.10
Zeolite particle	2.80 ± 0.10

* DNA凝縮にはスペルミジンを使用した

** 光学系における減衰率を0.5と仮定して求めた

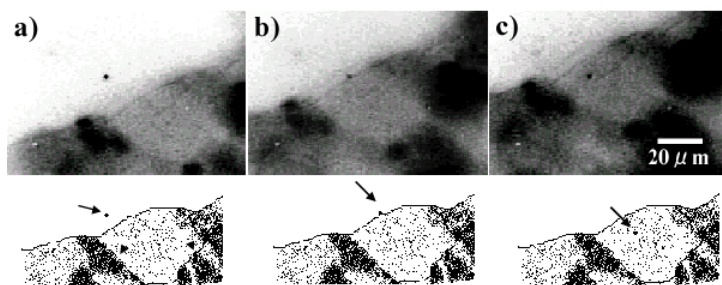


図. 光ピンセットを用いたイチョウ表皮細胞内への1分子DNAの輸送(上側写真は白黒反転像)

- (a) PEG-Aで凝縮させた単分子T4 DNAのトラップ
- (b) 細胞表面への接触
- (c) 細胞質内への輸送

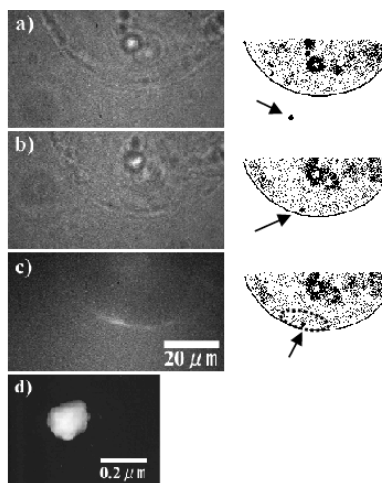


図. キャベツプロトプラストへの

- (a) ゼオライト・fura-2複合体の輸送,
- (b) キャベツプロトプラスト内への輸送における明視野顕微鏡像
- (c) 細胞内カルシウムとfura-2の結合による蛍光像
- (d) 使用したゼオライトの透過型電子顕微鏡像

DNA によるカーボンナノチューブの水溶液への可溶化

(N. Nakashima, S. Okuzono, H. Murakami, T. Nakai, and K. Yoshikawa,
Chem. Lett., **32**, 456-457, (2003).)

カーボンナノチューブは化学的に安定であり水にも溶解しないので、用途は限定されていた。我々は、単層カーボンナノチューブ（直径 0.8~1.2 nm、長さ 1~10 μm ）とサケ精子 DNA 水溶液を混合し、超音波の振動を 1 時間与えることでナノチューブを溶液中に分散させることに成功した(図)。ナノチューブ溶液の吸収スペクトル測定を行なったところ、DNA、ナノチューブ双方に由来するスペクトルのデータが得られた。

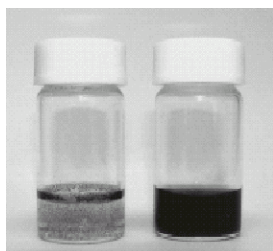


図. 左：水とカーボンナノチューブを混合したもの。ナノチューブは分散せず、水面に固まって浮いている。右：DNA 水溶液とナノチューブを混合し、超音波処理を施したもの。ナノチューブは一様に分散し、溶液は黒色透明である。

また、水溶液中でのナノチューブの構造を TEM と AFM で観察した(下図)。ナノチューブは 1 本ずつ分散しているもの他に、若干束になっているものが見られたが、溶液中に一様に分散しているのが明確に観察された。

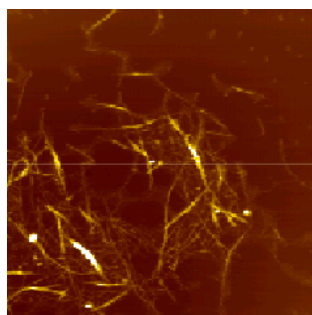
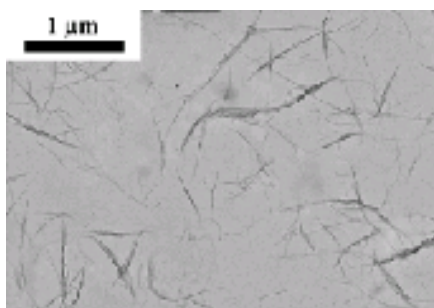


図. 水溶液中に分散したカーボンナノチューブ。左は TEM 像，右は AFM 像。分散しきれず束になっているものも見られる。

可溶化のメカニズムに関する DNA とナノチューブ間の相互作用については、今後の研究課題であるが、明らかとなった現象から推察すると、ナノチューブの π - π 結合と超音波処理により二重らせんのほどけた DNA が相互作用しているものと考えられる。本研究において、ナノチューブが水溶液中に分散しうる条件を明らかにしたことは、医学、生物学、化学等の分野における幅広い応用が期待できる成果である。

DNA の高次構造転移と生化学活性の相関

(H. Oana, K. Tsumoto, Y. Yoshikawa and K. Yoshikawa, *FEBS Lett.*, **530**, 143-146 (2002).)

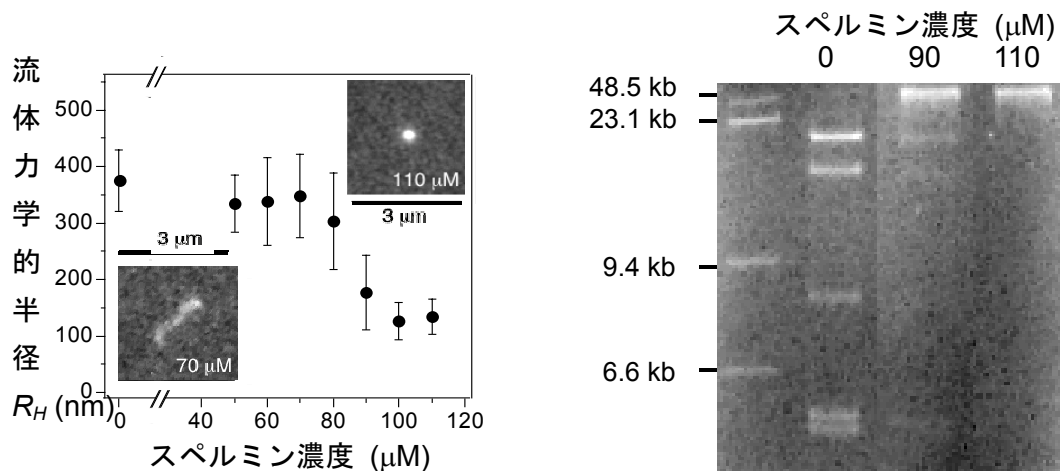


図. DNA(全長約 16 μm , 48.5kbp)の流体力学的半径 (DNA 分子の広がりを表す)の凝縮剤濃度依存性。挿入図はガラス基盤に吸着したランダムコイル状態の DNA(スperlミン:70 μM)と凝縮状態の DNA(スperlミン:110 μM)。

断片化 ←→切断なし
図. 酵素による DNA (全長約 16 μm , 48.5kbp)切断反応の凝縮剤濃度依存性。左端は分子量マーカー。

これまでに我々の研究グループでは、ポリアミン等の凝縮剤の添加によって個々の DNA 分子がランダムコイル状態からコンパクトな凝縮状態へ不連続に形態変化する事を蛍光顕微鏡法による長鎖 DNA 単分子観察を通して明らかにしてきた。今回、凝縮剤として 4 価のポリアミンであるスperlミンを用い、スperlミンの添加によって引き起こされる DNA 高次構造変化と DNA 切断酵素に対する感受性の相関を単分子観察を通して調べた。蛍光顕微鏡法による DNA 単分子観察より、スperlミン濃度が 80 μM を超えると個々の DNA は急激に凝縮し、非常にコンパクトに折り畳まれた形態を取ることが分かった (左図)。また、同じ条件の DNA に DNA 切断酵素を加えて切断反応を行ったところ、DNA が高次構造転移を起こすスperlミン濃度 (80-90 μM) を境に、酵素による DNA 切断が急激に阻害されることが分かった (右図)。

以上、DNA の生化学的性質が高次構造変化によって制御されていることを単分子レベルで初めて明らかにした。理論グループの研究から、一般に半屈曲性高分子鎖は、このような高次構造転移を起こすことが示されており、今回の DNA を用いた実験は、高次構造制御による高分子機能制御のモデル実験となるものである。

長鎖 DNA から再構成したクロマチンの凝縮相転移

(T. Nakai, K. Hizume, S. H. Yoshimura, K. Takeyasu, and K. Yoshikawa, q-bio.SC/0407011)

DNA折り畳みは、転写・翻訳・複製などの生命現象と密接な関係があることが示唆されているが、生物学的のみならず物理学的にも興味深い現象である。クロマチンの最小構成単位であるヌクレオソームは、コアヒストンと呼ばれるタンパク質の回りにDNAが約1.75回巻きついた構造をとっている (図1)。NCP (Nucleosome Core Particle)中では、DNAの負電荷がタンパク質の正電荷の量を上回り、NCPは荷電コロイドとして振舞う。塩濃度など溶液環境の変化によりNCPからタンパク質のtailが伸び (図1)、これによりNCPどうしには引力が働くとされている。細胞内では、ヌクレオソーム構造は、約200 bpごとに繰り返され、約100 kbpのループを作っている。

本研究では106 キロ塩基対の長鎖DNA (全長約36 μm)からクロマチンを再構成し、ヌクレオソーム間の実効的な相互作用ポテンシャルを導出した。ヌクレオソームの排除体積に比べて相互作用の領域が狭いポテンシャルが得られた。これは塩 (本研究では50 mM NaCl) の遮蔽効果と histone tail (長さ数 nm) によるものと考えられている。このポテンシャルを用いてヌクレオソーム数 n の増加によるクロマチンの凝縮転移を自由エネルギー計算により考察し、顕微鏡観察による実験結果との良い対応を得た (図2)。ヌクレオソーム間の引力が短距離でのみ働くため、ヌクレオソーム数密度の増加によりある所で急激に凝縮する一次相転移であることが明らかになった。

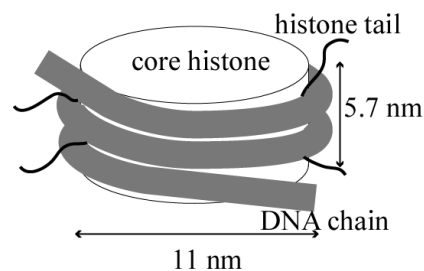


図1 ヌクレオソームの模式図。

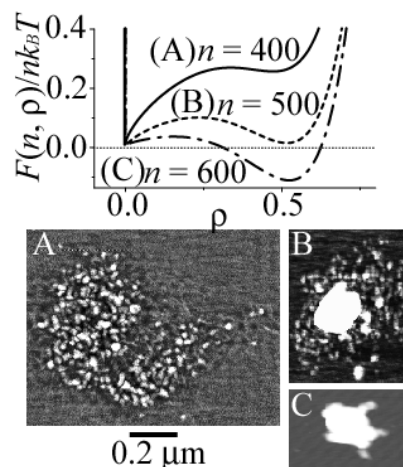


図2 クロマチンの自由エネルギープロファイル (上) と、対応するクロマチンの原子間力顕微鏡像 (下)。

DNA の電気伝導特性：特異な電子物性

(H. Mayama, T. Hiroya, K. Inagaki, S. Tanda and K. Yoshikawa,
Chem. Phys. Lett., **397**, 101-105 (2004).)

DNA の二重らせん構造の内部に塩基対層 (π 電子軌道の重なり ; π way) を有することから、ナノテクノロジーにおける分子導線としての可能性に大変興味もたれてきた。しかしながら、最近の分子導線の研究から DNA は絶縁体であることが明らかになってきている。そのため、DNA を化学的に修飾して電気的性質を制御しようという試みが行われている。我々は世界に先駆けて銀イオンを塩基対層にドーピングすることで電気的性質を制御することに成功し、電気伝導度の銀ドーピング量依存性を見出した。ドーピング量依存性の観点から、以下の点を明らかにした。

- X線吸収微細構造解析 (EXAFS) により、Ag は塩基対と結合し、Ag-DNA 複合体を形成する (図1 参照)。
- DNA の電気伝導度 σ は $8 \times 10^{-10} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$ であり、絶縁体に近い半導体である (世界で初めて正確な電気伝導度を決定)。
- 銀ドーピングにより σ は半導体領域まで変化する (図2 参照)。
- σ の銀ドーピング量依存性は $\sigma \propto n^{0.5}$ (図2 参照)。
- このドーピング量依存性は $\sigma \propto n^\alpha$ ($\alpha \geq 1$) を示す半導体 (金属-絶縁体転移含む)、電解質、超イオン導電体および通常の有機伝導体とは明らかに異なる。

DNA の電気伝導性を理解するためには、長距離相関のある無秩序を含むランダムポテンシャル系 (生物の進化に伴って生じた塩基配列の乱雑さ) の側面を考慮しなければならない。

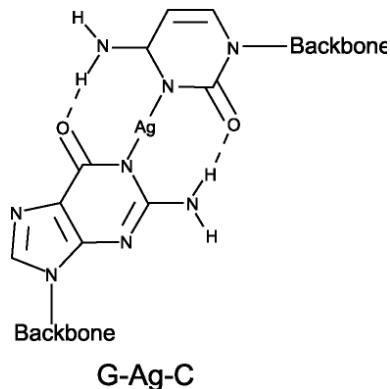


図1 EXAFSにより決定された複合体の構造。

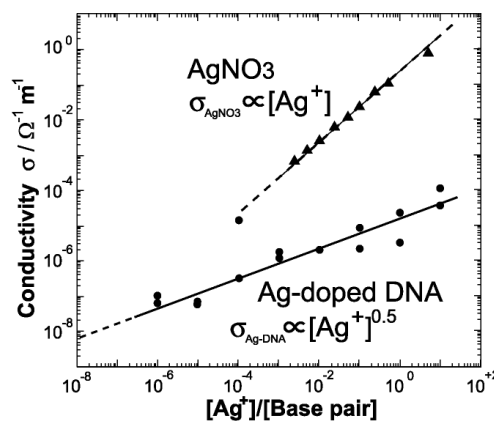


図2 電気伝導度 σ のドーピング量依存性。
比較のために硝酸銀水溶液の依存性も示した。

単一分子鎖の折り畳み転移のカイネティクス

(T. Sakaue and K. Yoshikawa, *J. Chem. Phys.*, **117**, 6323-6330 (2002).)

長鎖 DNA の示す重要な現象として、溶液環境の変化により空間的に広がったコイル状態から密に凝縮した状態への折り畳み転移が挙げられる。我々はこれまで、長鎖 DNA の折り畳み転移は単一分子鎖レベルでは大きな密度変化を伴う不連続転移であることを蛍光顕微鏡を用いた単一分子観察による実験から明らかにしてきた。また、一般に DNA のような堅い高分子鎖の折り畳み転移は不連続転移になることを理論的に示してきた。今年度は、この堅い高分子鎖の折り畳み転移の速度過程を **Brownian dynamics simulation** により解析した。モデルとしては、バネ・ビーズ型のモデルに曲げ弾性エネルギーを付加することにより、堅さの効果を取り入れ計算機シミュレーションを行った。

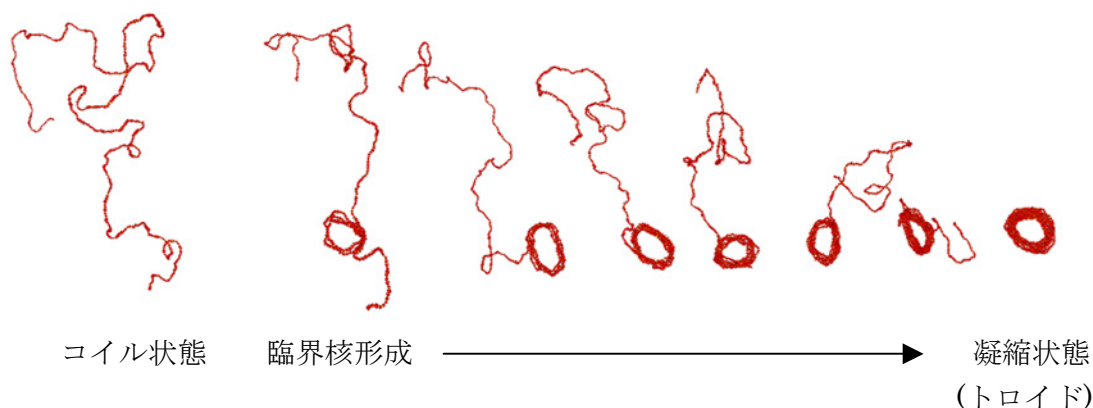


図. **Brownian dynamics simulation** によるモデル高分子鎖の折り畳み過程

その結果、堅い高分子鎖は溶媒環境が貧溶媒化した後も、その急冷の度合いが適当であれば有限時間準安定状態のコイル状態として存在し得ること、その後、鎖上のある部分に臨界核が形成され、それが残りの部分を巻き取って成長していくというものが堅い高分子鎖の折り畳みの典型的なプロセスであることが分かった。すなわち、堅い高分子の折り畳み転移では、単一分子レベルで **nucleation-growth** 過程により秩序構造が形成されることを明らかにした。

図7にシミュレーションの典型的なスナップショットを示す。ここで、臨界核が残りの部分を巻き取っていく結晶成長過程は、高分子という一次元性を反映して、ほぼ一定速度で境界が進行する等速度過程であることも分かった。

セミフレキシブル高分子を力学的に凝縮・脱凝縮させた時の経路の違い

(N. Yoshinaga, K. Yoshikawa and T. Ohta, cond-mat/0410226 (2004).)

生体高分子の高次構造についての研究は、生体機能との関わりにおいてのみならず物理学的にも興味深い。特に、最近の直接観察法の発達により、揺らぎの大きな単一分子スケールの構造を議論することが可能になってきている。

このような研究の中で、光ピンセットや原子間力顕微鏡を用いて高分子の引き伸ばす、という実験が最近注目されている。高分子を引き伸ばす際に必要な力は、その高分子の構造を反映した粗視変数としてのみならず、外力が系になした仕事を求める上でも重要な観測量であり、このことが実験の大きな特徴となっている。しかし、実験での観測量は引き伸ばしの変位と力学応答のみであり、高分子の構造はここに縮約されてしまっているため凝縮構造についてはあまり議論されてこなかった。また、理論やシミュレーションでの主に扱われているのは硬さを持たないフレキシブル高分子であり、凝縮構造の多様性が力学応答に及ぼす影響についてはこれからの課題である。

そこで本研究では単一セミフレキシブル高分子鎖の引き伸ばしのシミュレーションを行い、伸縮に伴う構造転移のダイナミクスとその時の力学応答と調べた。

図は伸張、収縮過程でのモノマー密度と力学応答を示しており、モノマー密度の変化に伴った力学応答を示している事がわかる。伸張過程では、のこぎり型の力学応答 (stick and release pattern) が確認できた。これは最近の DNA を用いた実験でも観測されている現象である。この結果から、このパターンは密度の急激な減少に伴って起こることが示唆される。

また、セミフレキシブル高分子では、操作速度が凝縮転移にかかる時間スケールに比べて十分遅いにもかかわらず履歴を示している。これは凝縮構造の多様性とそれらの間の転移の不連続性に起因しており、セミフレキシブル高分子の凝縮・脱凝縮過程において取り得る経路の違いを示している。

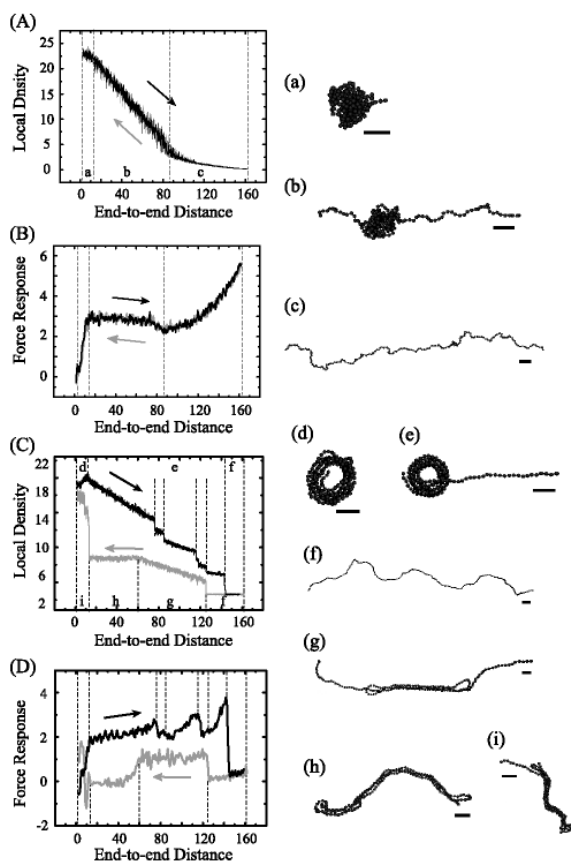


図. フレキシブル(A, B, a-c), セミフレキシブル(C, D, d-i)高分子鎖の伸張、収縮過程でのモノマー密度 (A, C)と力学応答(B, D). 右にそれぞれのスナップショットも示した。

多分子凝縮体形成のメカニズム

(T. Iwataki, S. Kidoaki, T. Sakaue, and K. Yoshikawa, *J. Chem. Phys.*, **120**, 4004-4011 (2004).)

DNA の折り畳み転移はこれまで膨大な研究が為されてきているが、単一分子鎖でおこる凝縮と複数の DNA 鎖で凝縮構造を形成する場合との区別が明瞭ではなかった。溶液中の DNA 濃度が高い条件下では DNA 分子間の相関が重要になってくるため DNA 濃度が低い場合とは本質的に異なった凝縮転移の起こる事が予想される。我々は、これまでに得られてきた DNA 単一分子鎖レベルでの折り畳み転移の知見を基に、DNA 多分子の凝集転移のメカニズム、その単一分子折り畳みとの類似点、相違点を明らかにするために実験的、理論的研究を行った。DNA が希薄な場合 ($[DNA]=0.1\mu\text{M}$)、凝縮剤非存在下ではコイル状態の DNA 分子が観察される (図 1, a)。ここに凝縮剤として 3 価のカチオンであるスペルミジンを $150\mu\text{M}$ 加えると、凝縮した DNA 分子とコイル状の DNA 分子とが共存した状態が観察された (図 1, b)。DNA 濃度が高い場合 ($[DNA]=10\mu\text{M}$)、凝縮剤非存在下では DNA はコイル状態をとり、分子同士が重なり合う程度の濃度となっている (図 2, a)。ここにスペルミジンを $150\mu\text{M}$ 加えると、単一分子での凝縮体、多分子からなるバンドル構造、コイル状態の DNA の 3 状態が共存している様子が観察された (図 2, b)。

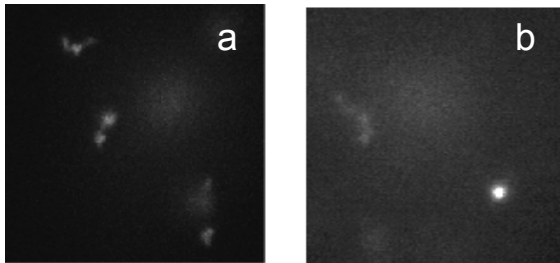


図 1. DNA 濃度が低い条件下、 $[DNA]=0.1\mu\text{M}$ での DNA 蛍光顕微鏡像。(a) $[SPD(3+)]=0\mu\text{M}$ 。(b) $[SPD(3+)]=150\mu\text{M}$ 。コイルと単分子凝縮体 (明るい球状に見えるもの) が共存している。

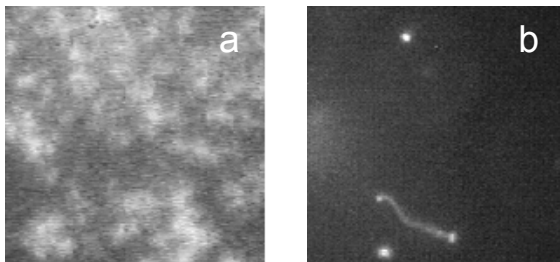


図 2. DNA 濃度が高い条件下、 $[DNA]=10\mu\text{M}$ での DNA 蛍光顕微鏡像。(a) $[SPD(3+)]=0\mu\text{M}$ 。DNA 分子は全てコイル状態である。(b) $[SPD(3+)]=150\mu\text{M}$ 。コイル状態、単分子凝縮体、多分子からなるバンドルの 3 状態が共存している。

このような DNA 凝縮転移の多様性について、簡単なモデルを用いた分子シミュレーションにより検討を行った。図 3 に Monte Carlo simulation によるスナップショットを示す。比較的分子鎖の濃度が高いときには、半屈曲鎖は凝縮状態として鎖が配向したバンドル構造が形成された。バンドル以外にも多分子からなるトロイド構造が得られた。このような多分子鎖から形成される構造と、単分子鎖の凝縮体とが共存するのは、速度論的な効果が大きく寄与していることが明らかになった。

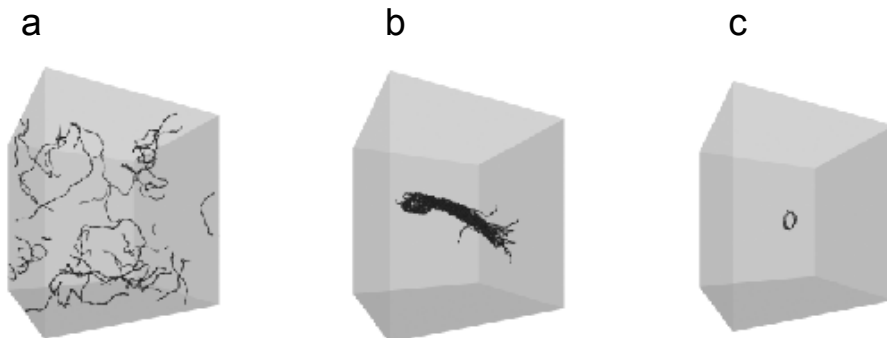


図 3. Monte Carlo simulation による多分子の半屈曲鎖からのバンドル形成 (a, b)。単分子の半屈曲鎖から形成されるトロイド状の凝縮構造 (c)。

荷電高分子鎖の単一分子内相分離状態

(T. Iwaki and K. Yoshikawa, *Europhys. Lett.*, **66**, 545-551 (2004).)

DNA などの高分子は強く負に帯電した荷電高分子であり、イオン間に強い相関を生じる系である。そのため、さまざまな条件下において、対イオンは凝縮転移を誘起する。近年、我々は、この凝縮転移は、単分子レベルでコイル状態から凝縮状態へと不連続に折り畳まれることを明らかにしてきた。そして、ごく最近、単一分子内にコイルと凝縮状態が安定に共存するという新奇な状態を見出した (図 1)。

従来の高分子物理の描像では、単一分子鎖はコイルと凝縮状態の 2 状態しか取りえず、このような状態の形成は荷電に由来するものと考えられる。DNA のような強帯電高分子の凝縮状態は、その帯電の強さのためほぼ中和される。したがって、凝縮状態の内部に電荷が残留することによって凝縮部分のサイズが有限で安定になるという Rayleigh 不安定性の描像では、単一分子鎖内相分離状態を説明することはできない。

そこで、我々は高分子密度が非常に高いときに生じる相互作用を取り入れたモデルを考案した。

$$F_{\text{tot},i} = F_{\text{ela},i} + F_{\text{int},i} + F_{\text{exc},i} + F_{\text{trans},i} + F_{\text{elst},i}$$

$$F_{\text{ela},i} \quad (\text{弾性エントロピー項})$$

$$F_{\text{int},i} = C\alpha_i^{-6} \quad (\text{相互作用項})$$

$$F_{\text{exc},i} \quad (\text{排除体積項})$$

$$F_{\text{trans},i} \quad (\text{低分子イオンの並進エントロピー項})$$

$$F_{\text{elst},i} \quad (\text{静電エネルギー項})$$

その結果、水溶液中に存在する低分子イオンの並進エントロピー項の寄与が、単一分子鎖内に凝縮状態とコイル状態を安定に共存させる因子となった。そして、凝縮状態の電荷はほぼ中和され、静電エネルギー項は分子内相分離状態を安定化させる因子とはなっていないことから、従来の Rayleigh 不安定性の描像とは全く異なったメカニズムにより単一分子鎖内相分離状態が生じていることがわかる。

また、塩濃度依存性を解析したところ、低塩濃度ほど分子内相分離状態が出現しやすくなっており (図 2)、実験とも定性的に良い一致を示している。

このように荷電高分子がつくる多様な秩序構造形成の理解には、高分子間に働く多体相互作用の理解が必要不可欠であると考えられる。

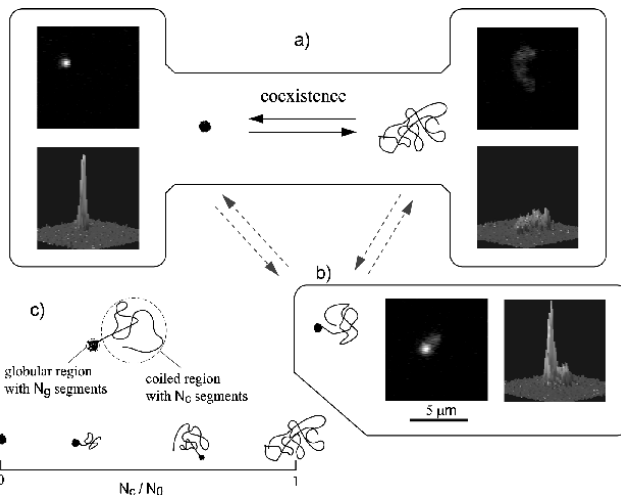


図 1 : DNA 単分子鎖の蛍光像、及び、模式図

- (a) 従来の単一分子鎖の転移 (コイルと凝縮状態間の転移)
 (b) 新奇な状態である単一分子鎖内相分離状態 (コイルと凝縮状態が単一高分子鎖内に安定に共存)

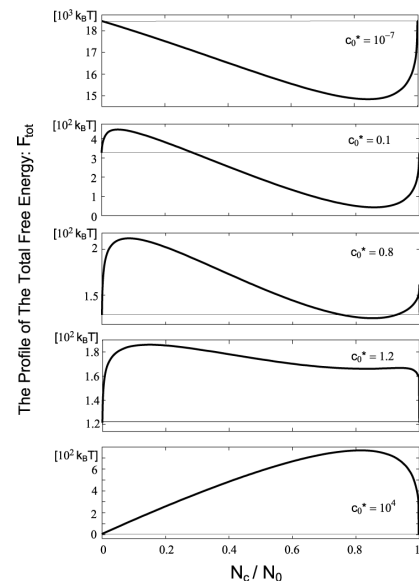


図 2 : 異なる塩濃度における、全自由エネルギーのコイル部分のセグメント数依存性

3. 3 ナノ秩序体理論構築グループ

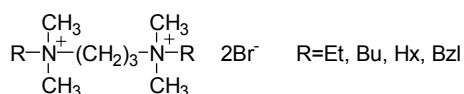
分子デザインを用いた DNA 分子の分子内相分離の制御

(A. A. Zinchenko, V. G. Sergeev, S. Murata and K. Yoshikawa,
J. Am. Chem. Soc., **125**, 4414-4415 (2003).)

DNA は負に帯電した生体荷電高分子であり、水溶液環境下では空間的に広がったコイル状態をとり、多価のカチオンなどの凝縮剤存在下では DNA はコンパクトなグロビュール状態へと折り畳まれる。凝縮剤と DNA 分子間の構造相互作用が DNA の単分子凝縮相転移に及ぼす効果に基づいて DNA 折り畳み機構の詳細を知るために、有機合成手法を使って構造を制御して合成した四級アンモニウムジカチオン凝縮剤を用いて以下のような研究を行った。

・本研究では、四級アンモニウム窒素原子間が 3 個のメチレン鎖でつながれ、それぞれの窒素原子上に 2 個のメチル基と炭素数の異なる置換基 R が導入された凝縮剤を用いた。このような凝縮剤は、DNA 分子にコイル—グロビュール両状態の共存をもたらす中間濃度状態において、単一 DNA 分子鎖上に部分的にいくつかの小さく折り畳まれた状態を形成する分子内相分離状態にある中間体 (図 1) を高頻度で与えた。

・置換基 R をエチル基 (Et), ブチル基 (Bu), ヘキシル基 (Hx), ベンジル基 (Bzl) と変化させて生成される分子内相分離中間体の構造を比較すると、図 2 に示すように形成されている部分凝縮核の数の分布に置換基の影響が現れることが分かった。すなわち、置換基がエチル基の場合 3 ~ 5 個の比較的多数の部分凝縮核を持った中間体の割合が大きいが、置換基の炭素の数が Bu → Hx → Bzl と増加していくに連れて 1 個の部分凝縮核を持った中間体の割合が増えていく。



本研究成果は、一度に DNA 分子全体の折り畳みが起こる "all-or-none" タイプの凝縮機構に比べて研究が遅れていた分子内相分離状態を通る折り畳みについて、凝縮剤の分子構造がその形成に影響を及ぼすことを明らかにしたことで、今後の研究の進展に大きく寄与するものである。

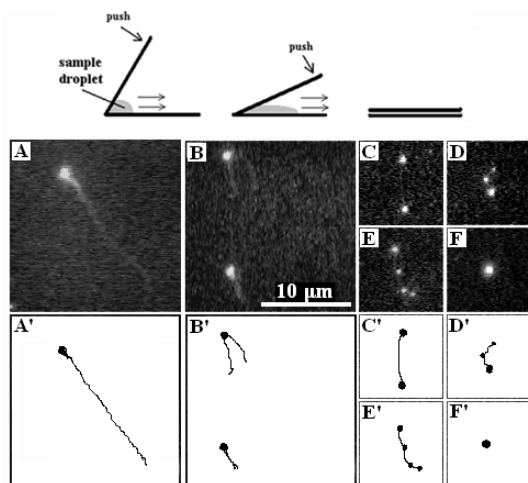


図 1 分子内相分離状態

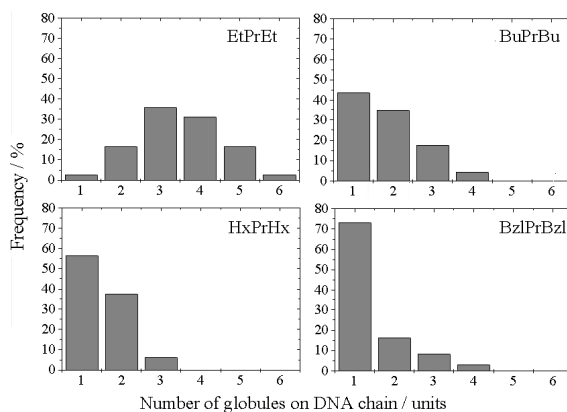


図 2 分子内相分離状態の変化

DNA 分子の凝縮転移における不斉分子認識

(M. Itou, A. Sakakura, N. Miyazawa, S. Murata, and K. Yoshikawa,
J. Am. Chem. Soc., **125**, 12714-12715 (2003).)

DNA は負に帯電した生体荷電高分子であり、水溶媒環境下では空間的に広がったコイル状態をとり、多価のカチオンなどの凝縮剤存在下では DNA はコンパクトなグロビュール状態へと折り畳まれる。凝縮剤と DNA 分子間の構造相互作用が DNA の単分子凝縮相転移に及ぼす効果に基づいて DNA 折り畳み機構の詳細を知るために、光学的に純粋な S または R 絶対立体配置の塩基性アミノ酸リシンおよびアルギニンの三量体を用いて研究を行った。

- S 配置を有するタンパク構成型アミノ酸である L-リシンの三量体は、非タンパク構成型 D-リシン三量体に比べて長鎖 DNA 分子の折り畳みに大きな活性を示した。アルギニンの三量体を用いた場合も同様に S 配置を有するタンパク構成型の方が活性が大きかった (図 1)。
- 従来の研究で DNA による光学異性体識別は僅かに数%の差しか現れないとされていたが、本研究における両光学異性体における活性の違いは殆ど 100%であった。

本研究は、DNA のキラル構造がほぼ完璧な光学異性体識別能を発揮できることを初めて明確に証明したものである。その成果は、光学異性体を用いる DNA 折り畳み構造変化の調節や光学異性体の分割に応用できるだけでなく、化学進化におけるアミノ酸と核酸の単一キラリティーの問題とも深く関わるものである。

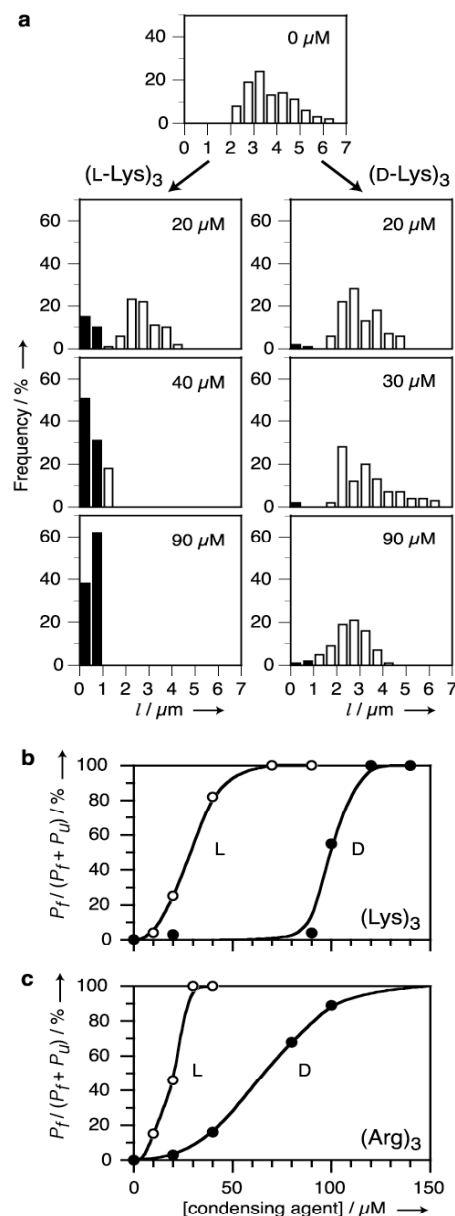


図 1 リシンおよびアルギニンの三量体における
 光学異性体間の DNA 凝縮の差

分子デザインを用いた DNA 分子の凝縮転移制御

(A. A. Zinchenko, V. G. Sergeyev, K. Yamabe, S. Murata, and K. Yoshikawa, *ChemBioChem*, **5**, 360-368 (2004).)

DNA は負に帯電した生体荷電高分子であり、水溶液環境下では空間的に広がったコイル状態をとり、多価のカチオンなどの凝縮剤存在下では DNA はコンパクトなグロブール状態へと折り畳まれる。凝縮剤と DNA 分子間の構造相互作用が DNA の単分子凝縮相転移に及ぼす効果に基づいて DNA 折り畳み機構の詳細を知るために、有機合成手法を使って合成した図 1 に示す四級アンモニウムジカチオン凝縮剤を用いて、凝縮剤における正電荷の空間的配置構造と DNA の負電荷の配置が DNA 凝縮転移の活性とどのような相関を示すかを

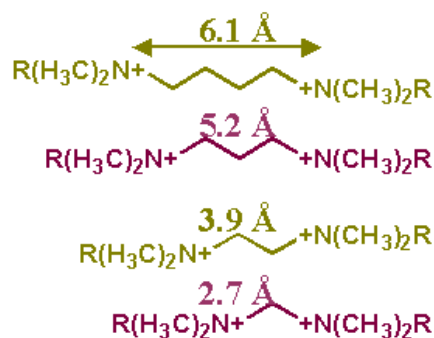


図 1 凝縮剤の構造

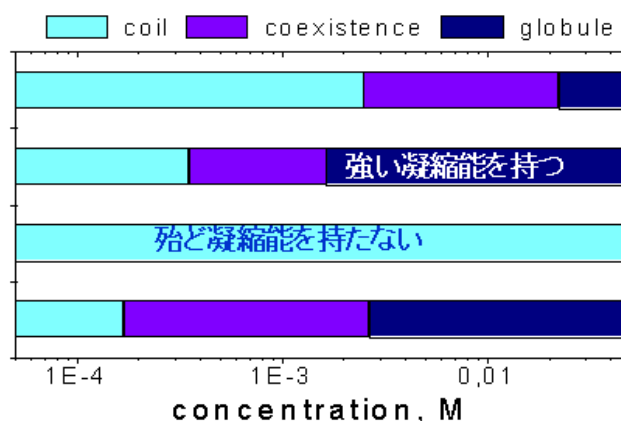


図 2 正電荷の分離に基づく凝縮能の差

研究した。

- ・メチレンスペーサーを用いて凝縮剤の二つの四級アンモニウムイオンを空間的に分離した図 1 の凝縮剤の活性は、図 2 に示したように 1 個または 3 個のメチレン基で分離したものの方が 2 個または 4 個のメチレン基で分離したものより大きかった。
- ・凝縮剤における構造と活性の相関は、2 個の正イオン間の隔たりとジグザグ立体配座に起因する U 型および Z 型の構造に基づいて、DNA における約 7 Å の負電荷の繰り返し空間的配置とのマッチングの良否から説明できた。即ち、奇数個のメチレン基からなるジアンモニウムイオンは U 型配置を有し DNA の負電荷を効率よく中和できるのに対して、偶数個のメチレン基では Z 型配置をとりうまく電荷の中和をできない。
- ・アルキル基をエチル基、ブチル基、ヘキシル基、ベンジル基と変化させた場合、分子内相分離中間体の生成の選択性に差が現れた¹が凝縮能には大きな変化は無かった。しかし、アルキル基に分枝が存在すると凝縮能は失われることが分かった。
- ・凝縮剤存在下の CD スペクトルは、DNA 凝縮の大小とは無関係に 2 重ラセンの巻き方を強めることによって、負電荷の間隔を縮める効果を示すものがあることを示している。

本研究成果は、DNA の折り畳み転移とその他の構造変化が分子デザインによって制御できる可能性を示した点で、その後の研究をリードするものと評価される。

分子デザインを用いた DNA 凝縮転移における不斉識別の制御

(A. A. Zinchenko, V. G. Sergeyev, V. A. Kabanov, S. Murata, and K. Yoshikawa, *Angew. Chem. Int. Ed.* **43**, 2378-2381 (2004).)

DNA は負に帯電した生体荷電高分子であり、水溶媒環境下では空間的に広がったコイル状態をとり、多価のカチオンなどの凝縮剤存在下では DNA はコンパクトなグロビュール状態へと折り畳まれる。凝縮剤と DNA 分子間のキラリティー構造相互作用が DNA の単分子凝縮相転移に及ぼす効果に基づいて DNA による不斉識別機構¹の詳細を知るために、純粋な S, R またはメゾ立体配置を有する四級ジアンモニウム凝縮剤(図 1)を合成して研究を行った。

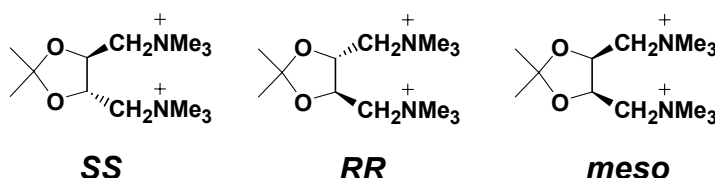


図 1 キラルまたはメゾ配置を有する凝縮剤

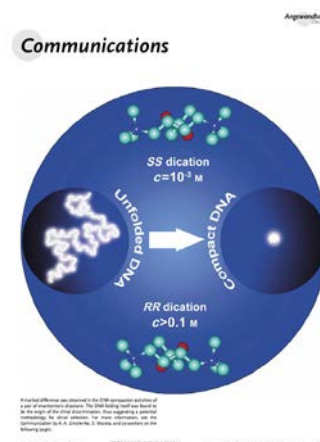


図 2 *Angew. Chem.* 中見出し

- ・ S 体および R 体による長鎖 DNA の折り畳み活性には、ゼロと 1 に対応する大きな差が現れた。すなわち、R 体は S 体が完全に DNA を折り畳む濃度の 1000 倍の濃度でも折り畳むことはできなかった(図 3)。
- ・ 光学不活性なラセミ体の活性は S 体の 10% 程度であり、R 体が折り畳みに対して抑制的に働いていることが分かった。一方、同じく光学不活性なメゾ体は S 体のほぼ半分の活性を示した(図 3)。
- ・ R 体が S 体による折り畳みに対して拮抗的に働くことは、一旦 S 体で折り畳んでおいた DNA に R 体を働かせると折り畳みが解けることで証明できた。
- ・ 凝縮剤の各立体異性体は、DNA 融解温度の上昇に対して同じ強さで働くことを見出した(図 4)。このことによって、全ての凝縮剤の DNA 二重ラセン部への結合力には差がなく、DNA の凝縮能力はこのような DNA への結合能力とは異なる別の相互作用に基づくものであることを明らかにした。

本研究成果は、DNA による極めて選択的な不斉分子識別能力を示しただけでなく、DNA の”折り畳み”/”解きほぐし”に基づく”オン”/”オフ”転移を異なる凝縮剤の添加で制御できることおよび、分子デザインを用いて凝縮剤と DNA との様々なタイプの分子間相互作用を独立して制御できる可能性を実証した点で高く評価され、*Angewandte Chemie* 誌の中見出しに取り上げられた。

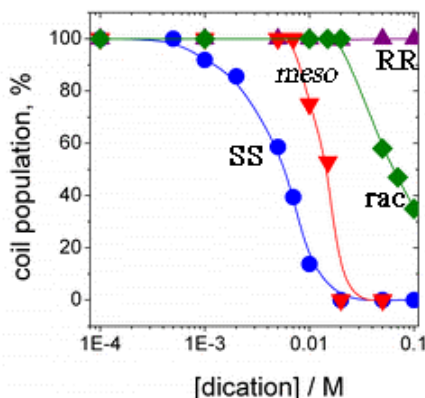


図 3 立体異性体間の凝縮能の差

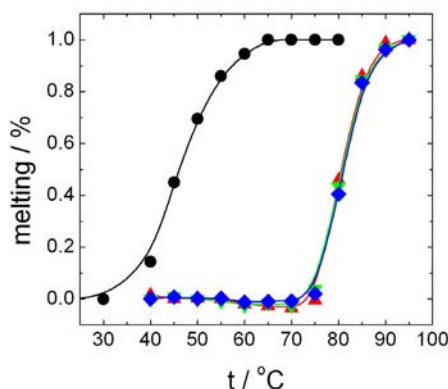


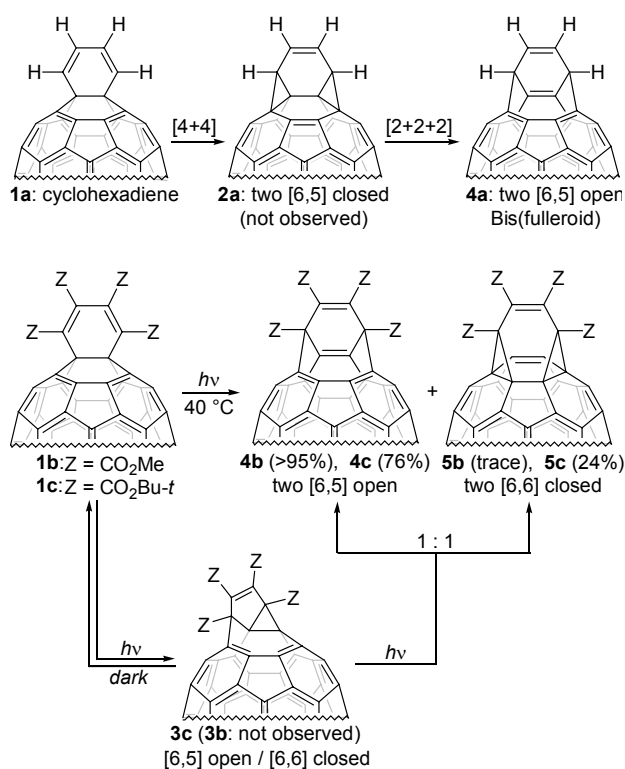
図 4 立体異性体による DNA 融解温度への影響

フラーレンシクロヘキサジエン誘導体の異性化反応

(C. H. Suresh, P. S. Vijayalakshmi, S.-i. Iwamatsu, S. Murata and N. Koga,
J. Org. Chem., **68**, 3522-3531 (2003))

フラーレンシクロヘキサジエン誘導体は、異性化反応によりビス（フレロイド）を与えることは良く知られている。従来この反応は光許容の[4+4]反応を含む機構で進行すると考えられていた。ところが我々は、フラーレン（C₆₀）にパラジウムメタラサイクル錯体を[4+2]型環状付加させて生成する、テトラカルボアルコキシ置換フラーレンシクロヘキサジエン誘導体（**1**）を用いて反応経路を詳細に検討した結果、主生成物であるビス（フレロイド）（**4**）の他にビス（メタノ）フラーレン（**5**）が副生し、さらに反応途中で不安定中間体（**3**）が生成していることを見出した。従来の反応機構では説明できないこの異性化反応について理論化学的に研究を行った。

・フラーレンシクロヘキサジエン誘導体（**1**）からの異性化反応には、スキーム1に示したような従来考えられていた**2**を通る反応機構とは異なるジ-π-メタン転位機構を含む反応経路が存在し、この反応機構は光反応以外にも熱的条件下でも許容であることが分かった。実際に熱的条件下でもシクロヘキサジエン誘導体（**1**）からビス（フレロイド）（**4**）への異性化が進行する。



スキーム1 フラーレンシクロヘキサジエン誘導体のビス（フレロイド）への異性化

本研究成果は、複雑多π電子系が関与する電子環状反応に量子化学的なメスを入れて、従来信じられていた反応機構に代わる新しい反応機構の存在を証明した点で評価されている。光反応に限定されていた反応条件が熱反応でも実現可能なことを示したことは、フラーレンをベースとした新規構造を有する材料の合成に新たなルートを提供するものである。

フラーレンジケトンの環拡大反応

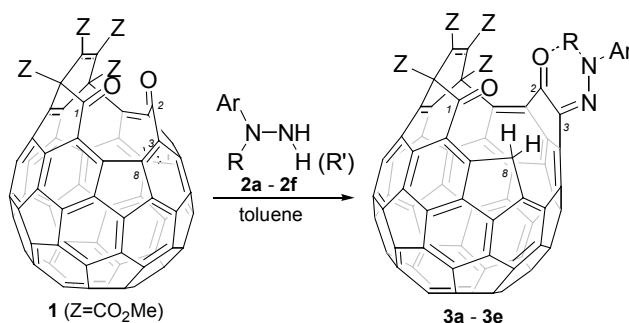
(S.-i. Iwamatsu, F. Ono and S. Murata, *Chem. Commun.*, 1268-1269 (2003).)

4個のエステル置換基を有するビス(フレロイド)は、自己増感光酸化反応により結合の解裂を起こし部分開口ジケトン誘導体を生成する。得られたジケトン誘導体の環サイズは、フラーレン内部への小分子の移行には不十分であり環拡大反応の開発が求められていた。本研究ではフラーレンジケトン誘導体への求核反応によって環拡大する方法を検討した。

・フラーレンジケトン誘導体(1)にフェニルヒドラジン誘導体(2)を働かせると、スキーム1に示したようにカルボニル基に隣接する炭素-炭素結合が選択的に切断され16員環大環状骨格をもつヒドラゾン誘導体(3)が得られた。

・生成物の構造は、 ^1H NMR, ^{13}C エンリッチ C_{60} から合成したサンプルにおける ^{13}C NMR—INADEQUET 測定(図1), ^{15}N ラベルしたフェニルヒドラジンを用いて合成したサンプルにおける ^{15}N NMR 測定を用いておこなった。

本研究は、フラーレンジケトン誘導体(1)に対して窒素求核剤が選択的に反応し、予想されるヒドラゾン生成のような脱水縮合ではなく結合解裂を起こすという新しい反応を見出した点で評価されている。さらにこのような反応を用いれば、フラーレン上に大環状骨格に基づく開口部を構築できるだけでなく、ヒドラジン上の置換基を変化させることが可能である。したがって、サイズのみならず置換基に基づいた周辺の立体的嵩高さや電子的效果を開口部に与えることが可能となり、フラーレン内部への小分子の封入を制御することに役立つものと期待される。



スキーム 1

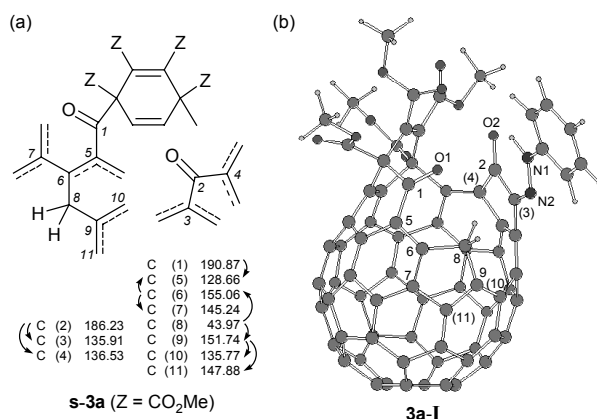


図 1

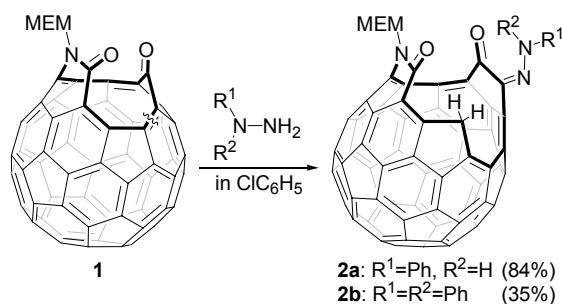
フラーレンジケトンの環拡大反応

(S.-i. Iwamatsu, F. Ono and S. Murata, *Chem. Lett.*, **32**, 614-615 (2003))

4個のエステル置換基を有するビス(フレロイド)は、自己増感光酸化反応により結合の解裂を起こし部分開ロジケトン誘導体を生成する。得られたジケトン誘導体の環サイズは、フラーレン内部への小分子の移行には不十分であり環拡大反応の開発が求められていた。先に、我々はフラーレンジケトン誘導体へのフェニルヒドラジン誘導体の求核反応によって環拡大が可能となることを見出した¹。本研究はビス(フレロイド)から誘導されるフラーレンジケトン誘導体以外にも同様の環拡大の可能性を探る目的で行った。

・アザフレロイド誘導体から合成されるフラーレンケトラクタム誘導体(1)にフェニルヒドラジン誘導体を働かせると、スキーム1に示したように同様のカルボニル基に隣接する炭素-炭素結合の選択的な切断が起こり15員環大環状骨格をもつヒドラゾン誘導体(2)が得られた(図1)。

本研究は、フラーレンケトラクタム誘導体(1)に対してもフェニルヒドラジンのような窒素求核剤が選択的に反応することを見出した点、およびフラーレン上やヒドラジン上の反応における置換基変化による開口部の制御の可能を拡大した点など、開口フラーレン誘導体合成への一般性を高めたものと評価されている。



スキーム 1

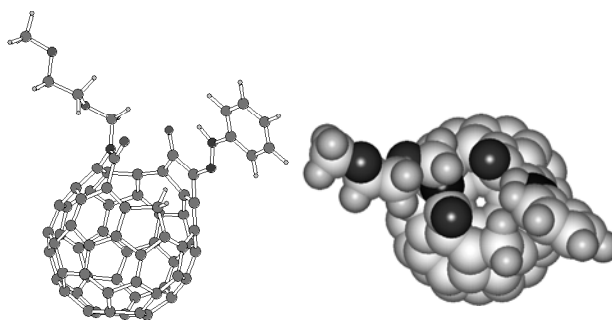


図 1

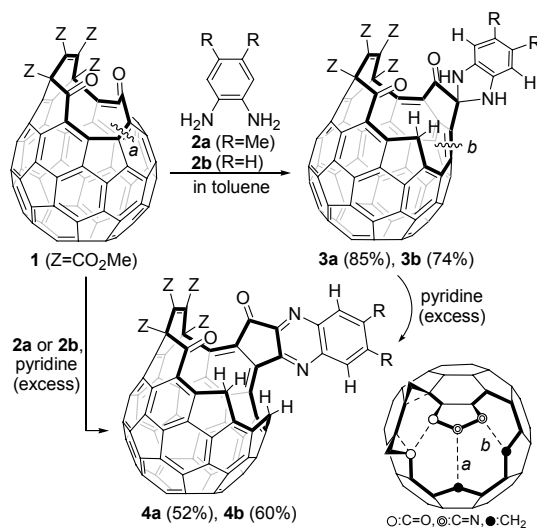
フラーレンジケトンの環拡大反応と小分子の内包

(S.-i. Iwamatsu, T. Uozaki, K. Kobayashi, S. Re, S. Nagase and S. Murata,
J. Am. Chem. Soc., **126**, 2268-2269 (2004).)

4個のエステル置換基を有するビス(フレロイド)は、自己増感光酸化反応により結合の解裂を起こし部分開口ジケトン誘導体を生成する。得られたジケトン誘導体の環サイズは、フラーレン内部への小分子の移行には不十分であり環拡大反応の開発が求められていた。先に、我々はフラーレンジケトン誘導体へのフェニルヒドラジン誘導体の求核反応によって環拡大が可能となることを見出した¹。本研究ではフラーレンジケトン誘導体への他の反応剤による求核反応によって環拡大を行い、小分子をフラーレン内部に封入する方法を探索した。

・フラーレンジケトン誘導体 (**1**) にオルトフェニレンジアミン誘導体 (**2**) を働かせると、スキーム1に示したように、カルボニル基に隣接する炭素-炭素結合の切断とさらに隣接部の炭素-炭素結合の切断と、2段階の選択的環拡大が起こり20員環大環状骨格をもつキノキサリン誘導体 (**3**) が得られた (図1)。

・得られたキノキサリン誘導体 (**3**) は、常温常圧下にて100%収率で水分子1個を内封することを発見した。内部の水分子は¹H NMRにおいて-11.5 ppmと異常に高磁場シフトしてシグナルが表れ、室温下速やかにH-D交換を起こす。



スキーム1

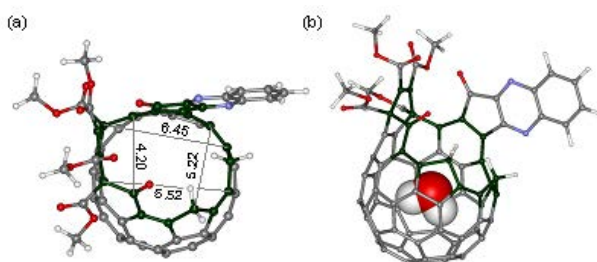


図1

本研究成果は、現段階で最大の開口部を有するフラーレン誘導体の合成に成功したこと、従来ヘリウムと水素分子のみであった分子内包フラーレンの合成例をはるかに超えた大きさの水分子の内封に成功したこと、および内包された極性分子は非極性分子とは異なる挙動を示すことを見出した点で高く評価されている。様々なタイプの分子内包フラーレン合成のプロトタイプとして期待される。

小分子内包フラーレンの合成

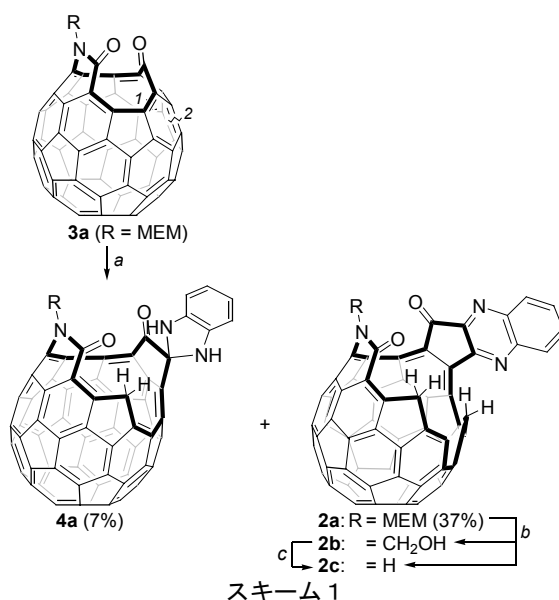
(S.-i. Iwamatsu and S. Murata, *Tetrahedron Lett.*, **45**, 6391-6394 (2004).)

我々はフラーレンジケトン誘導体およびフラーレンケトラクタム誘導体へのフェニルヒドラジン誘導体の求核反応によって環拡大が可能となることを見出した。さらに、オルトフェニレンジアミンを用いた環拡大を用いて、水分子を内包したフラーレン誘導体の合成に初めて成功した。本研究ではフラーレンケトラクタム誘導体へのオルトフェニレンジアミンによる環拡大で得られた生成物を用いて小分子内包フラーレン合成方法を探索した。

・アザフレロイド誘導体から合成されるフラーレンケトラクタム誘導体 (1) にオルトフェニレンジアミン誘導体を働かせると、スキーム 1 に示したように 2 段階の炭素-炭素結合の選択的な切断が起こり 19 員環大環状骨格をもつキノキサリン誘導体 (2) が得られた。

・キノキサリン誘導体 (2) は、先の論文で報告した 20 員環大環状骨格をもつ生成物に比べ開口部が 1 サイズ小さいので、水分子の挿入には加熱条件が必要であったが一旦内部に挿入された水分子は脱離しにくい。

・一方、水よりサイズの小さな水素分子の挿入は認められなかったが、このことは開口部のサイズが大きすぎるために速やかに脱離してしまうためである。



本研究成果は、現段階で 2 番目の大きさの開口部を有するフラーレン誘導体の合成に成功したことによって、小さいサイズの水素分子と大きな水分子では内包フラーレンを合成するために適当な開口部サイズが異なることを実証点で高く評価されている。分子吸蔵、分子篩、特異的センサー等の有用機能をもった開口フラーレン誘導体のデザインに必要な条件を検討する上で重要な成果をもたらすものとして期待される。

フラーレンジケトンの環拡大反応

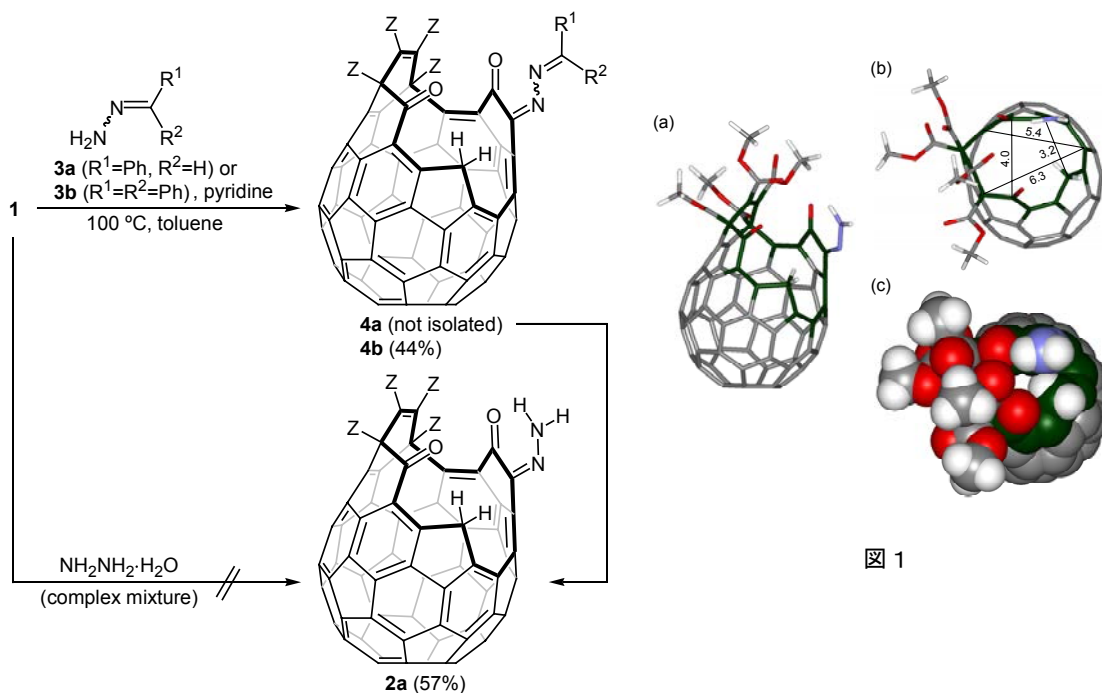
(S.-i. Iwamatsu, T. Kuwayama, K. Kobayashi, S. Nagase, and S. Murata,
Synthesis, 2962 - 2964 (2004).)

ビス（フレロイド）の自己増感光酸化反応により得られたジケトン誘導体は、フラーレン内部への小分子の移行には不十分であり環拡大反応の開発が求められていた。我々の研究グループで見出したフラーレンジケトン誘導体への含窒素化合物の求核反応によって環拡大を行う方法は、既に水分子の内封に有効であることが実証されている³。このような環拡大反応のスコープ・アンド・リミテーションを明らかにするために、種々の置換基を有する反応剤への適用が求められている。このような背景の下で、本研究では芳香族カルボニル化合物のヒドラジンを用いた環拡大を検討した。

・フラーレンジケトン誘導体 (**1**) にベンズアルデヒドまたはベンゾフェノンヒドラゾン誘導体 (**3**) を働かせると、スキーム 1 に示したようにフェニルヒドラゾンによる環拡大反応^{1,2} 同様の選択的結合切断が起こりビス（ヒドラゾン）誘導体 (**4**) が得られた。

・ベンズアルデヒドヒドラゾン誘導体 (**3a**) から得られたビス（ヒドラゾン）誘導体 (**4a**) は、シリカゲル程度の弱い酸性条件でも加水分解が起こり、直接合成することが困難な無置換ヒドラゾン誘導体 (**2**) が得られた (図 1)。

本研究成果は、無置換ヒドラゾン誘導体の合成に成功したことでフラーレン開口部周辺の置換基を広汎に調整させることの可能性を示唆しており、幅広く応用されることが期待される。



スキーム 1

フラーレン上の官能基調節による水溶性化合物合成

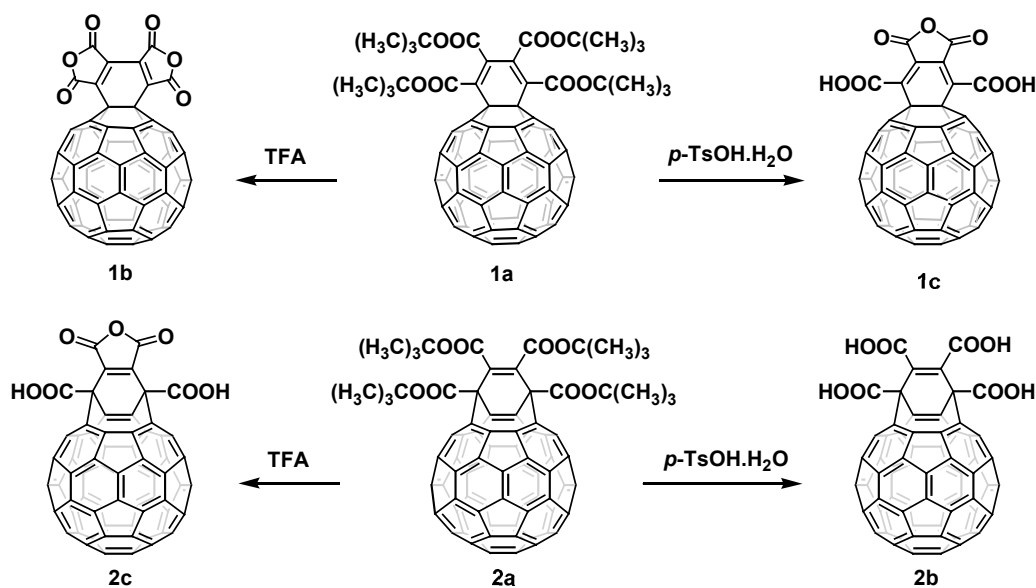
(P. S. Vijayalakshmi, S.-i. Iwamatsu, I. Koike, Y. Kitamura, and S. Murata, *Tetrahedron Lett.*, **45**, 8311 - 8313 (2004).)

フラーレン外部に導入した置換基の性質を利用して、フラーレンの様々な物性を調整することができる。中でもユニークな C_{60} のラジカルや活性酸素等に対する光電子的性質は、新しいカテゴリに含まれる医薬の作用メカニズムとなり得ることが期待されている。そのため、フラーレンの特性を伴った親水性・水溶性誘導体の研究が盛んになっている。我々が既に合成に成功しているビス（フレロイド）は、フラーレンに固有の 60π 電子系を維持したまま官能基化がなされており、このような目的での親水性誘導体合成のベースとして有望である。本研究は、テトラカルボアルコキシ置換ビス（フレロイド）および関連化合物を基に親水性官能基へと変換する方法を検討した。

・酸性条件下でエステルの加水分解が可能な *t*-ブチルエステルを有するビス（フレロイド）誘導体（**2a**）は、用いる酸性反応条件の違いに応じて、全てカルボン酸に加水分解された生成物（**2b**）または部分的に酸無水物構造を有する生成物（**2c**）の両者を与えた。

・ビス（フレロイド）の前駆体であるシクロヘキサジエン誘導体（**1a**）における *t*-ブチルエステル加水分解反応も同様に進行するが、反応条件に応じて熱分解反応によって既に生成することが知られていたビス（カルボン酸無水物）（**2b**）、または部分加水分解性生物（**1c**）が得られた（スキーム1）。

・得られたテトラカルボン酸誘導体は弱塩基性条件下で水溶性を示し、UV スペクトルによって 60π 電子系が保たれていることが明らかになった（スキーム1）。



スキーム 1

本研究成果は、水溶液条件下で使用可能なフラーレン誘導体デザインの基礎として役立つことが期待されている。

3. 4 自己発展型非平衡分子システムグループ

生化学リアクターとしての巨大リポソーム

(K. Tsumoto, S. M. Nomura, Y. Nakatani and K. Yoshikawa, *Langmuir*, **17**, 7225-7228 (2001).)

in vitro における化学・生化学の実験は、通常、プラスチックやガラスでできた、1-100 mm 程度の大きさの“硬い”容器中で行われることが多い。しかし生物では反応の多くが、生体膜で包まれた 0.1-10 μm 程度のサイズをもつ“軟らかい”コンパートメントの中で進行する。“マイクロラボラトリー”における試験管として、細胞サイズのリポソームが利用可能であるかを検討することは、生物が実際に利用しているマイクロメートルスケールのシステムを再構成することを試みる上でも、価値のあることである。

リポソームをリアクターとして利用する研究の多くが、 $<1 \mu\text{m}$ (サブミクロン) 程度のリポソームを用いていたが、いくつかの先駆的な研究では、 $\sim 10 \mu\text{m}$ 以上の直径をもつ巨大リポソームが用いられた。Yoshikawa の研究グループは、巨大リポソームが自然に形成するとき長鎖 DNA 分子鎖を捕捉することを明らかにしている。本研究では、それをさらに進展させ、巨大リポソーム内に DNA 分子鎖とともに RNA 合成酵素や基質類を封入し、内部において DNA が転写される様子を可視化した (図 1)。外部から強力な分解酵素である RNase を添加したが内部の RNA 産物は保護され、巨大リポソーム内部が微小な閉鎖区画として機能していることが確認された。光ピンセットによる捕捉・搬送が可能であることも示され、搬送の後も、内部の RNA 産物が保持されていた。これらは、巨大リポソームがマイクロメートルスケールの試験管として、生化学の研究に利用できる可能性が高いことを示すものである。

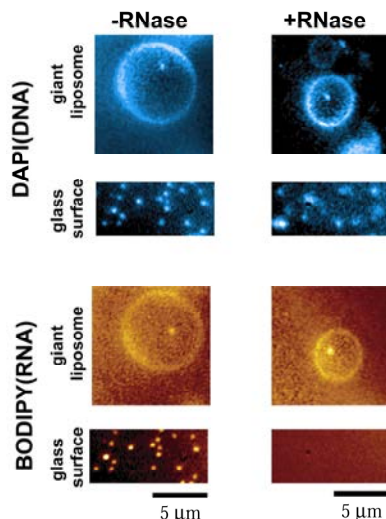


図 1 : 巨大リポソーム内の転写産物 (RNA) は外部の分解酵素 (RNase) から保護される。T7DNA (DAPI 染色) と、DNA から転写されている RNA (BODIPY 標識) とを同時に観察した。RNase の添加によりリポソーム外部のガラス表面上に吸着した RNA は完全に分解された。一方、巨大リポソーム内部には、分解を免れた RNA が観察された。

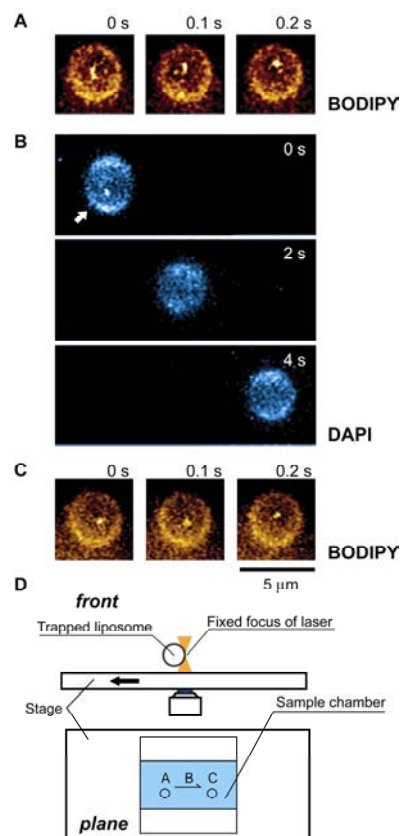


図 2 : 光ピンセットによる転写反応封入巨大リポソームの搬送。転写反応系が封入された巨大リポソーム (A) を光ピンセットシステム (D) により捕捉し、試料チャンバー内を搬送した。搬送後の巨大リポソーム (C) においても、内部に転写産物が保持されていた。

細胞サイズリポソーム形成時の DNA 濃縮効果

(Y. Sato, S-I M Nomura, and K. Yoshikawa, *Chem.Phys.Lett.*, **380**, 279-285 (2003).)

細胞サイズリポソームの可視化は、宝谷らの研究を皮切りに行われ、1990年には、微小管やアクチンを細胞サイズリポソームに封入した論文が発表された。これらの細胞サイズリポソームはすべて反応溶液で脂質フィルムを膨潤させる静置水和法で得られたものである。荷電高分子のリポソームへの封入効率を調べた研究は多いが、蛍光顕微鏡観察下におけるリポソーム内での生化学反応に直結するリポソームへの荷電高分子の封入効率については、調べられていなかった。本研究で我々は、細胞サイズリポソーム数(図 1-a)とその中の DNA 数(図 1-b)を蛍光顕微鏡下でカウントし、巨大 DNA の取り込み効率を評価した。また、核酸合成に必須な 2 価カチオンである Mg^{2+} を用い、取り込み効率を比較した。その結果、10mM Mg^{2+} 存在下においてリポソーム内部の DNA 密度はバルク溶液中よりも大豆レシチン(SL)リポソームで 25 倍、L- α Phosphatidyl -DL- Choline, Dioleoyl [DOPC]で 70 倍高くなることが分かった。

また、 Mg^{2+} と、DNA と PC が共存している場合においてだけ、 Mg^{2+} 濃度に依存して DNA が凝縮することが分かった(図 2)。このことから、リン脂質分子と DNA 分子は、 Mg^{2+} を介して相互作用することが分かった。とりこみを促進するメカニズムを図 3 に考察した。マグネシウムイオン存在下では、DNA 分子は脂質の目に見えない分子集合体断片と相互作用して、縮む。負電荷を持った脂質と DNA はマグネシウムイオンを媒介に複合体を形成し、リン脂質フィルム表面に吸着する傾向がある。

リン脂質多重層の表面に吸着した DNA の凝縮体は、付随して集まる大量の対イオンのために、局所的な浸透圧の増加を引き起こす。このことは、DNA が脂質膜の間の狭い空間に位置することにより、脂質層の間を押し広げることを意味する。DNA 分子のリポソーム内部への取り込みはこうして引き起こされる。このようなシナリオが、リポソーム内部への DNA 分子の取り込み促進の説明になるだろう。本研究は初めて細胞サイズリポソームへの DNA 濃縮を示したものであり、溶液環境で DNA の封入効率を制御できることを示した重要なものである。この方法は、荷電高分子を制御したコンパートメントを作成し、細胞モデル形成や、マイクロリアクターにも応用が可能である。

Lipid	[Mg^{2+}] / mM	ρ ($10^3 \mu\text{m}^{-3}$)	ρ/ρ_0	T.E.
soybean lecithin (SL)	0	0.7	0.6	4%
	10	17	15	33%
DOPC	0	1.0	0.9	4%
	10	69	63	60%

表 1 細胞サイズリポソーム内外の DNA 密度比 (ρ/ρ_0)
バルク溶液中の DNA 密度: ρ_0 ($1.1/10^3 \mu\text{m}^{-3} = 0.3 \mu\text{M} / \text{bp}$).

ρ : 数えられるリポソーム総体積.

n : 数えられる $1 \mu\text{m}$ 以上のリポソーム内部の DNA 総数; $\rho = n/V$.

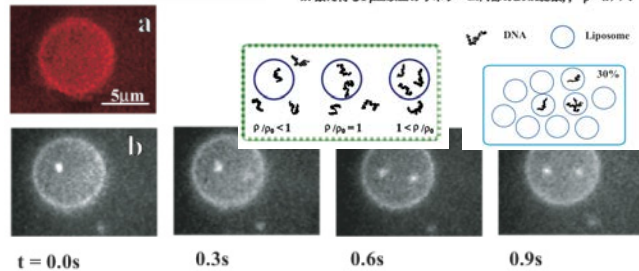


図 1 DNA を内包した細胞サイズリポソーム
a: 脂質のみを染色する色素のフィルターセットで観察したリポソーム
b: a と同じリポソームと DNA を DAPI 用両方染色するフィルターセットでの連続写真

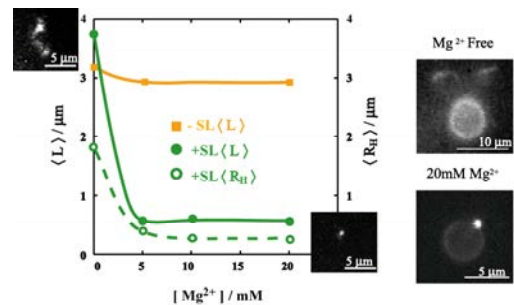


図 2 Mg^{2+} 濃度に依存したリポソームと DNA の相互作用

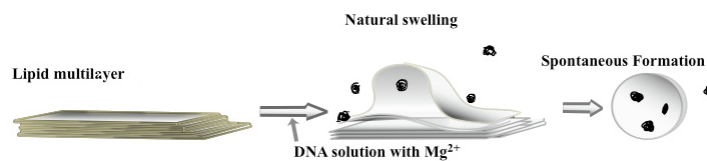


図 3 リポソームへの DNA 取り込みの模式図

細胞モデルとしてのリポソーム：遺伝子発現の促進効果

(S-I. M. Nomura, K. Tsumoto, T. Hamada, K. Akiyoshi, Y. Nakatani and K. Yoshikawa, *ChemBioChem.*, 4, 1172-1175 (2003).)

近年、細胞サイズのリポソームを用いた細胞モデルに関する研究として、その内部への生体高分子や生化学反応系の封入が数多く試みられている。DNA→RNA→タンパク質という一連の遺伝子発現プロセスの封入は、現実の生物により近い細胞モデルの構築をめざす上で必要であるが、内部への化学反応系の取り込みについてはまだまだ発展途上にある。これまでマイクロガラスピペットを用いて生化学物質を外部からリポソームへと直接注入（インジェクション）する方法が行われてきたが、インジェクション法は非常に熟練を要する職人技であり、相当の技術を要する。そこで我々は静置水和法（ガラス容器の底に乾燥した脂質フィルムを形成し、水溶液を加える）により、水溶液中に溶ける生化学物質を自発的にリポソーム内に封入する方法に注目してきた。一般に高塩濃度溶液中ではリポソームは形成されにくいことが知られているが、我々は溶液中の対イオンの濃度をコントロールし、脂質の成分を調整する事によって、ある程度高塩濃度の遺伝子発現反応系を含む水溶液中でも安定に存在するリポソームを形成することに成功した。in vitro 転写翻訳反応溶液を用いた静置水和法により細胞サイズのリポソームを形成後、リポソーム水溶液中での Green Fluorescence Protein (GFP)合成反応の観測を行った。蛍光顕微鏡観察の結果より、反応開始数時間後ではリポソーム内部の GFP 蛍光強度が外部のバルク溶液中に比べて高い事を発見した（下図）。またレーザー共焦点顕微鏡を用いた測定から、リポソーム内部の GFP 濃度は外部バルク溶液中の濃度の約 10 倍になることが見積もられた。これは、リポソーム内部の細胞模擬空間でタンパク質合成反応が促進されていることを示しており、膜で区画された微小空間の特異性を示唆する興味深い結果である。

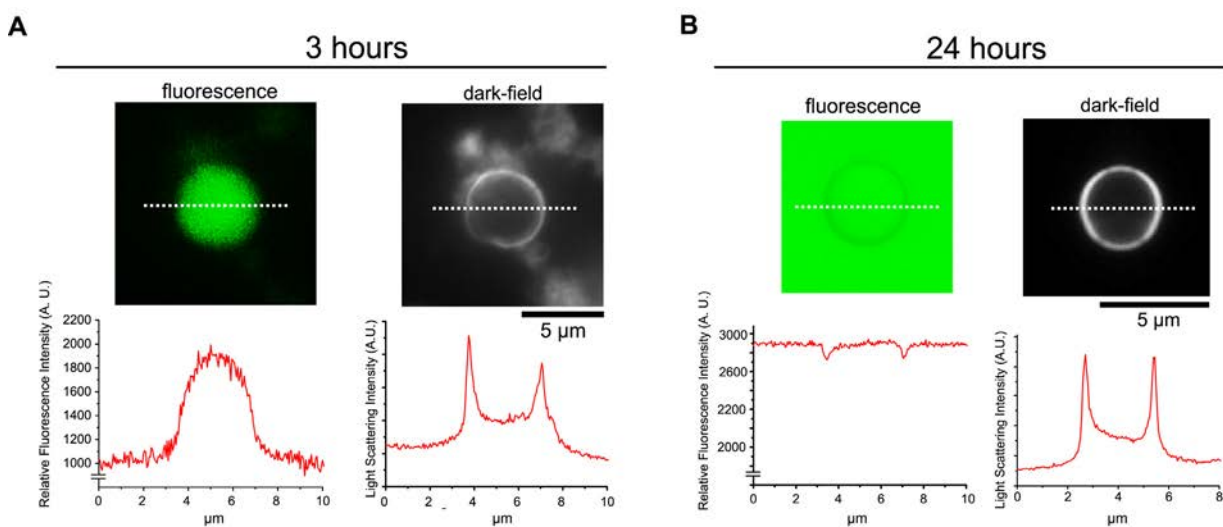


図 1 : (上) リポソーム内外での GFP 合成反応の蛍光(fluorescence)顕微鏡像と暗視野(dark-field)顕微鏡像。(下) 上図の点線部分の断面での光強度分布。蛍光顕微鏡で緑色に見えるのが合成された GFP であり、暗視野顕微鏡ではリポソームの膜の部分のみが観察される。A. 反応開始から 3 時間後ではリポソーム内部の GFP 蛍光強度が高い事から、膜内部の GFP 合成が促進されていることが分かる。B. 24 時間後では内外の GFP 濃度がほぼ等しくなっている。

リン脂質二重層膜における unbinding transition

(N. L. Yamada, H. Seto, T. Takeda, M. Nagao, Y. Kawabata, and K. Inoue, *Phys. Rev. Lett.*, submitted)

(M. Hishida, N. L. Yamada, H. Seto, and K. Yoshikawa, in preparation)

リポソームは単層のリン脂質二重層膜により囲まれた閉空間であるが、DPPC等の合成リン脂質を水に溶かしただけでは多重層ラメラになるだけで自発的にリポソームになるわけではない。そこで通常リポソームを形成するには、交流電圧をかけて電極からベンクルを生成させる(electroformation)方法や、乾燥脂質フィルムを溶液中で膨潤させる(natural swelling)方法、有機溶媒と水溶液との界面で生成する(reverse-phase evaporation)方法等が知られていたが、マルチラメラから単層ラメラができる要因についてはあまり理解されていなかった。

そこで本研究では、DPPC水溶液に塩化カルシウムを加えた場合に塩濃度に応じて膜間隔が変化することに着目し、その振舞いの温度依存性をX線小角散乱、中性子小角散乱、及び中性子スピネコー法を用いて調べた。その結果、脂質がゲル相にあるときは膜間距離は有限だが、液晶相にあるときは膜間距離が発散することを見いだした。これは膜間の静電反発力と膜のゆらぎによる立体反発力との競合により、van der Waals力による膜間引力に打ち勝つことに原因がある。この結果により、マルチラメラから膜がはがれていく"unbinding transition"の要因を明らかにするとともに、リポソーム形成の要因について重要な示唆を与えることとなる。

また我々は、ガラス基板上の乾燥リン脂質フィルムの積層形態がゲル相と液晶相とでは違っていることを見いだした。(図1)そして液晶相で見られたような regular stacking の場合にのみ巨大リポソームが得られることを明らかにした。

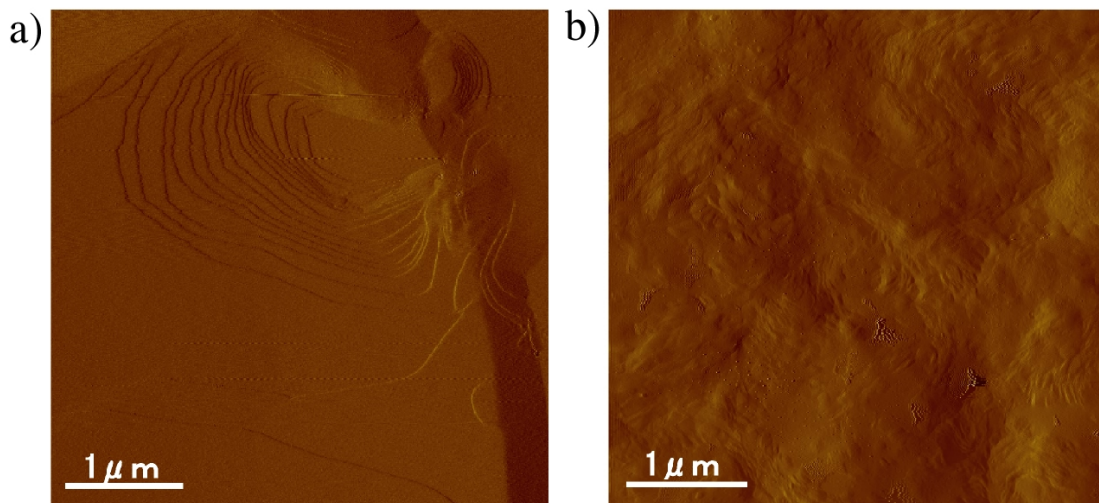


図. (a) DOPC (液晶相) の AFM 像。 (b) DPPC (ゲル相) の AFM 像。

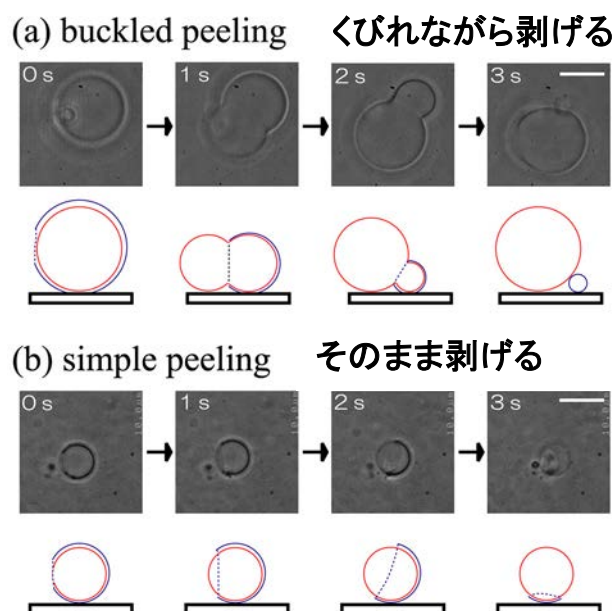
多層膜剥離に伴う細胞サイズリポソームの動的形態変化

(T. Hamada and K. Yoshikawa, *Chem. Phys. Lett.*, **396**, 303-307 (2004).)

両親媒性分子であるリン脂質は水溶液中で自己集合しミセルや脂質二分子膜小胞（リポソーム）を形成する。リポソームは実際の細胞膜と類似した組成・構造を持つため細胞モデルとしての研究に最適であり、マイクロメートル以上の細胞サイズリポソームは曲率的に安定で、また光学顕微鏡によって一個体をリアルタイムで直接観察する事が可能である事から近年研究が進められてきている。リポソームは水溶液中で球状やチューブ状等の様々な形をとり、形態に関する理論的・実験的研究がこれまでに数多く成されてきたが、ほとんどが平衡状態のリポソームの形態に限られたものであった。生体内での細胞膜の融合・分裂などの現象は時間に依存した非平衡条件下で起きており、非平衡状態におけるリポソームの動的形態変化に関する研究はきわめて重要であるが、いまだ不明のまま残されていた。本研究では、水溶液中で安定に存在している多層膜の細胞サイズリポソームをガラス界面と相互作用させることで平衡状態から離し、より安定な状態への遷移過程を位相差顕微鏡により直接観察を行った。多層膜リポソームの最外膜がガラス表面との相互作用によって剥離し、内側の膜が飛び出してくる現象が観察され、その際リポソームはサイズに依存して2つのタイプの形態変化を起こす事を見出した。さらに、ガラス界面との相互作用による *surface energy*、膜のくびれた部分の *bending energy*、外側の膜に開いた孔の周囲に発生する *line energy* の3つのエネルギーを考える事で、*buckled peeling* と *simple peeling* 間の分岐のサイズ依存性を定性的に説明できる事を示した。

$$U_{total} = E_{surface} + E_{bending} + E_{line} = -\varepsilon \cdot A + k_c \cdot \int dS H^2 + \gamma \cdot l$$

ここで、 ε , k_c , γ はそれぞれガラス界面との表面張力、膜の曲げ弾性係数、膜に開いた穴に生じる *line tension* を表し、 A は脂質分子がガラス表面に移動する事によりリポソームの外膜が減少した面積、 H は括れた部分の平均曲率で積分はその部分のみをとる。また l は膜に開いた孔の周囲の長さである。



図：多層膜細胞サイズリポソームの最外層剥離ダイナミクスの位相差顕微鏡像（スケールバーは 10 μm ）。

(a) **buckled peeling**: 外側の膜に穴が開き剥げる過程で、内側の膜がくびれながら外に飛び出してくる。

(b) **simple peeling**: 内側の膜が球形を保ちながら、外側の膜が剥げていく。

自発的に形成される単一高分子鎖のリズム運動

(H. Kitahata, H. Mayama, and K. Yoshikawa, *Phys. Rev. E*, **70**, 021910 (2004).)

生命活動の維持に重要な役割を果たしている生体中（等温系）の分子モーターはカルノーサイクルの動作環境と異なるため、その動作原理に大変関心がもたれている。これに関連して、我々は 1 次相転移を示す単一高分子鎖を非平衡開放条件下に配置することで高分子鎖から自発的なリズム運動（広がった状態（コイル状態）と凝縮状態（高度にドーナツ状等の構造に折り畳んだ状態）の間を遷移する運動モード）が発現することを実験と理論の両面から明らかにした。具体的には、我々は光ピンセットを用いて細胞スケールの非平衡開放場（レーザー波長程度のサイズの局所的加熱場）を創出し、単一高分子鎖として巨大 DNA 単分子鎖を用いた。DNA のリズム運動（伸縮運動）を実験と理論から以下の点を明らかにした。

- DNA のリズム運動は凝縮状態が局所加熱場で加熱されてコイル状態になった後、加熱場からはみ出し、冷却されて凝縮状態に戻る。この際、凝縮した DNA は光ピンセットの引力により加熱場に引き戻され、加熱・冷却の過程を繰り返す（図 1 参照）。
- リズム運動を発現させるためには 1 次相転移の kinetics が重要であり、そのダイナミクスは時間依存 G L 方程式で記述される。
- 1 次相転移を示す単一高分子鎖を非平衡開放場に配置するとリズム運動が発現する。
- 自由エネルギーの観点から、局所加熱場は局所的な化学ポテンシャルの勾配と等価であるため、単一高分子鎖のリズム運動は等温系で作動している分子モーターと物理的に等価である。
- 生体中の分子モーターも非平衡開放場と高分子鎖の 1 次相転移がカップリングしている可能性がある。

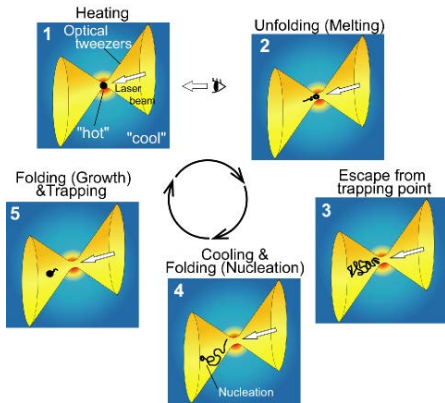


図 1 DNA 単分子鎖のリズム運動（模式図）

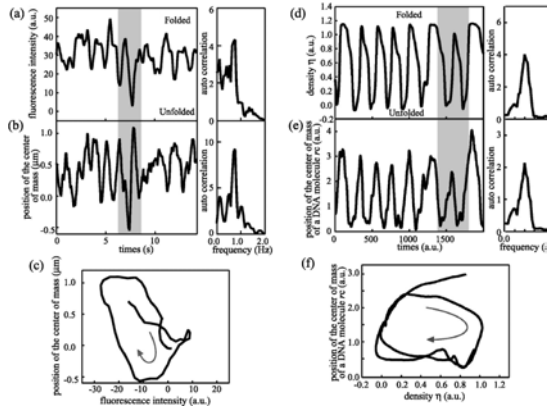


図 2 リズム運動の解析. 実験結果 (a-c) と理論解析 (d-f) の比較. 密度 (a, d)、重心 (b, e)、位相空間 (c, f) のそれぞれの時間変化.

Nd³⁺:YAG レーザ一定常照射下での脂質チューブの自発的振動

(S. M. Nomura, T. Harada and K. Yoshikawa, *Phys. Rev. Lett.*, **88**, 093903 (2002).)

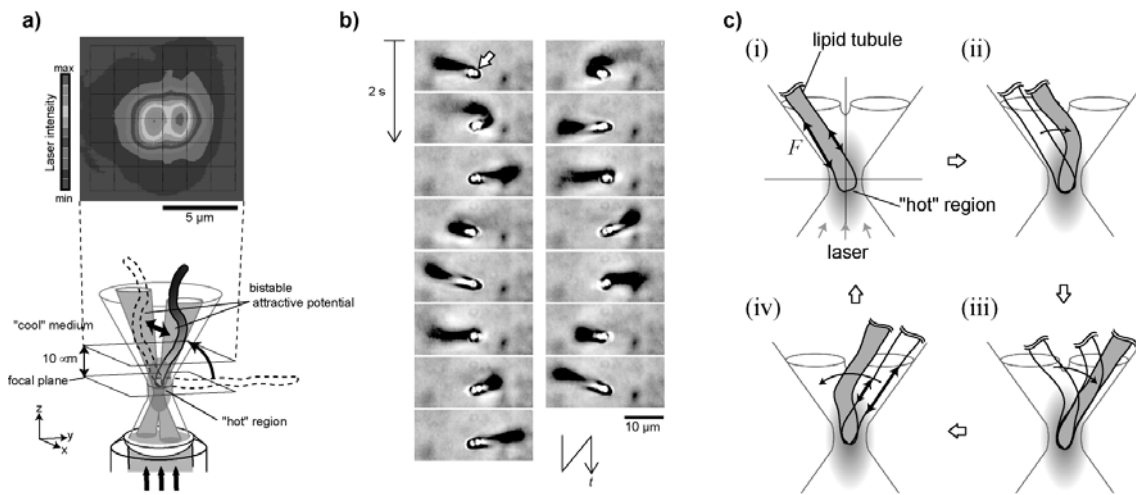


図. a)チューブ振動子実験系の模式図. チューブはレーザー強度の高い2つの領域を双安定点として振動する. b) レーザ出力が 50 mW のときの脂質チューブ振動の連続画像. c) レーザトラップされた脂質チューブの振動運動の模式図. (i)まず, 脂質チューブは二つの引力ポテンシャルのいずれかに沿って捕捉される. チューブ近傍の温度分布にしたがって, チューブの光軸側部分の脂質二分子膜の張力 F が減少する. (ii-iii) チューブの光軸側と外側との膜張力の非対称性によって変形したチューブは, 双安定なポテンシャルの他の一方へと動く. 動いた後, チューブの外側は冷却され(iv), ふたたび(i)からのサイクルが繰り返される.

マイクロメートルスケールの脂質チューブ構造が, Nd³⁺:YAG レーザー($\lambda = 1064 \text{ nm}$)の一定強度での連続照射条件下において, 持続的な揺動運動を示すことが明らかになった. 対物レンズを経由し, ある適切な光路を通過したレーザーは, 焦点より下流方向においてデュアルビームに分割され得る(図 a). この環境において, 脂質チューブはレーザーが形成する双安定なポテンシャルに晒され, そのいずれか一方へと配向して捕捉される. 一方, 水分子の光子吸収がもたらすレーザー焦点近傍の局所的な温度勾配によって, 捕捉された脂質チューブは二つの配向状態間を遷移する形で揺動運動を起こす(図 b, c). この揺動現象は, 熱力学的開放条件下における時間並進対象性の破れを示していると考えられる.

集光レーザーにより駆動される微小回転体の運動モードスイッチング

(T. Harada and K. Yoshikawa, *Appl. Phys. Lett.*, **81**, 4850-4852 (2002).)

集光したレーザービームの焦点にトラップされた誘電体は、その形状にカイラリティがあると光の散乱のために回転運動を行う。これまである特定の形状をした物体はある一つの方向にしか回転しないと考えられていたが、当グループでは同一の物体に対しても両方向の回転を誘起できることを実験的に示した。物体をトラップする部位を変更することによって、はたらくトルクを制御することが可能になる。

実験では回転体として、全長約 $20 \mu\text{m}$ で一巻きのらせん形をしたアフリカツメガエルの精子染色体を用いた。染色体の任意の部位に直径 $2 \mu\text{m}$ のポリスチレンビーズを付着させ、ビーズをトラップすると、らせん形染色体は光の散乱によってビーズのまわりで回転運動を行う。ビーズがらせんの端部分に取り付けられた場合、染色体はビーズの位置がらせんの内側ならば右回り、外側ならば左回りに回転した (図A、B)。また他にも、らせんの中央部にビーズを取り付けた場合は左回りの回転運動を行い、染色体を無修飾でトラップした場合、らせんはその中心部のまわりに右回りの回転を行った。(図C、D)。

以上のように、物体をトラップする部位を制御し、回転中心の位置を変えることによって同一の回転体に対しても両方向の回転運動をさせられることが実験的に示された。また、こうしたスイッチング機構の理論的考察も行った。その結果、下図A、Bの場合に回転方向が逆転するのは、らせんの端に取り付けられたビーズの位置が、その周りでらせんに働いている光散乱力と垂直の方向に横切ることが原因である事が分かった。

本研究で示したような、同一形状の微小回転体の回転向きを、回転中心の位置を変えることで制御できるという実験的研究結果はこれまでにないものである。近年、集光レーザーを動力源として働くマイクロメートルスケールの回転モーターを設計しようという研究の動きが国内外で起こっているが、本研究はそうした研究の流れに新しい視点を提供し、新奇なメカニズムで運動制御される微小モーターの構築を可能にするものである。

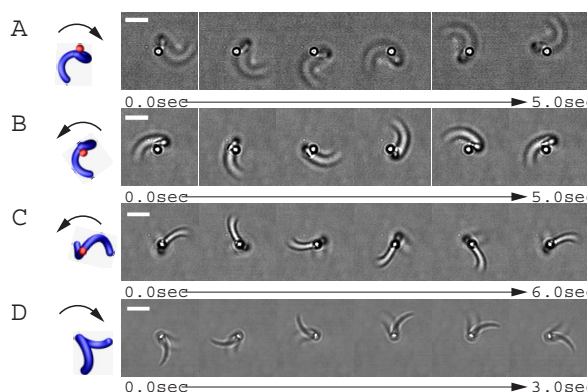


図. 精子染色体の回転運動. スケールバーは $5 \mu\text{m}$. (A) ビーズがらせんの内側端に付いた場合. (B) 外側端に付いた場合. (C) 中央に付いた場合. (D) ビーズがついていない場合.

マイクロビーズクラスターの周期的な崩壊現象

(N. Magome, H. Kitahata, M. Ichikawa, S. M. Nomura and K. Yoshikawa,
Phys. Rev. E, **65**, 045202 (2002).)

定常的なレーザー照射により、様々な運動モードを作り出すことが可能であることをこれまで明らかにしてきている。このようなレーザーによる非平衡系の構築に関して、マイクロビーズのクラスターが崩壊と形成を周期的に繰り返す振動挙動が観察された。

集光レーザーをマイクロビーズの分散液に照射すると、レーザートラップの原理に従ってビーズが焦点に集められ、クラスターが形成される。ここで、照射するレーザー径を細くして集光角を小さくした場合、形成したクラスターがある大きさに達した後一瞬でクラスターが崩壊し、その後また新たにクラスターが形成されるという挙動を繰り返す振動現象が見られることが分かった。これは、集光角を変えることでトラップ力を小さくし、レーザーによる散乱力を相対的に大きくしたために、クラスターが不安定化したためである。また、この振動周期やクラスターのサイズは照射するレーザー出力に依存し、出力が

大きくなると、周期は早く、サイズは大きくなることを明らかに。簡単なモデルによる数値計算の結果、実験を定性的に再現できることを示した。

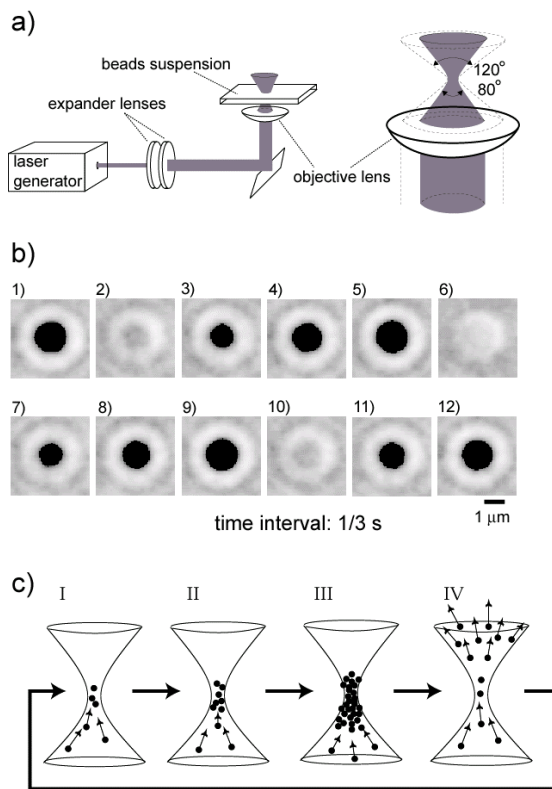


図. (a)実験装置の模式図、(b)得られた顕微鏡観察像、(c)バースティングの模式図、をそれぞれ示す。

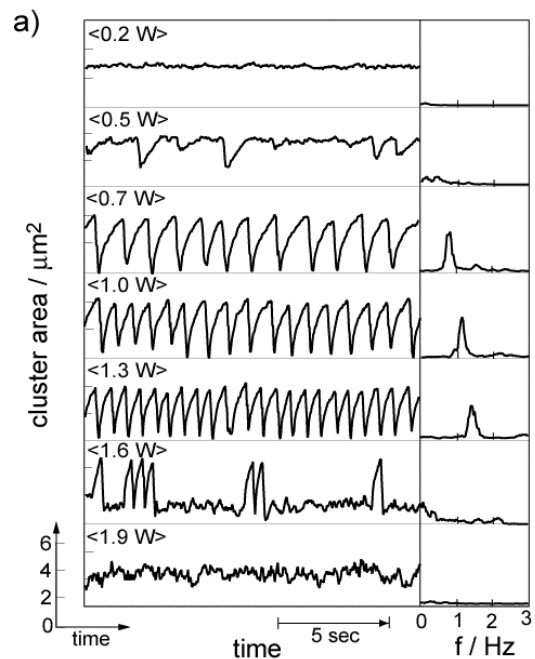


図. レーザー出力に依存したクラスターサイズの経時変化

レーザーによる水滴の周期的形成

(M. Ichikawa, N. Magome, and K. Yoshikawa, *Europhys. Lett.*, **66**, 545-551 (2004).)

レーザーの集光性の良さを利用する事で水空気界面を $1\ \mu\text{m}$ のオーダーで局所加熱し、飽和水蒸気の定常的な非平衡場をマイクロメータスケールで実現した。通常は拡散だけで終わる系であり、加熱を強くしても蒸気密度の勾配がきつくなるだけであるが、この実験では、疎水基板に乗せた水滴で基板付近の水空気界面を加熱する事で、疎水基板上の目に見えない nm サイズのディフェクト（傷）を核として微小水滴が成長する。傷には其々、水滴成長の為の臨界水蒸気密度が存在するが、過熱を徐々に強くしていく事で、基板上の水蒸気勾配中の有る一点のみに μm サイズの水滴を成長させる事が可能となる。この時、微小水滴は飽和蒸気によって唯一つ成長し、成長の末に加熱を行っていた界面へと触れる事になる。触れた瞬間、水滴はその曲率から来る表面張力の不利によって元の大きな水相へと吸い込まれる。この様な、水滴が成長と消滅の振動を見出した。

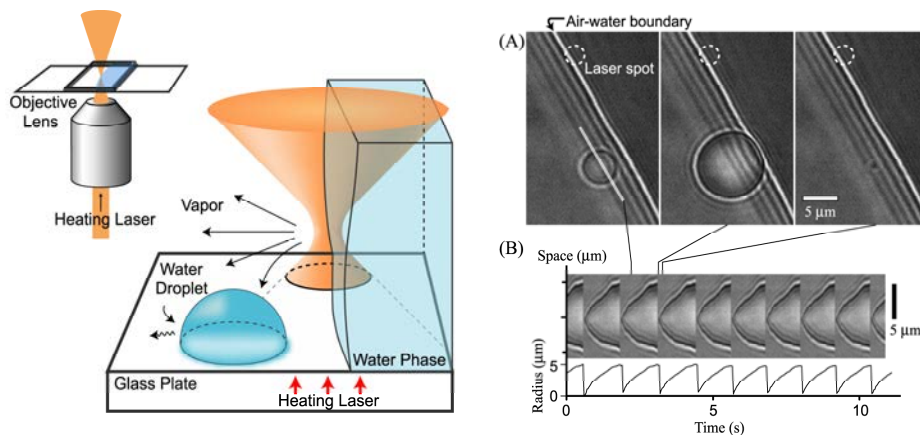


図. 実験の模式絵と微小水滴の成長-消滅の周期振動。(A) 微小水滴の成長と消滅のスナップショット。レーザーパワーは $200\ \text{mW}$ 。吸収されて消えるプロセスはビデオレートの $1/30\ \text{s}$ より短い時間で完了する。(B) 時空間プロットに直した水滴の振動。歪みは干渉によるものである。

この系を議論した結果、水滴の成長は飽和蒸気圧によって駆動される拡散凝集的なものであり、サイクルの中でレーザーのエネルギーは蒸気密度を経て水滴の表面張力として一時的に保持される事で秒単位のサイクルが実現される事が明らかになった。

微小な世界に於いてはどのような物質を用いても熱の拡散が速くミリ秒程度で緩和してしまうため、カルノーサイクルに有るような断熱過程や（平衡の温度とは違う温度での）等温過程を秒のオーダー操作時間で実現するには困難があるが、本研究ではサイクルの中で自由エネルギーを温度差の形ではなく微小水滴の表面張力に代えることで、秒単位で見てもエネルギーが系から拡散せずに維持できるサイクルを実現している。この実験系自体は効率の点で蒸気エンジンの構築には向かないと思われるが、 μm 或いは nm での動力源となるようなサイクルの実現に寄与するアイデアを提示している。

混合溶液の相分離現象

(S.-a. Mukai, N. Magome, H. Kitahata, and K. Yoshikawa, *Appl. Phys. Lett.*, **83**, 2557-2559 (2003).)

有機物質であるトリエチルアミンと水との混合系では、その混合比率に応じ、相分離状態を示す。この系において、室温で均一に溶解しているトリエチルアミンと水の混合溶液に集光レーザーを照射することにより、均一/分離転移を引き起こすことを実験的に明らかにした。これは通常では観察されないミクロスケールでの局所的な相分離挙動である。まず、トリエチルアミンが飽和状態にある水相にレーザーを照射してレーザーの集光点においてトリエチルアミンを分離させ、その液滴をトラップすることに成功した(図 8-1、左)。また、水が飽和状態にあるトリエチルアミン相中においても、レーザーを照射することによって、焦点部分で水が分離することも明らかにした。さらに、水相中で分離させたトリエチルアミン液滴の内部で小さな水滴が分離する「入れ子構造」を作ることにも成功した(図 1、右)。

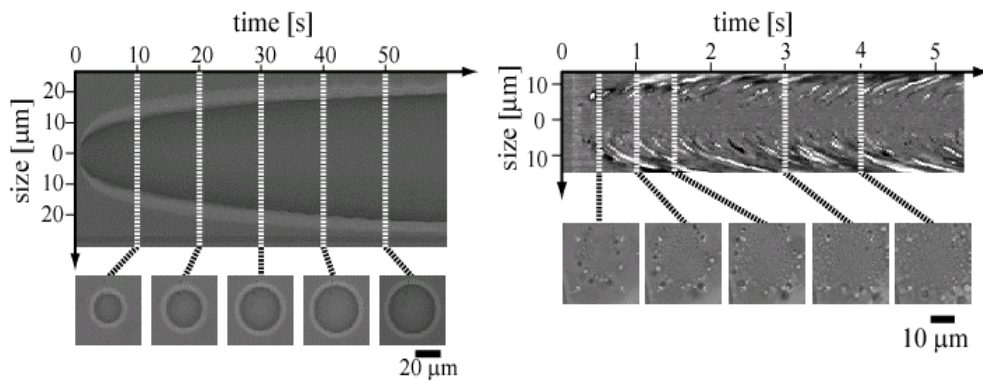


図 1 レーザー照射によって誘起されるミクロ相分離
(左) 水相中で分離した油滴と、(右) 油相中で分離した水滴の顕微鏡像

レーザー照射による温度上昇を抑えるため、重水を用いたり、レーザーの波長を変えたりしても相分離が起こることから、相分離の原因としては、温度上昇ではなく、誘電率の差を利用したトラップ力に起因する分離挙動であると考えられる。そこで、レーザーポテンシャルと界面エネルギーを考慮した自由エネルギーを用いたモデルで、トリエチルアミン滴が有限サイズでトラップできることを示した。球対称な液滴を仮定して、

$$F(R) = \int_0^R 4\pi r^2 U(r) dr + 4\pi\sigma R^2$$

のように自由エネルギーを書き下すと、下図(a)のようにレーザーパワーによって自由エネルギーのプロファイルが変化し、レーザーパワーがある値を超えると R が 0 より大きい点で自由エネルギーが極小となる。すなわち、安定点とレーザーパワーの分布図(図 2)に示したように、レーザーが定常的に注入される状態では、有限サイズの液滴が存在するか、液滴が無い状態の二状態を亜臨界分岐することがわかった。

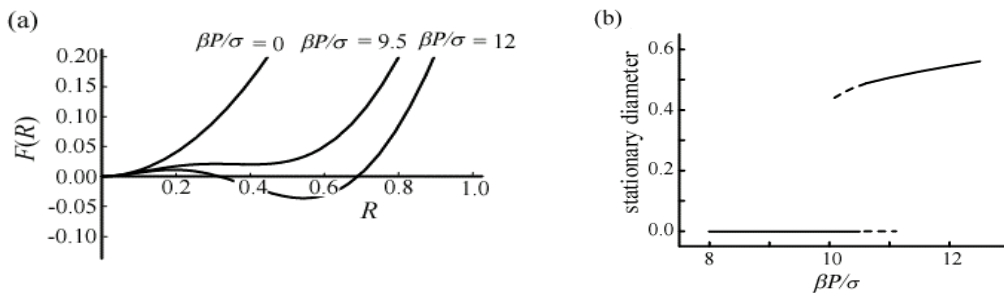


図 2 数値計算結果

気相中での液滴光トラップ

(N. Magome, M. I. Kohira, E. Hayata, S. Mukai and K. Yoshikawa,
J. Phys. Chem. B, **107**, 3988-3990 (2003).)

気相中において液滴を非接触で保持することは、無容器化学反応系を構築する上で極めて重要である。そこで、レーザートラップの原理を用い、気相中で μm サイズの微小水滴のトラップを行った。さらに、この水滴を飽和水蒸気中で成長させることでトラップ効率が従来のそれと比較すると桁大きい値となることを示した。

実験概要は以下の通りである。2枚のカバーガラスを $200\ \mu\text{m}$ の間隔になるよう固定し、その隙間に塩酸とアンモニア水を接触しないように配置して全体を密閉した。そして、これらの溶液の中間領域に生成した塩化アンモニウムエアロゾルを核とする微小水滴を、対物レンズで集光した $5\ \text{mW}$ のYAGレーザーでトラップし、液滴の成長過程を観察した。

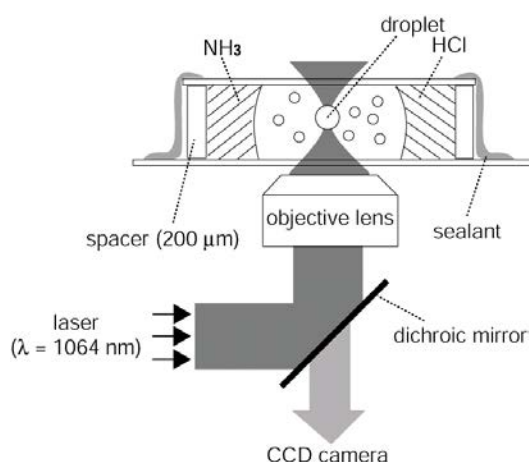


図. 実験装置の模式図

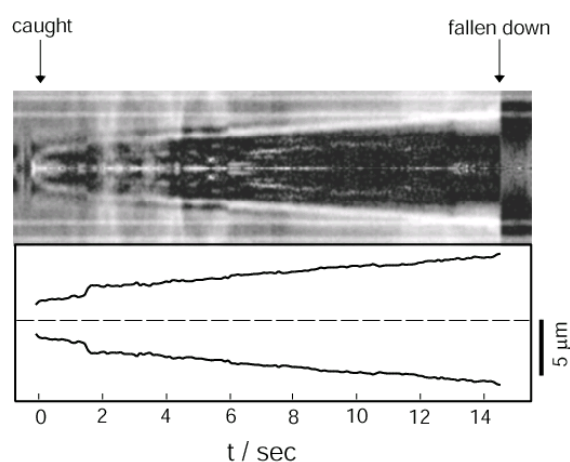


図. トラップした液滴の成長過程
(上) 顕微鏡像と、(下) 液滴サイズの
経時変化をそれぞれ示す。

結果を右図に示す。トラップした水滴サイズは時間経過に対して線形的な成長を示し、半径約 $6\ \mu\text{m}$ になった時点で落下した。過去に報告されている気相中での水滴保持に関する実験結果においては、トラップ効率は 0.05 前後である。従って、過去の研究結果と比較すると、桁大きい効率が得られたことになる。これは、集光角を大きくし、また、水滴の形成にスプレーを用いないなど、光学系や水滴の形成方法などが従来の方法と全く異なるためであると考えている。また、液滴の成長過程については、液滴表面への水蒸気の流れが一定であると仮定することで定性的な説明が可能である。

油滴の光駆動

(S. Rybalko, N. Magome, and K. Yoshikawa, *Phys. Lett. E.*, **70**, 046301 (2004).)

気水界面にレンズ状になるように静置した油滴にレーザーを照射することで、油滴が水面上で移動することを見出した。この系では、(1)mm サイズの油滴の移動が可能であること、(2)照射するレーザー強度によって、移動速度を変化させることが可能であること、(3)レーザーの照射位置によって、油滴の移動方向を自由に選択できること、などの特徴を有する。

実験には、水相として 0.5 mM の SDS 溶液を、油相としてヨウ素 5 mM のニトロベンゼン溶液 (KI 飽和) を用いた。60~80 μl の油滴を気水界面に静置し、波長 532 nm のレーザー (出力は 1W 以下とした) を水平方向から油滴に照射した。この時、レーザーを油滴下部に照射すると油滴は光線に沿って進み、レーザーを油滴上部 (油相-気体界面付近) に照射すると、これとは逆に油滴はレーザー光源に向かって戻ることが示された。従って、レーザーの照射位置を移動させることにより、油滴の移動の方向を変えることができる (図)。また、油滴の移動速度はレーザー出力に依存し、レーザー出力が大きくなるにつれて速くなることを明らかにした。

この実験条件において、ヨウ素により茶色になった油相は、波長 532 nm において比較的大きな吸収を持つため、レーザーの照射部分でのみ、油滴は加熱される。油滴内で生じる温度勾配・張力勾配などに起因するマランゴニ対流をマイクロビーズによって可視化することで、この対流が油滴の駆動力となっていることや、レーザーの照射位置を変えると内部対流の方向が反転することなどを明らかにした。これは、照射レーザーの位置が油滴上部の場合では油滴の光源側が主に加熱されるのに対し、油滴下部の場合では、レーザー光線の屈折により、加熱部位が光源の反対側になるためである。

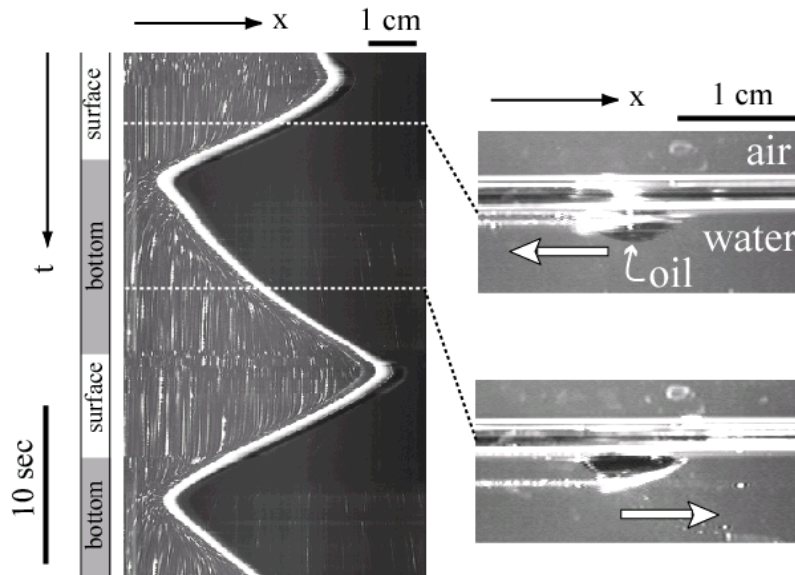


図. レーザー照射によって移動する油滴

1W のレーザーを左側から照射した時の、レーザー軸における時空間プロット(左:白い部分が油滴位置)と、実際の画像(右:白矢印は油滴が動く方向)。油滴は、レーザーの照射位置が油滴上部の時は光源に向かって戻り(右上)、下部の時は光線に沿って進む(右下)。

光学的ポテンシャル場上での揺動型ブラウンラチェットの実験

(T. Harada and K. Yoshikawa, Phys. Rev. E, **69**, 031113 (2004).)

近年、分子モーター研究の進展と相まって、ブラウンラチェットと呼ばれる一群のモデルが理論的にはよく研究されてきているが、その動作特性については平均の確率流の向きや大きさに関するものが殆どであり、揺らぎと力学的特性の関係に関してはまだ議論が不十分である。

そこで本研究では、集光レーザーを用いてブラウンラチェットを構築し、そのゆらぎの特性を実験的に調べた。その結果、非平衡定常状態におけるブラウンラチェット系の揺らぎと力学的応答の間に、熱平衡近傍における揺動散逸定理と似た正の相関関係が成立することを見いだした。

実験ではレーザー光による光学ポテンシャルの形状をデザインするために走査型光ピンセット ($\text{Nd}^{3+}:\text{YAG}$, $\lambda = 1064 \text{ nm}$) を用いた。音響光学回折器によってビームウェストを対物レンズ焦点面上で高速走査することにより、走査軌道の上に任意の分布のポテンシャル場を作ることができる。この方法を用いて非対称なノコギリ歯形周期ポテンシャル場 (周期 $2.5 \mu\text{m}$) を構成した。この光学ポテンシャル場は全体を揺らすように動かすことも可能である (図.A)。

このポテンシャル場に $\phi 200 \text{ nm}$ のポリスチレンビーズをトラップしてそのブラウン運動を解析したところ、静的なポテンシャル場上ではビーズの運動は走査軌道上で等方的であったのに対し、ポテンシャルを軌道方向に正弦波で揺らした場合にはビーズが一方向へ動く確率が増すことが分かった (図.B 挿図)。従ってこの実験系は、揺動型ブラウンラチェットを実現していると考えられる。

次にこの系においてビーズの運動の揺らぎと、外力をかけたときの応答との関係を調べた。その結果、ポテンシャルを揺らしている状態ではビーズの実効的な拡散係数が大きくなるとともに、外力に対する応答係数も増大していることが分かった。ポテンシャルを揺らす条件を変えて、各条件における拡散係数と応答係数の関係を調べたところ、両者の間に正の相関関係があることが分かった (図.B)。また Langevin 方程式を用いた数値計算によっても実験結果を再現することができた。

以上の結果から、揺動散逸定理の拡張によって定義される実効温度が、非平衡定常状態にあるブラウンラチェット系においては熱浴の温度よりも高くなっていることが示唆された。ブラウンラチェットは上に述べたように生体分子モーターのモデルとしても議論されているが、等温条件下で動作する生体の分子モーターの特性を考える上でも今回の結果は意義があると思われる。

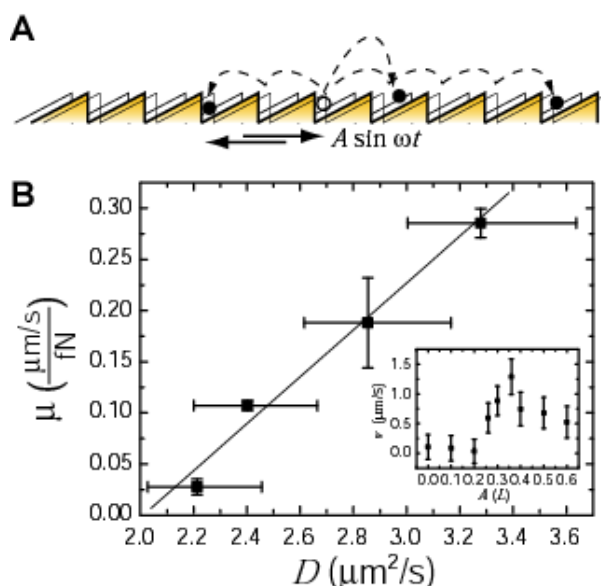


図. A. 実験系の模式図。レーザー光を走査することにより形成したノコギリ歯形ポテンシャルを揺らき、トラップされたビーズのブラウン運動を解析する。B. ラチェット系における拡散係数 (横軸) と外力に対する応答係数 (縦軸) の関係。挿図: ポテンシャルを揺らす振幅 (横軸) と、ビーズの平均速度 (縦軸) の関係。

培養細胞系におけるHes1遺伝子の周期的発現とそのメカニズム

(H. Hirata, S. Yoshiura, T. Ohtsuka, Y. Bessho, T. Harada, K. Yoshikawa and R. Kageyama, *Science*, **25**, 840-843 (2002).)

近年ニワトリやマウスなどの発生における発生・分化過程において、様々な遺伝子の発現量がリズム的に増減しており、それが体節形成のプロセスに関係していることが分かって来た (図 A)。そして最近当グループの共同研究者である京大ウイルス研の影山らはこれらの遺伝子の一つである Hes1 が培養細胞系においても2時間周期で振動的に発現していることを見いだした (図 B)。それを受けて当グループでは振動のメカニズムを理論的に考察した。Hes1 タンパクは2量体を形成して自らの転写を抑制するので *hes1* mRNA との間に負のフィードバックループを形成する。そこに何らかの形で正のフィードバック機構が入れば安定なリミットサイクル振動が維持されることをシミュレーションによって示した (図 C) が、そこに関与する物質、あるいは隠れた第3の変数を明らかにすることは今後の課題となっている。またそもそも細胞内に遺伝子は2コピーしかなく、発現の過程自体が常に激しい揺らぎにさらされている。こうした状況で安定なリズムを刻むためには、従来の遺伝子ネットワーク的な考え方を越える何らかのメカニズムが必要になるかも知れない。私たちはDNAの高次構造転移が、遺伝子発現の制御に直接関与しているとの仮説を考えている。その可否を明らかにすることは重要な研究課題である。

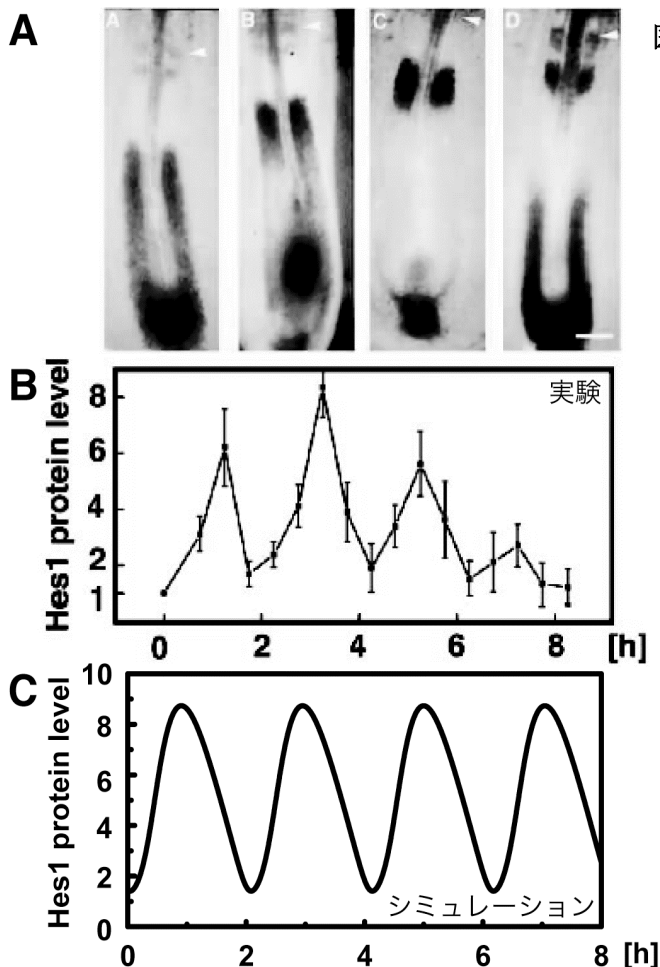


図. (A) ニワトリ胚体節形成期における *c-hairy2* mRNA 量の振動と波の伝播. *c-hairy2* の発現部位が波として伝播していくのが見られる. スケールバーは $110 \mu\text{m}$. C. Jouve, I. Palmeirim, D. Henrique, J. Beckers, A. Gossler, D. Ish-Horowicz and O. Pourquie, *Development*, **127**, 1421 (2000) より許可を得て転載. (B) 培養細胞系における Hes1 タンパクの発現振動. 2時間周期の振動がみられる. (C) Hes1 発現振動モデルのシミュレーション. 実験で見られた発現振動は Hes1 のフィードバックループを考慮した簡単なモデルによって再現できる.

自発的に走り回る液滴—化学—機械エネルギー変換

(Y. Sumino, N. Magome, T. Hamada, and K. Yoshikawa, *Phys. Rev. Lett.*, in press.)

生命体は等温系において、力学的エネルギーを化学エネルギーから直接取り出しているが、その詳細な機構は依然として未解明である。この問題に対して、実空間上でのモデル系を構築し、解析を行うことが生命でのエネルギー変換を理解する上で有効な手段である。我々は実空間上でのケモメカニカル変換系として油水界面張力の自発的振動とそれ

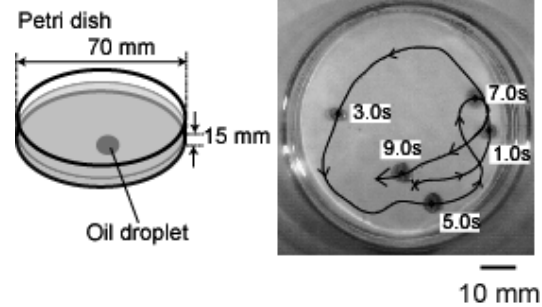
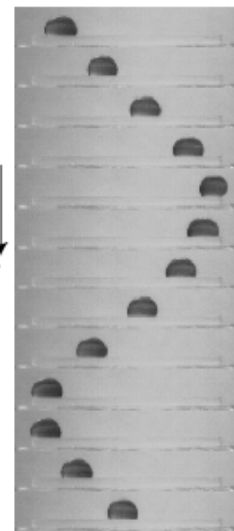
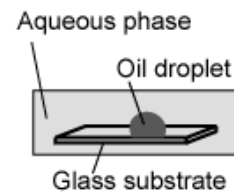


図 1：油滴のランダムな運動。

に伴う界面の運動に注目した。以前の研究においては、マランゴニ対流と呼ばれるバルク中の流れ及びそれに付随した界面の運動に焦点を絞ったものが多く、界面運動に対する境界条件の幾何学的影響などはあまり考慮されていなかった。本研究においては、界面の運動に対する寄与を体積効果に比べ大きくするため、油相のサイズを mm サイズの液滴とし観察を行った。これにより、油滴周辺の幾何学的形状を変化させることで、様々な運動モードが現れることが実験的に見出された。また、特にランダムな運動(図 1)から運動の実効的な自由度を落とすことで周期的な運動が現れることを明らかにした(図 2)。また、リング状の基板では油滴の宙返り運動(図 3)、階段状の基板で油滴が自発的に駆け上ることも示した。さらに、ランダムな運動から秩序ある運動を取り出す機構に関して議論した。



(1/6 sec per frame)

図 2：油滴の往復運動。

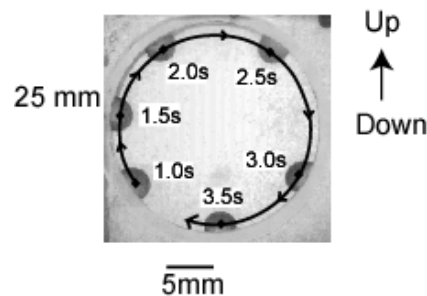


図 3：油滴の宙返り運動。

化学的振動反応に伴う液滴の動き

(H. Kitahata, R. Aihara, N. Magome and K. Yoshikawa, *J. Chem. Phys.*, **116**, 5666-5672 (2002).)

当研究グループでは、化学的振動反応として知られている BZ 反応系において、用いる鉄触媒の価数変化 ($\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$) に対応して表面張力が振動することを過去に明らかにしている。今回は、この現象を利用し、局所的な界面張力変化に伴ってマランゴニ対流が生じること、ならびに、BZ 反応水溶液をオレイン酸に浮かべ、化学反応によって誘起された対流によって水滴がオレイン酸上を動くことを、実験・理論両面から示した。この現象は、等温系で化学エネルギーから運動を生み出すモデル系として興味深く、スケールを小さくした点が本質的に効いていると考えられる。

まず、化学波が引き起こすマランゴニ対流についての実験を行った。2枚のガラス板をスペーサーを挟んで固定し、その隙間に水相として BZ 反応溶液と、油相としてオレイン酸を、双方が接触するように流し込んだ。界面付近を顕微鏡で観察したところ、化学波が界面に接する部分に向かって対流が生じていることが観察された(左図)。一方、油相に反応の阻害剤であるヨウ素を添加した系においては、化学波が界面まで到達せず、この場合には対流が生じない。従って、化学波が界面と接している領域(鉄が三価の状態)においては、他の部分(鉄が二価の状態)と比較して界面張力が大きく、この局所的な張力差で対流が生じていると結論付けられる。

次に、この対流現象を用いて、BZ 反応液滴が振動反応に同期して油相表面上を移動する系を構築した。オレイン酸に 1 μl の BZ 反応溶液を浮かべて観察したところ、液滴内部で発生した化学波が界面に到達した時に液滴が動き出すことや、動きの方向が化学波の位置によって変化することを明らかにした。

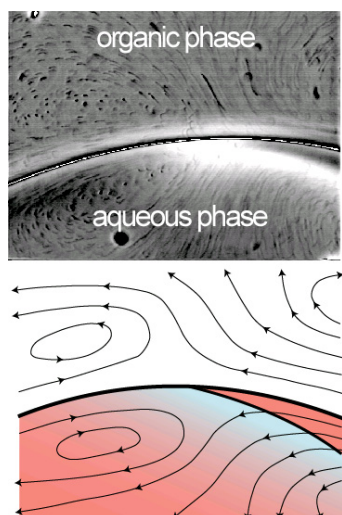


図. BZ 反応に起因する対流現象
(上) 実験結果と、(下) その模式図

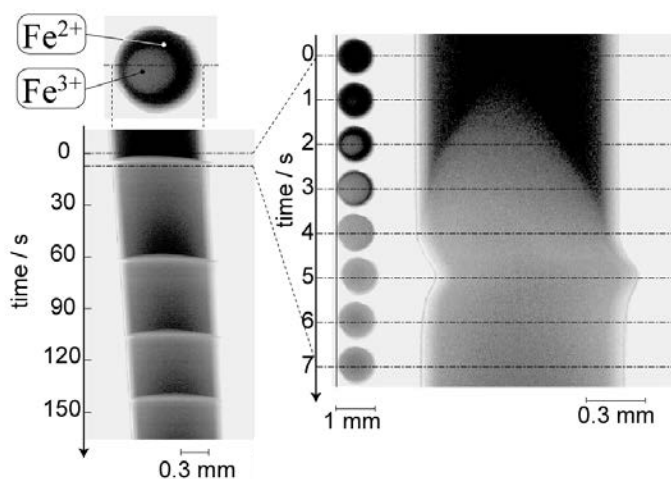


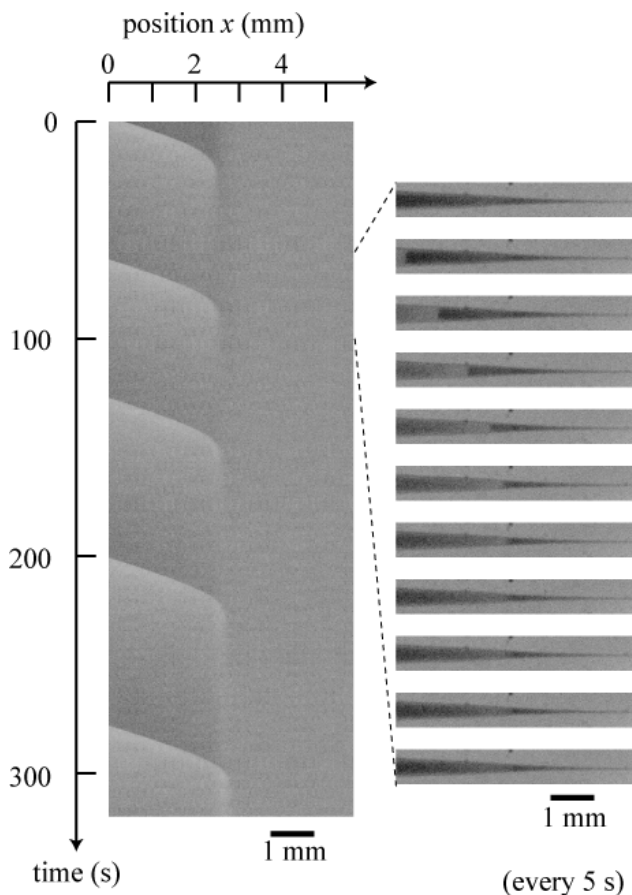
図. BZ 反応液滴の自発的運動

反応場形状による化学波の伝播速度変化・消滅

(H. Kitahata, R. Aihara, Y. Mori, and K. Yoshikawa,
J. Phys. Chem. B, **108**, 18956-18959 (2004).)

反応拡散系は、非平衡状態を陽に記述することができるため、生命現象等、非平衡開放系における時空間パターン形成のモデルとしてよく用いられている。しかし、これまでは、境界条件やスケールの効果はほとんど考慮に入れられずにパターン形成が議論されることが多かった。系のサイズが十分に大きいときには、境界の効果は重要ではないが、系のサイズが小さくなってくると、境界の効果を考えることが必要となる。例えば、生命現象を反応拡散系の視点から捉えるとき、細胞サイズの現象では境界が時空間パターンに決定的な影響を与えることが期待される。

今回、反応拡散系のモデル実験系としてよく用いられるBelousov-Zhabotinsky (BZ) 反応を徐々に細くなるガラスキャピラリ中で行い、化学波の挙動の変化を調べた。その結果、ある内径以上であれば、化学波の伝播挙動に変化は見られないが、ある内径よりも細くなると化学波の伝播速度が遅くなり、更に細いところでは化学波は伝播しなくなることを見出した。(図参照) この現象は、ガラス表面近傍における反応の効果を取り入れたモデルにより理解できる。



図：ガラスキャピラリ内での化学波の伝播の様子。

興奮場上での方位検出回路：同期性を用いた“場の演算”

(H. Nagahara, T. Ichino, and K. Yoshikawa, *Phys. Rev. E* **70**, 036221 (2004).)

生物は中央演算装置やクロックなしに様々な情報処理を行っている。また、神経線維を伝わる信号の同期性検出は、聴覚機能における音源定位などの様々の神経機能の基本部分に見られ、最近の研究で、この同期性検出回路が興奮場上で実現可能であることが数値シミュレーションおよび光感受性 BZ 反応を用いた実験で示されている^{1,2}。今回、このような同期性検出回路を拡張し、波の波源の方位を特定する装置を構築することが可能であることを見出した。今回提案する、同期性検出回路を用いた方位検出装置の概略図及び数値シミュレーションの結果をそれぞれ図 1 に実験装置図を図 2 に、光感受性 BZ 反応を用いた実験結果を図 3 に示す。

本研究の成果は、現状のノイマン型コンピュータにおいて、実時間情報処理を行う際に現れる深刻なボトルネックをさけることにより、現在のコンピュータの更なる発展へ寄与すると期待される。

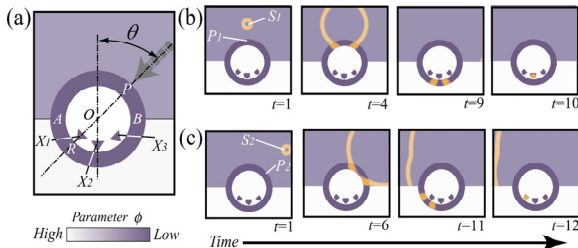


図 1：方位検出回路の数値シミュレーション結果。(a) 方位検出回路の概略図。角度 θ で点Pから入射した波は、黒色のリング上を2つに分かれて伝播し、Pの対称点Qで互いに衝突し、点Qのギャップを通して出力部 X_5 のいずれかに伝播する。どの出力部に波が伝わるかで波源の方位を特定できる。(b) S_1 から伝播してきた興奮波は P_1 から円環状の興奮場に入力され、左右に分かれ伝播し、 R_1 で二つの興奮波が衝突する。その結果、興奮波は検出部 X_2 へと伝播し、その方位を検出できる。(c) S_2 という方位から伝播してきた興奮波は、 P_2 で円環状の興奮場に入力され、左右に分かれて伝播していく。そして、 R_2 で二つの興奮波が衝突し、検出部 X_1 へ興奮波が伝播し、その方位を検出できる。

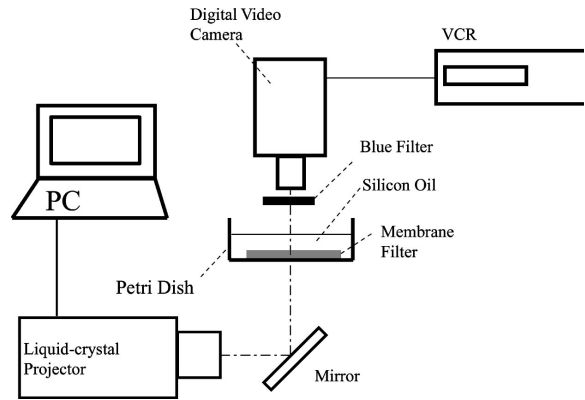


図 2：実験装置図

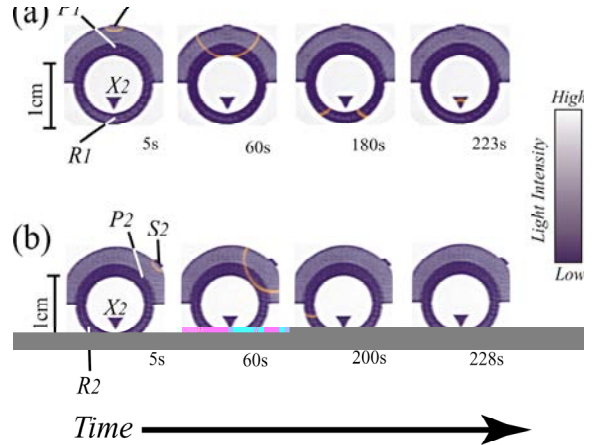


図 3：方位検出回路の実験結果。(a) S_1 から伝播してきた化学波は P_1 から円環状の反応場に入力され、左右に分かれ伝播し、 R_1 で二つの化学波が衝突する。その結果、化学波は X_2 へと伝播し、方位を検出できる。(b) S_2 という方位から伝播してきた化学波は、 P_2 で円環状の反応場に入力され、左右に分かれて伝播していく。そして、 R_2 で二つの化学波が衝突するが、検出部 X_2 へは化学波が伝わらず、 X_2 で検出する方位でないことがわかる。

単一回路で異なる演算：興奮場による“場の演算”

(T. Ichino, Y. Igarashi, I. N. Motoike, and K. Yoshikawa,
J. Chem. Phys. **118**, 8185-8190 (2003).)

神経軸策を伝播する興奮波は反応拡散方程式を用いて記述できることが知られている。軸策という興奮波が伝播する場の幾何学的な形状や配置に着目し、時間情報処理を行うことを見いだした。本研究では、実験系として神経細胞を用いるのではなく、より扱いやすい化学振動反応であり、かつ光感受性を有するBelousov-Zhabotinsky (BZ) 反応を用いた。次のような結果を得た。

- ・興奮場の形状により、化学波伝播の一方向特性が得られることを示した。
- ・二つの化学波がちょうど衝突する部分に、出力が得られるようにすることにより、論理積回路を作ることができる。
- ・論理積回路を拡張して、出力先を多数作ることにより、化学波入力的时间差を検出する回路を作成できる。図1には、時間差検出回路の概略図を示す。図2には、概略図に基づく、3つの場合の時間差を検出する時間差検出回路の結果をスナップショットで示した。二つの入力の時間差がないときには、図2(b)となる。図2(a)では、右側の入力が高い場合、図2(c)では、左の入力が高い場合の結果を示している。
- ・外部環境である光強度を変更することにより、化学波の一方向伝播が得られる回路と同一回路において、双方向伝播、伝播しないという結果が得られる。このことは、外部環境に依存して、同一回路上で異なる演算を行うことが可能であることを意味する。

本研究成果は、実際の生物の情報処理機構を探る上で、基本的な知見になるものと期待される。

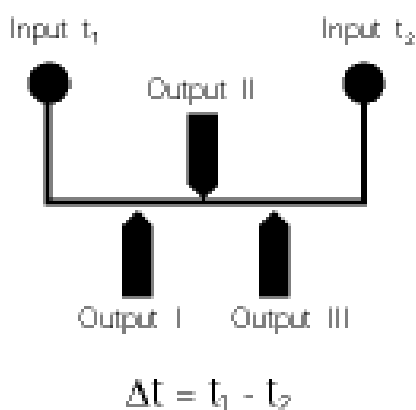


図1：時間差検出回路の概略図

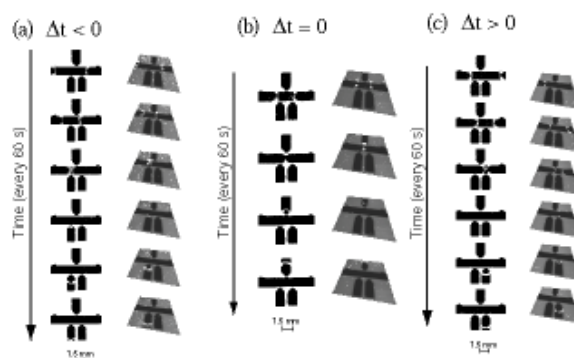
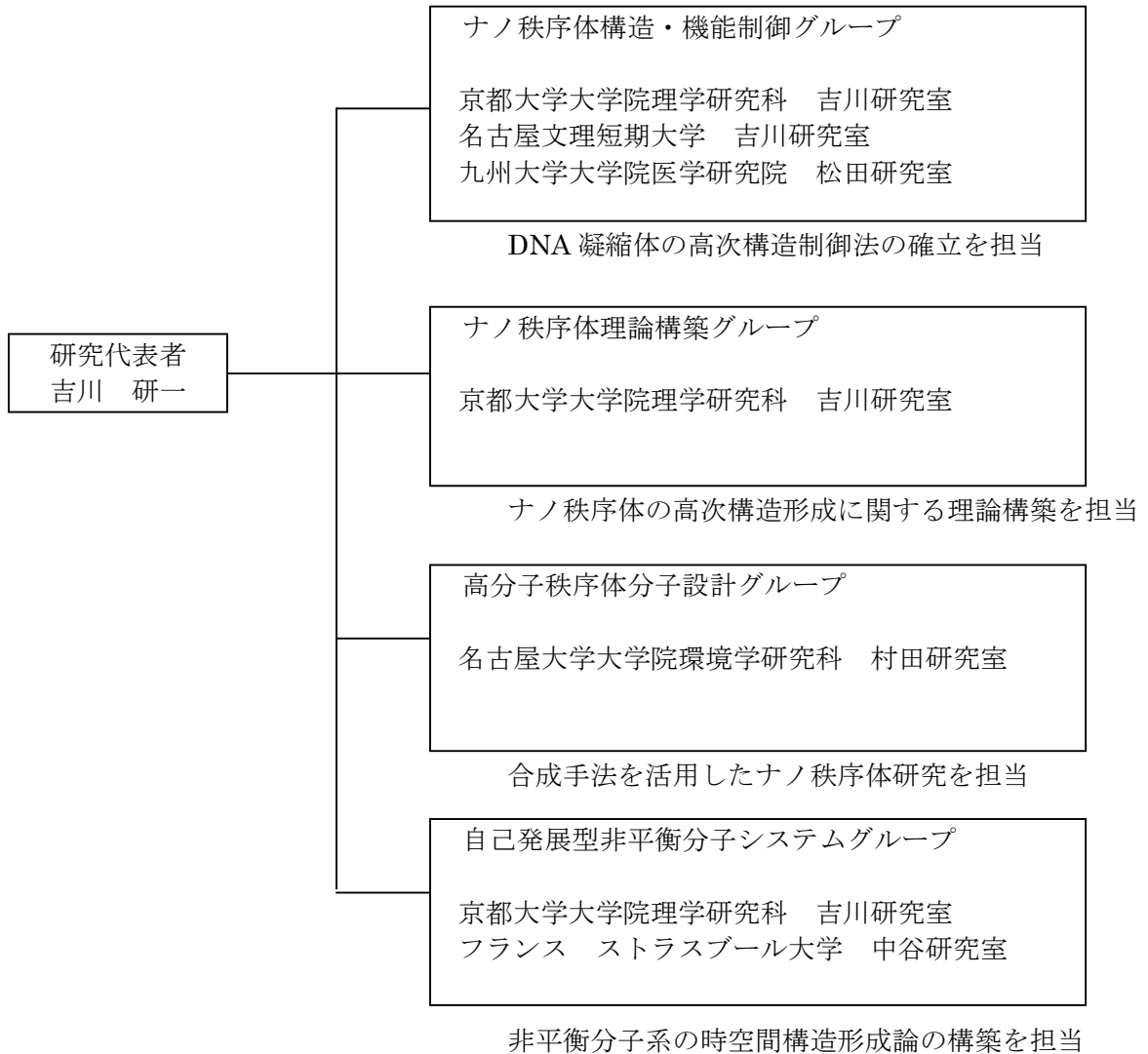


図2：時間差検出回路：実験結果のスナップショット
 (a) $t < 0$ 、(b) $t = 0$ 、(c) $t > 0$

4. 研究実施体制

(1) 体制



(2)メンバー表

① ナノ秩序体構造・機能制御グループ

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
瀬戸 秀紀	京大・理	助教授	ナノ秩序体構造・機能制御	平成14年11月～平成17年3月
眞山 博幸	派遣先	CREST研究員	ナノ秩序体構造・機能制御	平成11年11月～平成15年3月
牧田 直子	派遣先	CREST研究員	ナノ秩序体構造・機能制御	平成11年11月～平成15年3月
市場 勇太	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成11年11月～平成12年3月
岩瀧 敏男	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成11年11月～平成13年3月
湊元 幹太	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成11年11月～平成14年11月
齋藤 拓也	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成14年4月～平成17年3月
中井 唱	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成14年4月～平成17年3月
義永那津人	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成14年4月～平成17年3月
渡邊 俊	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成14年4月～平成17年3月
F. Luckel	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成14年4月～平成17年3月
山田 彩子	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成15年4月～平成17年3月
山田 悟史	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成16年4月～平成17年3月
菱田 真史	京大・理	大学院生	ナノ秩序体構造・機能制御	平成16年4月～平成17年3月
吉川 祐子	名古屋文理大	教授	ナノ秩序体構造・機能制御	平成12年4月～平成17年3月
馬籠 信之	名古屋文理大	講師	ナノ秩序体構造・機能制御	平成12年1月～平成17年3月
木戸秋 悟	九大・医	助教授	ナノ秩序体構造・機能制御	平成12年4月～平成17年3月
松田 武久	九大・医	教授	ナノ秩序体構造・機能制御	平成13年4月～平成17年3月

② ナノ秩序体理論構築グループ

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
小穴 英廣	京大・理	助手	ナノ秩序体理論構築	平成11年11月～ 平成15年3月
北畑 裕之	京大・理	助手	ナノ秩序体理論構築	平成13年4月～ 平成17年3月
坂上 貴洋	京大・理	博士研究員	ナノ秩序体理論構築	平成12年4月～ 平成17年3月
L. Zherenkova	日本学術振興会	特別研究員	ナノ秩序体理論構築	平成12年4月～ 平成14年3月
Y. Velichko	日本学術振興会	特別研究員	ナノ秩序体理論構築	平成11年11月～ 平成13年3月
N. Neshkov	京大・理	研究員	ナノ秩序体理論構築	平成14年11月～ 平成15年9月
高木 清二	京大・理	研究員	ナノ秩序体理論構築	平成11年11月～ 平成12年11月
野口 博司	京大・理	研究員	ナノ秩序体理論構築	平成11年11月～ 平成12年3月
I. Rychkov	京大・理	大学院生	ナノ秩序体理論構築	平成12年4月～ 平成15年3月
岩城 貴史	京大・理	大学院生	ナノ秩序体理論構築	平成12年4月～ 平成17年3月
石井 政行	京大・理	大学院生	ナノ秩序体理論構築	平成12年4月～ 平成14年3月
小河原達也	京大・理	大学院生	ナノ秩序体理論構築	平成13年4月～ 平成17年3月
小島 正寛	京大・理	大学院生	ナノ秩序体理論構築	平成15年4月～ 平成17年3月
佐伯 大輔	京大・理	大学院生	ナノ秩序体理論構築	平成15年4月～ 平成17年3月
磯村 彰宏	京大・理	大学院生	ナノ秩序体理論構築	平成15年4月～ 平成17年3月
武仲 能子	京大・理	大学院生	ナノ秩序体理論構築	平成16年4月～ 平成17年3月
長谷 政彦	京大・理	大学院生	ナノ秩序体理論構築	平成16年4月～ 平成17年3月
永井 健	京大・理	大学院生	ナノ秩序体理論構築	平成16年4月～ 平成17年3月

③ 高分子秩序体分子設計グループ

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
村田 静昭	名大・環境	教授	ナノ秩序体の合成	平成11年11月～ 平成17年3月
松田 勇	名大・工	助教授	ナノ秩序体の合成	平成11年11月～ 平成14年3月
岩松 将一	名大・環境	助手	ナノ秩序体の合成	平成12年4月～ 平成17年3月
伊藤 倫子	派遣先	CREST 研究員	ナノ秩序体の合成	平成13年4月～ 平成17年3月
坂倉 彰	派遣先	CREST 研究員	ナノ秩序体の合成	平成12年7月～ 平成13年3月
梶原 鳴雪	派遣先	研究補助員	ナノ秩序体の合成	平成11年11月～ 平成14年3月
峰尾由利子	派遣先	研究補助員	ナノ秩序体の合成	平成14年6月～ 平成17年3月
S. Mikhailenko	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成11年11月～ 平成14年3月
井上 浩文	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成11年11月～ 平成14年3月
小松 伸吾	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成11年11月～ 平成14年3月
池本 和久	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成12年4月～ 平成14年3月
Vijayalakshmi K. Periya	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成12年4月～ 平成17年3月
陳 寧	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成12年4月～ 平成17年3月
工藤 和生	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成12年4月～ 平成14年3月
小池 印南	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成12年4月～ 平成15年3月
村岡 貴子	名大・工	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成12年4月～ 平成14年3月
福田 正行	名大・工	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成12年4月～ 平成14年3月
宮沢 直美	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成13年4月～ 平成15年3月
小野 史彰	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成13年4月～ 平成16年10月
山田 ゆり	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成14年4月～ 平成16年3月

横井 智和	名大・環境	大学院生	ナノ秩序体の合成	平成14年4月～ 平成16年3月
稲垣 智之	名大・環境	学生	ナノ秩序体の合成	平成16年4月～ 平成17年3月
桑山 利毅	名大・環境	学生	ナノ秩序体の合成	平成16年4月～ 平成17年3月
竹中 健朗	名大・環境	学生	ナノ秩序体の合成	平成16年4月～ 平成17年3月

④ 自己発展型非平衡分子システムグループ

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
吉川 研一	京大・理	教授	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成11年12月～平成17年3月
秋田谷 龍男	派遣先	CREST 研究員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成12年4月～平成16年3月
久保 康児	派遣先	CREST 研究員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成14年4月～平成17年3月
佐藤 祐子	派遣先	CREST 研究員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成13年4月～平成17年3月
小野 直亮	派遣先	CREST 研究員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成13年8月～平成14年4月
元池 育子	日本学術振興会	特別研究員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成11年4月～平成14年3月
小平 將裕	京大・理	研究員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成11年11月～平成15年3月
一野 天利	京大・VBL	博士研究員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成11年11月～平成17年3月
A. Zinchenko	京大・理	博士研究員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成12年4月～平成17年3月
S. Rebalko	京大・理	博士研究員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成16年4月～平成17年3月
D. Baigl	京大・理	博士研究員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成16年4月～平成17年3月
眞山 好美	派遣先	研究補助員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成11年11月～平成15年4月
川上 智子	派遣先	研究補助員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成15年4月～平成17年3月
西村 磨美	派遣先	研究補助員	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成15年11月～平成16年7月
相原 良一	京大・理	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成11年11月～平成13年3月
野村慎一郎	京大・理	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成11年11月～平成14年3月
市川 正敏	京大・理	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成12年4月～平成17年3月
安田 恵	京大・理	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成12年4月～平成14年3月
原田 崇広	京大・理	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成13年4月～平成17年3月
濱田 勉	京大・理	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成13年4月～平成17年3月

遠山 浩史	京大・理	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成15年4月～平成17年3月
住野 豊	京大・理	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成16年4月～平成17年3月
荒木須美子	京大・理	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成16年4月～平成17年3月
中谷 陽一	ストラスブール大	教授	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成15年4月～平成17年3月
S. Stephane	ストラスブール大	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成15年4月～平成17年3月
R. Nigel	ストラスブール大	学生	非平衡分子系の時空間構造形成論の構築	平成15年4月～平成17年3月

5. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2000年5月26日・27日	合同ワークショップ	プラムイン城陽 (京都府城陽市)	38名	研究チーム内の情報交換および交流
2000年1月9日・10日	CREST 合同会議	キャンパスプラザ京都 (京都市下京区)	63名	共同研究者たちとの情報交換および今後の研究打ち合わせ
2001年2月8日	日仏合同シンポジウム “Novel approach to <i>de novo</i> Cells”	芝蘭会館 (京都市左京区)	50名	自己発展する細胞モデルに関する国際シンポジウム
2001年7月30日～8月3日	4th International Conference on Biological Physics (ICBP2001)	京都国際会館 (京都市北区)	約800名	副組織委員長である吉川が”Nonlinear nonequilibrium physics in living matter”の特別セッションを主催した。
2002年10月29日	シンポジウム 「生体の時間秩序 発現機構」	京都大学	約50名	招待講演を行う。
2002年11月3日	第40回生物物理学会年会 「生体におけるエネルギー流と時間秩序 - Soft non-equilibrium thermodynamics-」	名古屋大学	約150名	招待講演を行う。
2003年12月6・7日	第13回「非線形反応と協同現象」研究会	京都大学理学部	約150名	招待講演およびポスター講演を行う。
2004年3月8～10日	国際会議 International Workshop on Dynamics of Complex Fluids	京都大学基礎物理学研究所	約100名	招待講演およびポスター講演を行う。
2004年11月25～28日	国際会議 International Symposium on Oscillation, Chaos and Network Dynamics in Nonlinear Science	京都大学	約150名	招待講演およびポスター講演を行う。

(2) 招聘した研究者等

氏名(所属、役職)	招聘の目的	滞在先	滞在期間
陳曉南 (Sichuan Univ., 講師)	化学反応の非線形ネットワークの時空間構造に関する研究	京都大学 吉川研究室	平成11年12月1日～平成12年3月31日
Milos Marek (Prague Univ., 教授)	非線形化学反応系の時空間制御法の開発についての情報交換	京都大学 吉川研究室	平成12年3月20日～3月21日
中谷陽一 (Univ. Louis Pasteur, 教授)	人工細胞系の構築に関する共同研究実施	京都大学 吉川研究室	平成12年3月20日～3月23日
Guy Dewel (Univ. Libre de Bruxelles, 教授)	非線形ダイナミクスを活用した高分子時空材料創出のための情報交換	京都大学 吉川研究室	平成12年3月21日～3月23日
Jergy Gorecki (Polish Academy of Sciences, 主任研究員)	非平衡条件下での分子動力学計算に関しての情報交換	京都大学 吉川研究室	平成12年3月21日～3月28日
Peter Wassereseid (Technische Hochschule Aachen, 助教授)	イオン性溶媒に関する共同研究	名古屋大学村田研究室／京都大学吉川研究室	平成12年6月17日～6月22日
Abramchuk Sergei (Russian Academy of Sciences, 研究員)	DNA高次構造に関する共同研究	京都大学 吉川研究室	平成12年6月24日～7月23日
Nicholas G. Rambidi (Intl. Research Inst. For Management Sci., 教授)	化学反応のモデル系とナノ秩序体の実験に関する情報交換	京都大学 吉川研究室	平成12年8月20日～8月27日
Sergey Starodoubtsev (Moscow State Univ., 助教授)	DNA分子の高分子ゲル表面と相互作用に起因する高次構造変化に関する情報交換	京都大学 吉川研究室	平成12年10月19日～11月18日
中谷陽一 (Univ. Louis Pasteur, 教授)	日仏プレシンポジウム講演	京都大学 吉川研究室	平成13年2月7日～2月17日
George Th. Guria (National Scientific Centre for Haematology, 助教授)	血液凝固時のパターン形成など、生体関連の非線形現象の統計研究についての情報交換	京都大学 吉川研究室	平成13年5月8日～5月20日

Krinsky Valentin (Institut Non-Lineaire de Nice, 教授)	神経系を含む細胞集合体における興奮場の数理モデルおよびその形成機構についての情報交換	京都大学 吉川研究室	平成13年7月27日～7月29日
Victor Bloomfield (Univ. Minnesota, 教授)	DNAの相転移理論についての情報交換および議論	京都大学 吉川研究室	平成14年1月6日～1月13日
Malek Khan (Univ. Lund, 研究員)	DNAの折り畳み転移とナノ構造に関する情報交換	京都大学 吉川研究室	平成14年1月10日～1月18日
Jergy Gorecki (Polish Academy of Sciences, 主任研究員)	非平衡条件下での分子動力学計算に関する情報交換・共同研究	京都大学 吉川研究室	平成14年3月4日～3月31日
Olga Pyshkina (Moscow State Univ., 研究員)	DNAと金属の複合体に関する実験および共同研究	京都大学 吉川研究室	平成14年4月1日～4月30日
Anna Ryabova (Moscow State Univ., 研究員)	DNA やゲル系などの共同研究に伴う、無機のマイクロ粒子とDNA複合体についての共同実験	京都大学 吉川研究室	平成14年9月2日～11月3日
Birgit Driessen-Hoelscher (Technische Hochschule Aachen, 講師)	不斉錯体を水溶液中で用いる反応に関する情報交換および共同研究	名古屋大学村田研究室／京都大学吉川研究室	平成14年11月6日～11月15日
Jerzy Gorecki (Polish Academy of Sciences, 主任研究員)	非線形化学反応を用いた常温での物質輸送や共同期型演算システムについての共同研究	京都大学 吉川研究室	平成15年3月3日～3月27日
Lubov Vitalievna Zherenkova (Tver State University, 助教授)	単一長鎖DNA分子の不連続構造転移を含む荷電高分子鎖の構造転移の理論的解明のための共同研究	京都大学 吉川研究室	平成16年2月10日～3月17日

6. 主な研究成果物、発表等

(1)論文発表 (国内 2 2 件、海外 1 1 1 件)

原著論文

- (1) H. Mayama and K. Yoshikawa, "Thermodynamics in Folding Transition of DNA", *Macromol. Symp.*, **160**, 55-60 (2000).
- (2) V. A. Kabanov, V. G. Sergeev, O. A. Pyshkina, A. A. Zinchenko, A. B. Zezin, J. G. H. Joosten, J. Brackman and K. Yoshikawa, "Interpolyelectrolyte Complexes Formed by DNA and Astramol Poly(propylene imine) Dendrimers", *Macromol.*, **33**, 9587-9593 (2000).
- (3) K. Kato, Y. Kato, K. Takamatsu, T. Udaka, T. Nakahara, Y. Matsuura and K. Yoshikawa, "Toward the Realization of an Intelligent Gas Sensing System Utilizing a Non-Linear Dynamic Response", *Sens. Act. B*, **71**, 192-196 (2000).
- (4) S. V. Mikhailenko, V. G. Sergeev, A. A. Zinchenko, M. O. Gallyamov, I. V. Yaminsky and K. Yoshikawa, "Interplay Between Folding/Unfolding and Helix/Coil Transitions in Giant DNA", *Biomacromol.*, **1**, 597-603 (2000).
- (5) H. Mayama, S. M. Nomura, H. Oana, and K. Yoshikawa, "Self-Oscillating Polymer Chain", *Chem. Phys. Lett.*, **330**, 361-367 (2000).
- (6) V. V. Vasilevskaya, A. R. Khokhlov and K. Yoshikawa, "Single Polyelectrolyte Macromolecule in the Salt Solution : Effect of Escaped Counter Ions", *Macromol. Theory Simul.*, **9**, 600-607 (2000).
- (7) Y. Yoshikawa, S. M. Nomura, T. Kanbe and K. Yoshikawa, "Controlling the Folding/Unfolding Transition of the DNA-Histone H1 Complex by Direct Optical Manipulation", *Chem. Phys. Lett.*, **330**, 77-82 (2000).
- (8) T. Iwataki, K. Yoshikawa, S. Kidoaki, D. Umeno, M. Kiji and M. Maeda, "Cooperativity vs. Phase Transition in a Giant Single DNA Molecule", *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 9891-9896 (2000).
- (9) Y. S. Velichko, K. Yoshikawa and A. R. Khokhlov, "Surface-Induced DNA Superhelicity", *Biomacromol.*, **1**, 459-465 (2000).
- (10) H. Noguchi and K. Yoshikawa, "Folding Path in a Semiflexible Homopolymer Chain: A Brownian Dynamics Simulation", *J. Chem. Phys.*, **113**, 854-862 (2000).
- (11) K. Agladze, A. Toth, T. Ichino and K. Yoshikawa, "Propagation of Chemical Waves at the Boundary of Excitable and Inhibitory Fields", *J. Phys. Chem. A*, **104**, 6677-6680 (2000).
- (12) E. Y. Kramarenko, A. Khokhlov and K. Yoshikawa, "A Three-State Model for Counterions in a Dilute Solution of Weakly Charged Polyelectrolytes", *Macromol. Theory Simul.*, **9**, 249-256 (2000).
- (13) Y. Matsuzawa, Y. Koyama, K. Hirano, T. Kanbe, S. Katsura, A. Mizuno and K. Yoshikawa, "Visualization and Optical Trapping of an Individual Submicrometer-Sized Assembly in Aqueous Solution: Aminated Polyethylene Glycol (PEG-A) Complexed with Palmitic Acid and DNA in Poly(ethylene glycol) (PEG) Solution", *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 2200-2205 (2000).
- (14) S. Nakata, T. Nakamura, K. Kato, Y. Kato and K. Yoshikawa, "Discrimination and Quantification of Flammable Gases with a SnO₂ Sniffing Sensor", *Analyst*, **125**, 517-522 (2000).
- (15) M. Okamura and K. Yoshikawa, "Rhythm in a Saline Oscillator", *Phys. Rev. E*, **61**, 2445-2452

(2000).

(16) H. Mayama, T. Iwataki and K. Yoshikawa, "Thermodynamics in the Folding Phase-Transition of Single T4DNA Molecules in Poly(ethylene glycol) Solution", *Chem. Phys. Lett.*, **318**, 113-117 (2000).

(17) H. Inoue, H. Yamaguchi, T. Suzuki, T. Akasaka, and S. Murata, "A Novel and Practical Synthesis of Alkoxy-carbonyl-Substituted Bis(fulleroid).", *Synlett*, **2000**, 1178-1180 (2000).

(18) K. Yoshikawa, "Controlling the Higher-Order Structure of Giant DNA Molecules", *Adv. Dru. Del. Rev.* **52**, 235-244 (2001).

(19) H. Mayama and K. Yoshikawa, "Self-Oscillating Polymer Chain in a Laser Field", *Faraday Discuss.*, **120**, 67-84 (2001).

(20) M. Ichikawa and K. Yoshikawa, "Optical Transport of a Single Cell-Sized Liposome", *Appl. Phys. Lett.*, **79**, 4598-4600 (2001).

(21) K. Tsumoto, S. M. Nomura, Y. Nakatani and K. Yoshikawa, "Giant Liposome as a Biochemical Reactor: Transcription of DNA and Transportation by Laser Tweezers", *Langmuir*, **17**, 7225-7228 (2001).

(22) T. Akitaya, N. Magome, S. M. Nomura, H. Mayama and K. Yoshikawa, "Sustained Rhythm and Directed Self-Loocomotion under Thermodynamically Open System", *Int. J. Chaos Theo. Appl.*, **6**, 19-28 (2001).

(23) A. Toth, D. Horvath and K. Yoshikawa, "Unidirectional Wave Propagation in One Spatial Dimension", *Chem. Phys. Lett.*, **345**, 471-474 (2001).

(24) R. Aihara and K. Yoshikawa, "Size-Dependent Switching of the Spatiotemporal Structure Between a Traveling Wave and Global Rhythm" *J. Phys. Chem. A*, **105**, 8445-8448 (2001).

(25) T. Sakaue, K. Yoshikawa, S. H. Yoshimura and K. Takeyasu, "Histone Core Slips along DNA and Prefers Positioning at the Chain End", *Phys. Rev. Lett.*, **87**, 078105 (2001).

(26) N. Yoshinaga, T. Akitaya and K. Yoshikawa, "Intercalating Fluorescence Dye YOYO-1 Prevents the Folding Transition in Giant Duplex DNA", *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **286**, 264-267 (2001).

(27) S. S. Abramchuk, A. R. Khokhlov, T. Iwataki, H. Oana and K. Yoshikawa, "Direct Observation of DNA Molecules in a Convection Flow of a Drying Droplet", *Europhys. Lett.*, **55**, 294-300 (2001).

(28) Y. Yamasaki, Y. Teramoto and K. Yoshikawa, "Disappearance of the Negative Charge in Giant DNA with a Folding Transition", *Biophys. J.*, **80**, 2823-2832 (2001).

(29) Y. Yoshikawa, Y. S. Velichko, Y. Ichiba and K. Yoshikawa, "Self-Assembled Pearling Structure of Long Duplex DNA with Histone H1", *Eur. J. Biochem.*, **268**, 2593-2599 (2001).

(30) S. M. Nomura, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, O. Dannenmuller, S. Chasserot-Golaz, G. Ourisson and Y. Nakatani, "Towards Proto-Cells: Primitive Lipid Vesicles Encapsulating Giant DNA and Its Histone Complex", *ChemBioChem*, **6**, 457-459 (2001).

(31) S. Takagi, K. Tsumoto and K. Yoshikawa, "Intra-Molecular Phase Segregation in a Single Polyelectrolyte Chain", *J. Chem. Phys.*, **114**, 6942-6949 (2001).

(32) I. N. Motoike, K. Yoshikawa, Y. Iguchi and S. Nakata, "Real-Time Memory on an Excitable Field", *Phys. Rev. E*, **63**, 036220 (2001).

- (33) T. Sugimoto, K. Ikemoto, S. Murata, M. Tazawa, T. Nomura, Y. Hagino, H. Ichinose, and T. Nagatsu "Identification of (6*R*)-5,6,7,8-Tetrahydro-D-monapterin (=6*R*)-2-Amino-5,6,7,8-tetrahydro-6-[(1*R*,2*R*)-1,2,3-trihydroxypropyl]-pteridine-4(3*H*) -one) as the Native Pteridine in *Tetrahymena pyriformis*.", *Helv. Chim. Acta*, **84**, 918-927 (2001).
- (34) H. Inoue, H. Yamaguchi, S. Iwamatsu, T. Uozaki, T. Suzuki, T. Akasaka, S. Nagase, and S. Murata "Photooxygenative Partial Ring Cleavage of Bis(fulleroid):Synthesis of a Novel Fullerene Derivative with 12-Membered Ring.", *Tetrahedron Lett.*, **42**, 895-897 (2001).
- (35) H. Oana, K. Tsumoto, Y. Yoshikawa and K. Yoshikawa, "Folding Transition of Large DNA Completely Inhibits the Action of a Restriction Endonuclease as Revealed by Single-Chain Observation", *FEBS Lett.*, **530**, 143-146 (2002).
- (36) T. Harada and K. Yoshikawa, "Mode Switching of an Optical Motor", *Appl. Phys. Lett.*, **81**, 4850-4852 (2002).
- (37) Y. S. Velichko, I. V. Rychkov and K. Yoshikawa, "Folding Transition and Conformational Behavior of DNA", *Recent Res. Devel. Phys. Chem.*, **6**, 425-435 (2002).
- (38) H. Hirata, S. Yoshiura, T. Ohtsuka, Y. Bessho, T. Harada, K. Yoshikawa and R. Kageyama, "Oscillatory Expression of the bHLH Factor Hes1 Regulated by a Negative Feedback Loop", *Science*, **25**, 840-843 (2002).
- (39) N. Makita and K. Yoshikawa, "Proton Concentration (pH) Switches the Higher-Order Structure of DNA in the Presence of Spermine", *Biophys. Chem.*, **99**, 43-53 (2002).
- (40) Y. Matsuzawa, K. Hirano, A. Mizuno, M. Ichikawa and K. Yoshikawa, "Geometric Manipulation of DNA Molecules with a Laser", *Appl. Phys. Lett.*, **81**, 3494-3496 (2002).
- (41) Y. Yoshikawa, T. Kanbe and K. Yoshikawa, "Daunomycin Triggers Membrane Blebbing and Breakage of Giant DNA Encapsulated in a Cell-Sized Liposome", *Chem. Phys. Lett.*, **366**, 305-310 (2002).
- (42) V. G Sergejev, O. A. Novoskoltseva, O. A. Pyshkina, A. A. Zinchenko, V. B. Rogacheva, A. B. Zazin, K. Yoshikawa and V. A. Kabanov, "Secondary Structure of DNA is Recognized by Slightly Cross-Linked Cationic Hydrogel", *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 11324-11333 (2002).
- (43) T. Sakaue and K. Yoshikawa, "Folding/Unfolding Kinetics on a Semiflexible Polymer Chain", *J. Chem. Phys.*, **117**(13), 6323-6330 (2002).
- (44) Y. S. Velichko, K. Yoshikawa and A. R. Khokhlov, "Monte Carlo Simulation of Circular Double-Stranded Polymers", *Comp. Phys. Commun.*, **146**, 122-124 (2002).
- (45) N. Yoshinaga, K. Yoshikawa and S. Kidoaki, "Multiscaling in a Long Semiflexible Polymer Chain in Two Dimensions", *J. Chem. Phys.*, **116**, 9926-9929 (2002).
- (46) K. Yoshikawa, "Field Hypothesis on the Self-regulation of Gene Expression", *J. Biol. Phys.*, **28**, 701-712 (2002).
- (47) N. Magome, H. Kitahata, M. Ichikawa, S. M. Nomura and K. Yoshikawa, "Rhythmic Bursting in a Cluster of Microbeads Driven by a Continuous-Wave Laser Beam", *Phys. Rev. E*, **65**, 045202 (2002).
- (48) S. M. Nomura, T. Harada and K. Yoshikawa, "Autonomous Swinging of a Lipid Tubule Under Stationary Irradiation by a Nd³⁺:YAG Laser", *Phys. Rev. Lett.*, **88**, 093903 (2002).

- (49) H. Kitahata, R. Aihara, N. Magome and K. Yoshikawa, "Convective and Periodic Motion Driven by a Chemical Wave", *J. Chem. Phys.*, **116**, 5666-5672 (2002).
- (50) K. Yoshikawa, Y. Yoshikawa and T. Kanbe, "All-or-None Folding Transition in Giant Mammalian DNA", *Chem. Phys. Lett.*, **354**, 354-359 (2002).
- (51) K. Ikemoto, T. Sugimoto, S. Murata, M. Tazawa, T. Nomura, Y. Hagino, H. Ichinose, and T. Nagatsu, "(6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-monapterin from *Escherichia coli*, a Novel Natural Unconjugated Tetrahydropterin.", *Biol. Chem.*, **383**, 325-330 (2002).
- (52) S. Iwamatsu, P. S. Vijayalakshmi, M. Hamajima, C. H. Suresh, N. Koga, T. Suzuki, and S. Murata, "A Novel Photorearrangement of a Cyclohexadiene Derivative of C₆₀.", *Org. Lett.*, **2002**, 1217-1220 (2002).
- (53) S. Iwamatsu, P. S. Vijayalakshmi, Y. Kitamura, M. Hamajima, I. Koike, and S. Murata, "Photochemical and Thermal Rearrangement of Cyclohexadiene Derivatives of C₆₀: Formation and Characterization of Novel Compounds Relating to Bis(fulleroid).", *Physics of the Solid State*, **44**, 1153-1154 (2002).
- (54) M. Itou, A. Sakakura, N. Miyazawa, S. Murata, and K. Yoshikawa, "Nonspecificity Induces Chiral Specificity in the Folding Transition of Giant DNA", *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 12714-12715 (2003).
- (55) Y. Sato, S-I M Nomura and K. Yoshikawa, "Enhanced uptake of giant DNA in cell-sized liposomes", *Chem.Phys.Lett.* **380**, 279-285 (2003).
- (56) T. Iwaki and K. Yoshikawa, "Competition between interchain and intrachain phase segregation", *Phys. Rev. E*, **68**, 031902 (2003).
- (57) S.-a. Mukai, N. Magome, H. Kitahata, and K. Yoshikawa, "Liquid/liquid dynamic phase separation induced by a focused laser", *Appl. Phys. Lett.*, **83**, 2557-2559 (2003).
- (58) K. Kubo, M. Ichikawa, and K. Yoshikawa, "Optically driven transport into a living cell", *Appl. Phys. Lett.*, **83**, 2468-2470 (2003).
- (59) T. Akitaya, K. Tsumoto, A. Yamada, N. Makita, K. Kubo and K. Yoshikawa, "NTP Concentration Switches Transcriptional Activity by Changing the Large-Scale Structure of DNA", *Biomacromolecules*, **4**, 1121-1125 (2003).
- (60) Y. Yamasaki, S. Katayose, K. Kataoka and K. Yoshikawa, "PEG-PLL Block Copolymers Induce Reversible Large Discrete Coil-Globule Transition in a Single DNA Molecule through Cooperative Complex Formation", *Macromolecules*, **36**, 6276-6279 (2003).
- (61) S-I. M. Nomura, K. Tsumoto, T. Hamada, K. Akiyoshi, Y. Nakatani and K. Yoshikawa, "Gene Expression Within Cell-Sized Lipid Vesicles", *ChemBioChem*, **4**, 1172-1175 (2003).
- (62) L. Zherenkova, P. Khalatur and K. Yoshikawa, "Self-Consistent Integral Equation Theory for Semiflexible Polyelectrolytes in Poor Solvent", *Macromol. Theory Simul.* **12**, 339-353 (2003).
- (63) Y. Yoshikawa, M. Suzuki, N. Chen, A. Zinchenko, S. Murata, T. Kanbe, T. Nakai, H. Oana and K. Yoshikawa, "Ascorbic acid induces a marked conformational change in long duplex DNA", *Eur. J. Biochem.* **270**, 3101-3106 (2003).
- (64) M. Ichikawa, Y. Matsuzawa, Y. Koyama and K. Yoshikawa, "Molecular fabrication: Aligning DNA molecules as building blocks", *Langmuir*, **19**, 5444-5447 (2003).
- (65) K. Tsumoto, L. Francois and K. Yoshikawa, "Giant DNA molecules exhibit on/off switching of

- transcriptional activity through conformational transition”, *Biophys. Chem.* **106**, 23-29 (2003).
- (66) N. Nakashima, S. Okuzono, H. Murakami, T. Nakai and K. Yoshikawa, “DNA Dissolves Single-walled Carbon Nanotubes in Water”, *Chem. Lett.*, **132**, 456-457 (2003).
- (67) N. Magome, M. I. Kohira, E. Hayata, S. Mukai and K. Yoshikawa, “Optical Trapping of a Growing Water Droplet in Air”, *J. Phys. Chem. B*, **107**, 3988-3990 (2003).
- (68) T. Ichino, Y. Igarashi, I. N. Motoike and K. Yoshikawa, “Different Operations on a Single Circuit Field Computation on an Excitable Chemical System”, *J. Chem. Phys.*, **118**, 8185-8190 (2003).
- (69) T. Okuda, S. Kidoaki, M. Ohsaki, Y. Koyama, K. Yoshikawa, T. Niidome and H. Aoyagi, “Time-Dependent Complex Formation of Dendritic Poly(L-lysine) with Plasmid DNA and Correlation with in vitro Transfection Efficiencies”, *Org. Biomol. Chem.*, **1**, 1270-1273 (2003).
- (70) I. N. Motoike and K. Yoshikawa, “Information Operations with Multiple Pulses on an Excitable Field”, *Chaos Solitons Fractals*, **17**, 455-461 (2003).
- (71) S. M. Nomura, H. Mayama and K. Yoshikawa, “Nonlinear Dynamics in a Laser Field: Spontaneous Oscillation of Mesoscopic Soft Matter”, *Chaos Solitons Fractals*, **17**, 419-423 (2003).
- (72) A. A. Zinchenko, V. G. Sergeyev, S. Murata and K. Yoshikawa, “Controlling the intrachain segregation on a single DNA molecule”, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 4414-4415 (2003).
- (73) J. Gorecki, K. Yoshikawa, Y. Igarashi, “On Chemical Reactors That Can Count”, *J. Phys. Chem. A*, **107**, 1664-1669 (2003).
- (74) S. G. Starodoubtsev, S. Kidoaki and K. Yoshikawa, “Interaction of Double-Stranded T4 DNA with Cationic Gel of Poly(diallyldimethylammonium chloride)”, *Biomacromol.*, **4**, 32-37 (2003).
- (75) K. Akiyoshi, A. Itaya, S. M. Nomura, N. Ono and K. Yoshikawa, “Induction of Neuron-Like Tubes and Liposome Networks by Cooperative Effect of Gangliosides and Phospholipids”, *FEBS Lett.*, **534**, 33-38 (2003).
- (74) C. H. Suresh, P. S. Vijayalakshmi, S.-i. Iwamatsu, S. Murata and N. Koga, “Rearrangement of the Cyclohexadiene Derivatives of C₆₀ to Bis(fulleroid) and Bis(methano)fullerene: Structure, Stability and Mechanism.”, *J. Org. Chem.*, **68**, 3522-3531 (2003).
- (75) S.-i. Iwamatsu, F. Ono and S. Murata, “A Novel Migrative Addition Reaction of Hydrazines to the Diketone Derivative of C₆₀.”, *Chem. Commun.*, **2003**, 1268-1269 (2003).
- (76) S.-i. Iwamatsu, F. Ono and S. Murata, “A Novel Ring Expansion of the Holey Ketolactam Derivative of C₆₀.”, *Chem. Lett.*, **32**, 614-615 (2003).
- (77) T. Hamada and K. Yoshikawa, “Peeling kinetics of giant multilamellar vesicles on a solid-liquid interface”, *Chem. Phys. Lett.*, **396**, 303-307 (2004).
- (78) H. Kitahata, H. Mayama, and K. Yoshikawa, “Spontaneous rhythmic motion of a polymer chain in a continuous-wave laser field”, *Phys. Rev. E*, **70**, 021910 (2004).
- (79) H. Mayama, T. Hiroya, K. Inagaki, S. Tanda and K. Yoshikawa, “Anomalous doping effect on Ag-doped DNA conductor”, *Chem. Phys. Lett.*, **397**, 101-105 (2004).
- (80) S. Rybalko, N. Magome, and K. Yoshikawa, “Forward and backward laser-guided motion of an oil droplet”, *Phys. Lett. E*, **70**, 046301 (2004).

- (81) T. Iwaki and K. Yoshikawa, "Counterion-mediated intra-chain phase segregation on a single poly-electrolyte chain", *Europhys. Lett.*, **66**, 545-551 (2004).
- (82) H. Nagahara, T. Ichino, and K. Yoshikawa, "Direction detector on an excitable field: Field computation with coincidence detection", *Phys. Rev. E*, **70**, 036221 (2004).
- (83) Y. Matsuzawa, T. Kanbe, and K. Yoshikawa, "Compaction and Multiple-Chain Assembly of DNA with the Cationic Polymer, Poly-Aluminumchloride (PAC)", *Langmuir*, **20**, 6439-6442 (2004).
- (84) I. Rychkov and K. Yoshikawa, "Structural Changes in Block Copolymer Solutions under Shear Flow as Determined by Non-Equilibrium Molecular Dynamics", *Macromol. Theory Simul.*, **13**, 257-264 (2004).
- (85) A. A. Zinchenko, V. G. Sergeyev, K. Yamabe, S. Murata, and K. Yoshikawa, "DNA Compaction by Divalent Cations: Structural Specificity Revealed by the Potentiality of Designed Quaternary Diammonium Salts", *ChemBioChem*, **5**, 360-368 (2004).
- (86) Y. Yoshikawa, M. Suzuki, N. Yamada, and K. Yoshikawa, "Double-strand break of giant DNA: Protection by glucosyl-hesperidin as evidenced through direct observation on individual DNA molecules", *FEBS Lett.*, **566**, 39-42 (2004).
- (87) A. A. Zinchenko, V. G. Sergeyev, V. A. Kabanov, S. Murata, and K. Yoshikawa, "Stereoisomeric Discrimination in DNA Compaction", *Angew. Chem. Int. Ed.* **43**, 2378-2381 (2004).
- (88) M. Ichikawa, N. Magome, and K. Yoshikawa, "Rhythmic growth and collapse of a micro water droplet", *Europhys. Lett.*, **66**, 545-551 (2004).
- (89) T. Harada and K. Yoshikawa, "Fluctuation-response relation in a rocking ratchet", *Phys. Rev. E*, **69**, 031113 (2004).
- (90) I. Rychkov and K. Yoshikawa, "Nonlinear rheological behavior associated with structural transitions in block copolymer solutions via nonequilibrium molecular dynamics", *J. Chem. Phys.*, **120**, 3482-3488 (2004).
- (91) M. Tabuchi, M. Ueda, N. Kaji, Y. Yamasaki, Y. Nagasaki, K. Yoshikawa, K. Kataoka, and Y. Baba, "Nanospheres for DNA separation chips", *Nature Biotech.*, **22**, 337-340 (2004).
- (92) T. Iwataki, S. Kidoaki, T. Sakaue, and K. Yoshikawa, "Competition between compaction of single-chains and bundling of multiple", *J. Chem. Phys.*, **120**, 4004-4011 (2004).
- (93) S.-i. Iwamatsu, T. Uozaki, K. Kobayashi, S. Re, S. Nagase and S. Murata, "A Bowl-Shaped Fullerene Encapsulates a Water into the Cage.", *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 2268-2269 (2004).
- (94) S.-i. Iwamatsu and S. Murata, "H₂O@Open-Cage Fullerene C₆₀: Control of the Encapsulation Property and the First Mass Spectroscopic Identification.", *Tetrahedron Lett.*, **45**, 6391-6394 (2004).
- (95) S.-i. Iwamatsu, T. Kuwayama, K. Kobayashi, S. Nagase, and S. Murata, "Regioselective Carbon-Carbon Bond Cleavage of the Open-Cage Diketone Derivative of [60]Fullerene by the Reaction with Aromatic Hydrazone.", *Synthesis*, **2004**, 2962 - 2964 (2004).
- (96) P. S. Vijayalakshmi, S.-i. Iwamatsu, I. Koike, Y. Kitamura, and S. Murata, "Highly Conjugated Hydrophilic [60]Fullerene Derivatives.", *Tetrahedron Lett.*, **45**, 8311 - 8313 (2004).
- (97) H. Kitahata, R. Aihara, Y. Mori, and K. Yoshikawa, "Slowing and stopping of chemical waves in a narrowing canal", *J. Phys. Chem. B*, **108**, 18956-18959 (2004).

- (98) H. Oana, K. Kubo, K. Yoshikawa, H. Atomi and T. Imanaka, "On-site manipulation of single whole-genome DNA molecules using optical tweezers", *Appl. Phys. Lett.*, **85**, 5090-5092 (2004).
- (99) S. Kato, S. Kidoaki, T. Matsuda, "Substrate-dependent Cellular Behaviors of Swiss 3T3 Fibroblasts and Activation of Rho Family during Adhesional and Spreading Processes", *J. Biomed. Mater. Res.*, **68**, 314-324 (2004).
- (100) Y. Kawabata, M. Nagao, H. Seto, S. Komura, T. Takeda, D. Schwahn, N. L. Yamada, and H. Nobutou "Temperature and pressure effects on the bending modulus of monolayers in a ternary microemulsion", *Phys. Rev. Lett.*, **92**, 056103 (2004).
- (101) S. Kidoaki, I.K. Kwon, T. Matsuda, Mesoscopic spatial designs of nano- and micron-fiber meshes for tissue-engineering matrix and scaffold based on newly devised multilayering and mixing electrospinning techniques, *Biomaterials*, **26**, 37-46 (2005).
- (102) S. Ohya, S. Kidoaki, T. Matsuda, "Poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm)-grafted hydrogel surfaces: Interrelationship between microscopic structures and mechanical property of surface regions and cell adhesiveness", *Biomaterials* **26**, 3105-3111 (2005).
- (103) S. Mukai, H. Kitahata, and K. Yoshikawa, "Dynamical phase separation under laser scanning" *Chem. Phys. Lett.*, **402**, 529-534, (2005).
- (104) N. Miyazawa, T. Sakaue, K. Yoshikawa, and R. Zana, "Rings-on-a-string chain structure in DNA", *J. Chem. Phys.*, **122**, 044902 (2005).
- (105) Y. Sato, Y. Kobayashi, T. Kamiya, H. Watanabe, T. Akaike, K. Yoshikawa, and A. Maruyama, "The effect of backbone structure on polycation comb-type copolymer/DNA interactions and the molecular assembly of DNA", *Biomaterials*, **26**, 703-711 (2005).
- (106) T. Kanaya, N. Takahashi, K. Nishida, H. Seto, M. Nagao, and T. Takeda, "Neutron spin-echo studies on dynamic and static fluctuations in two types of poly(vinyl alcohol) gels", *Phys. Rev. E*, **71**, 011801 (2005).
- (107) H. Kitahata and K. Yoshikawa, "Chemo-mechanical energy transduction through interfacial instability", *Physica D*, in press (2005).
- (108) Y. Sumino, N. Magome, T. Hamada, and K. Yoshikawa, "Self Running Droplet: Emergence of Regular Motion from Nonequilibrium Noise", *Phys. Rev. Lett.*, in press (2005).
- (109) M. Tabuchi, Y. Katsuyama, K. Nogami, H. Nagata, K. Wakuda, M. Fujimoto, Y. Nagasaki, K. Yoshikawa, K. Kataoka and Y. Baba, "A design of nanosized PEGylated-latax mixed polymer solution for microchip electrophoresis", *Lab Chip*, in press (2005).
- (110) N. L. Yamada, T. Takeda, K. Kato, M. Nagao, and H. Seto, "Effect of confinement on membrane undulation in a swollen lamellar phase", *J. Phys. Soc. Jpn.*, in press (2005).
- (111) K. Yoshida, T. Yamaguchi, T. Otomo, M. Nagao, H. Seto, and T. Takeda, "Concentration Fluctuations and Cluster Dynamics of 2-Butoxyethanol-Water Mixtures by Small-angle Neutron Scattering and Neutron Spin Echo Techniques", *J. Mol. Liq.*, in press (2005).

総説等（和文）

- (1) "非線形非平衡系としての生命", 吉川研一, 秋田谷龍男, 数理科学, **441**, 21-27 (2000) .
- (2) "時空間秩序の自己生成と生命現象", 眞山博幸, 吉川研一, 電気学会誌, **121**, 238-242 (2001) .

- (3) “レーザー場で創出される高分子の非線形ダイナミクス”, 眞山博幸, 吉川研一, 高分子, **51**, 936-939 (2002) .
- (4) “単一高分子鎖の折り畳み相転移”, 義永那津人, 吉川研一, 日本ゴム協会誌, **75**, 385-389 (2002) .
- (5) “非線形システム：反応拡散系から生命現象へ”, 北畑裕之, 吉川研一, 応用物理, **71**, 1126-1132 (2002) .
- (6) “DNA の不思議”, 吉川研一, 特集「DNA：紐の物理-分子情報から時空構造へのシナリオ-」, 数理科学, **468**, 5-12 (2002) .
- (7) “DNA の高次構造スイッチングと遺伝子発現”, 吉川祐子, 湊元幹太, 吉川研一, 生物物理, **42**, 179-184 (2002) .
- (8) “リズムを刻む分子システム- 時空間の自己組織化- ”, 吉川研一, 現代化学, **391**, 20-26 (2003) .
- (9) “生命現象と非線形科学”, 原田崇広, 吉川研一, Electrochemistry (電気化学および工業物理化学), **71**, 341-345 (2003) .
- (10) “DNA の折り畳み”, 吉川研一 監修, 株式会社アイピーシー (2003) .
- (11) “社会と大学は連携から「融合」へ”, 吉川研一 (分担執筆), 大阪大学出版会 阪大フロンティア研究機構編 (2003) .
- (12) “生物物理学とはなにか”, 吉川研一 (分担執筆), 共立出版株式会社 日本生物物理学会シリーズニューバイオフィジック (2003) .
- (13) “競争? それとも, 楽しみ?”, 吉川研一, 生物物理, **249**, 215 (2003) .
- (14) “DNA の折り畳み転移と遺伝子活性”, 小穴英廣, 湊元幹太, 吉川研一, バイオサイエンスとインダストリー, **61**, 163-168 (2003) .
- (15) “光ピンセットによる細胞内導入”, 久保康児, 市川正敏, 吉川研一, バイオインダストリー, **20**, 12-18 (2003).
- (16) “生命現象と時間の矢”, 特集/時間の矢とは, 吉川研一, 住野豊, 数理科学, **493**, 43-48 (2004) .
- (17) “光の操作, 物体の操作, で何をする?”, 市川正敏, 吉川研一, 化学, **59**, 76-77 (2004) .
- (18) “時計遺伝子の分子生物学”, 岡村均・深田吉孝 編, 山田彩子, 吉川研一 共著 (分担執筆), シュプリンガー・フェアラーク東京株式会社 (2004) .
- (19) “超分子科学 ナノ材料創製に向けて”, 中嶋直敏 編著, 吉川研一 (分担執筆), 化学同人 (2004) .
- (20) “ナノバイオロジー ナノテクノロジーによる生命科学”, 竹安邦夫 編, 坂上貴洋, 吉川研一 共著 (分担執筆), 共立出版 (2004) .
- (21) “宇宙と生命の起源 ビッグバンから人類誕生まで”, 嶺重慎・小久保英一郎 編著, 吉川研一 (分担執筆), 岩波ジュニア新書 (2004) .
- (22) “脳のフィジックス”, 長谷川建治・吉岡亨 編, 元池育子, 吉川研一 共著 (分担執

筆), 共立出版 (2004) .

(2)口頭発表 (内容が重複しているものは除く。国際学会発表を優先。)

①招待、口頭講演 (国内 約80件、国際 約30件)

・招待講演 (国際学会) :

K. Yoshikawa, "Panel Discussion Discussion Leader"

International Symposium on Chaos and Order in Chemistry, 奈良県新公会堂能楽堂ホール、
2000年3月20日

K. Yoshikawa, "Folding transitions in single DNA molecules"

International Summer School on "DNA and Chromosomes:Physical and Biological
Approaches", Cargese, France、2000年8月11日

K. Yoshikawa, "Rhythmic Folding/Unfolding Transition in a Single DNA Chain Induced by
Laser"

8th International Conference on Laser Applications in Life Sciences, 早稲田大学、2000年8月
17日

K. Yoshikawa, "Limit cycle oscillation in a single polymer"

Pacificchem 2000 環太平洋国際化学会議, Honolulu Hawaii、2000年12月17日

K. Yoshikawa, "Switching in the higher order structure of DNA"

Pacificchem 2000 環太平洋国際化学会議, Honolulu Hawaii、2000年12月18日

S. Murata, "Regioselective Substitution of Pterin 6-Triflate",

12th International Conference Chemistry and Biology of Pteridines and Folates, Bethesda, USA.
2001年6月20日

S. Murata, "Preparation of Novel Bis(fulleroid) derivatives",

2nd International Workshop on Fullerene and Carbon Nanotube, St. Petersburg, Russia. 2001年
7月3日

K. Yoshikawa, "Field Hypothesis on the Self-Regulation of Gene Expression"

4th International Conference on Biological Physics (ICBP2001), 京都国際会議場、2001年8
月2日

S. Murata, "Selective Oxidative bond Cleavage of Bis(fulleroid)",

5th International Conference for Functional p-systems, Ulm, Germany. 2002年6月2日

K. Yoshikawa, "ON/OFF Switching on Polymer Conformation"

IUPAC Polymer Conference on the Mission and Challenges of Polymer Science and
Technology (IUPAC-PC2002), Kyoto Japan, 2002年12月3日

K. Yoshikawa, "Controlling folding/unfolding transition of giant DNA"

International Symposium on Polyelectrolytes 2002, Lund Sweden, 2002年6月16日

K. Yoshikawa, "Self-Emergence of Nano-structure from single polymer chains"
36th Middle Atlantic Regional Meeting (MARM), Princeton University, U.S.A. 2003 年 6 月 10 日

K. Yoshikawa, "Phase Transition of Giant DNA Molecule"
International Workshop on Dynamics of Complex Fluids, Yukawa Institute, Kyoto University, 2004 年 3 月 8 日

Y. Yoshikawa, "Switching on the Higher-Order Structure of DNA and Genetic Activity",
International Symposium on Innovative Technology for Radiation Risk Study 2003: Technology in the Quantum Life Science Era" (Tokyo) 2003 年 3 月 12 日～14 日

S.-i. Iwamatsu, "Synthesis and Structure of Fullerene Derivatives with Large Orifice and its Application for Encapsulation of Small Molecules,"
205th Symposium of Electrochemical Society, San Antonio, USA. 2004 年 5 月 11 日

S. Murata, "DNA-Compacting Interaction of Pteridine-Polyamine Conjugate"
12th FECEM Conference on Heterocycles in Bio-Organic Chemistry, Siena, Italy. 2004 年 6 月 21 日

K. Yoshikawa, "Single Macromolecules: Hierarchic Thermodynamics, Irreversibility and Biological Function"
The 5th International Conference on Biological Physics (ICBP2004), Chalmers Conference Center, Sweden, 2004 年 8 月 23 日

・招待講演（国内学会）：

吉川研一, "生命現象：実像とシミュレーション"
シミュレーション・サイエンス・シンポジウム, 核融合科学研究所, 2000 年 1 月 27 日

吉川研一, "DNA の折り畳み相転移"
物理化学セミナー, 京都大学第二講義室, 2000 年 2 月 19 日

吉川研一, "嗅覚類似機能を持つインテリジェントセンサー"
第 11 回コロイド・界面実用講座 商品開発の新しい扉「感覚」へのアクセスー味覚・嗅覚・皮膚感覚の基礎と応用の最前線, 東京お茶の水化学会館, 2000 年 4 月 21 日

吉川研一, "非線形ダイナミクスが創り出す「生命らしさ」"
先端化学技術部会 コンピュータケミストリー分科会講演会, 東京お茶の水化学会館, 2000 年 4 月 28 日

吉川研一, "生命現象と非線形ダイナミクス"
第 2 回分子ダイナミクス分光ワークショップ～複雑系のダイナミクスと光計測技術～, アクトシティ浜松, 2000 年 7 月 6 日

吉川研一, "論文には書けないこと"
生物物理若手の会 夏の学校 2000 メインシンポジウム, 東京大学本郷キャンパス, 2000

年 8 月 1 日

吉川研一, “非線形開放系としての生命”
第 38 回生物物理学会, 東北大学、2000 年 9 月 12 日

吉川研一, “単一分子鎖が創り出すナノ秩序”
第 3 回 CREST 計算化学研究会, 東北大学、2000 年 11 月 1 日

吉川研一, “リズム・パターンと生命”
日本物理学会名古屋支部主催公開講演会「物理学とは何だろうか: 複雑なものへの挑戦」
名古屋市鯉城ホール、2000 年 11 月 11 日、

吉川研一, “自発的に動き、リズムをうち、自己修復する分子システムができた”
第 3 回生命化学研究会シンポジウム, 甲南大学、2001 年 1 月 6 日

吉川研一, “Vital Molecular System”
Kyoto University-Universite Louis Pasteur 10th Anniversary Symposium “from molecular, stress signal to cognition”, 京大会館、2001 年 2 月 9 日

吉川研一, “生命現象と非線形ダイナミクス”
2001 年春季 第 48 回応用物理学関係連合講演会シンポジウム「反応拡散系- 生き生きとした自然現象を演出する非線形システム- , 明治大学 (駿河台キャンパス)、2001 年 3 月 29 日

吉川研一, “DNA の折り畳み転移と遺伝子活性 : Controlling the Higher Order Structure of DNA toward Efficient Biological Activity”
日本薬学会北海道支部特別講演会「21 世紀の遺伝子デリバリーを語る～組織選択的なデリバリーから遺伝子発現制御まで～」, 北海道大学薬学部、2001 年 3 月 31 日

吉川研一, “高分子が創るナノ秩序体”
社団法人高分子学会 高分子同友会勉強会, 大阪 薬業年金会館、2001 年 10 月 16 日

吉川研一, “高分子時空構造の自己制御 スイッチング・リズム・時間発展”
科学技術進行事業団 戦略的基礎研究推進事業 (CREST) 公開シンポジウム「分子複合系の構築と機能」, 東京 日本科学未来館、2001 年 10 月 29 日

吉川研一, “分子の紐の折り畳み : ナノ秩序体の自己創成”
日本化学会東海支部、科学技術振興事業団、「第 13 回名古屋コンファレンス : 化学を超えて」, 名古屋大学シンポジオン、2001 年 11 月 12 日

吉川研一, “レーザーで遊ぶ非線形振動”
「関数方程式の解のダイナミクスとその周辺」研究集会, 京都大学数理解析研究所、2001 年 11 月 14 日

吉川研一, “遺伝子発現の非線形ダイナミクス”
「関数方程式の解のダイナミクスとその周辺」研究集会, 京都大学数理解析研究所、2001 年 11 月 14 日

吉川研一, “レーザー制御した非平衡開放場上での非線形ダイナミクス”
第 3 回化学物理学研究会, セント・キャサリズ・カレッジ 神戸インスティテュート、2001 年 11 月 21 日

吉川研一，“紐の構造転移：荷電高分子系”
第 5 回シミュレーション・サイエンス・シンポジウム、核融合科学研究所、2001 年 12 月 4 日

吉川研一，“物理のことばで生命は語れるか？”
総合研究大学院大学グループ研究「新分野の開拓」、小グループ「生体の時間秩序発現機構」・「秩序／無秩序の科学」合同研究会、総合研究大学院大学・教育研究交流センター、2002 年 1 月 16 日

吉川研一，“時間応答を生かす能動型知的センサ”
電気化学会第 69 回大会、シンポジウム：化学センサの新展開、東北大学、2002 年 4 月 1 日

吉川研一，“DNA 折り畳み構造の多様性と活性”
遺伝子デリバリー研究会 第 2 回シンポジウム、京都、2002 年 5 月 17 日

吉川研一，“多成分を同時に定性・定量する賢いセンサー”
基礎錯体工学研究会・光電気化学研究懇談会合同シンポジウム「電子移動科学と新機能」、大阪、2002 年 7 月 26 日

吉川研一，“DNA の構造転移と動的機能”
日本生物物理学会第 40 回年会プレシンポジウム「生体の時間秩序発現機構」、京大、2002 年 10 月 29 日

吉川研一，“エネルギー流と DNA 高次構造との対話 “
第 40 回生物物理学会年会、「生体におけるエネルギー流と時間秩序 - Soft non-equilibrium thermodynamics-」、名古屋大学、2002 年 11 月 3 日

吉川研一、阪大フロンティア研究機構、第三回 FRC シンポジウム「学問領域の融合」、大阪市中央公会堂、2003 年 3 月 4 日

吉川研一，“ナノの世界の自律運動と実空間モデル”
ナノワールドの運動とその原理を探るシンポジウム、「物理の運動と生命の運動の接点」
東北大学 学際科学国際高等研究センター、2003 年 7 月 25 日

吉川研一，“非線形ダイナミクスで遊ぶ”
京都大学基礎物理学研究所研究会、「ソフトマターの物理学 2003- 普遍性と多様性」
京大、2003 年 8 月 1 日

吉川研一，“定常レーザー場上での非線形ダイナミクス”
基礎科学・化学物理合同ワークショップ、東京 日本科学未来館、2003 年 8 月 27 日

吉川祐子，“長鎖 DNA の折り畳み転移と機能” 日本放射線影響学会（京都）、2003 年 10 月 6 日～8 日

吉川研一，“生命現象の物理学”
生体・理工学シンポジウム、「分子レベルのウエットでドライな話」、新潟県健康づくり・スポーツ医科学センター、2003 年 10 月 8 日

吉川研一，“多様性の起源”
第 16 回理論天文学懇談会シンポジウム Origin —起源—ビックバンから生命へ、京都大

学基礎物理学研究所、2004年1月8日

木戸秋悟、"タンパク質・細胞・材料間相互作用のバイオメカニクス：蛍光・原子間力顕微鏡法による実測と解析"、極限環境科学リサーチコア講演会、福岡、2004年3月

吉川研一、“自己組織化小胞の機能化- DNA の転写と蛋白質合成”
第6回 分子ダイナミック分光ワークショップ 生体複雑系への手掛りを求めて ～偏光分光と光電子分光に学ぶ～、アクティシティ浜松、2004年7月9日

吉川研一、“DNA 折りたたみ研究のナノ粒子・ナノファイバー科学技術へのインパクト”
みらいせんい展生命系イベントシンポジウム「遺伝子(DNA)の世界はナノファイバーワールドだ!」, 日本科学未来館、2004年7月12日

吉川研一、“微小重力下の非線形ダイナミクス”
第57回コロイドおよび界面化学討論会, 山口東京理科大学、2004年9月11日

吉川研一、“生命のパズル ～自己組織化の謎にせまる～”
「楽しむ科学教室」科学は感動の世界, 京都大学百周年時計台記念ホール、2004年9月18日

・ 口頭講演 (国際)

Faraday Discussion

Gordon research conference

など多数

・ 口頭講演 (国内)

日本物理学会

日本生物物理学会

日本化学会

遺伝子・デリバリー研究会

高分子討論会

コロイド及び界面化学討論会

日本薬学会

非線形反応と協同現象研究会

など多数

②ポスター発表 (国内 約100件、国際 約40件)

海外：

Gordon research conference

International Conference on Biological Physics

などさまざまな国際会議で発表多数

国内：

日本物理学会

日本生物物理学会

日本化学会

遺伝子・デリバリー研究会

高分子討論会

コロイド及び界面化学討論会

日本薬学会

日本農芸化学会

日本分子生物学会

日本バイオマテリアル学会

日本応用物理学会

非線形反応と協同現象研究会

など多数

③プレス発表

なし

(3)特許出願（国内8件、海外0件）

①国内

- (1) 2000-233423 吉川研一 他3名
レーザー駆動微小モーター（2000年8月1日）
- (2) 2001-270072 吉川研一 他5名
細胞への遺伝子導入法（2001年9月6日）
- (3) 2003-273264 村田静昭, 陳寧.
核酸処理剤（2003年7月11日）
- (4) 2003-310499 吉川研一 他7名
DNA転写反応の制御方法（2003年9月2日）
- (5) 2003-313054 吉川研一 他3名
高分子の操作方法（2003年9月4日）

- (6) 2003-397650 村田静昭, Anatoly A. Zinchenko
核酸凝縮制御剤キット及び核酸凝縮制御方法 (2003年11月27日)
- (7) 2003-398342 村田静昭, Anatoly A. Zinchenko
光学異性体のセンシング方法及びセンシング装置 (2003年11月27日)
- (8) 2004-068162 吉川研一 他5名
カチオン性金ナノ粒子及び核酸の複合体 (2004年3月10日)

②海外

なし

(4)新聞報道等

①新聞報道

(1)ピンセットによる遺伝子導入に関して次の新聞に記事が掲載された。

日経産業新聞 (2003年2月25日)

日刊工業新聞 (2003年3月25日)

(2)「二重らせん解明から50年」というトピックスで吉川のインタビュー記事、下記の新聞に掲載された。(共同通信社配信)

室蘭新聞 (2003年4月15日)

高知新聞 (2003年4月18日)

伊勢新聞 (2003年4月19日)

河北新聞 (2003年4月21日)

秋田さきがけ (2003年4月21日)

岩手日報 (2003年4月23日)

中部経済新聞 (2003年4月25日)

岐阜新聞 (2003年4月29日)

茨城新聞 (2003年6月5日)

(3)人工細胞作成に関して次の新聞に記事が掲載された。(共同通信社配信)

京都新聞 (2004年1月9日)

中国新聞 (2004年1月9日)

沖縄タイムス (2004年1月9日)

河北新報 (2004年1月9日)

中国新聞 (2004年1月9日)

岩手日報 (2004年1月9日)
北日本新聞 (2004年1月9日)
琉球新報 (2004年1月9日)
大分合同新聞 (2004年1月9日)
山形新聞 (2004年1月9日)
愛媛新聞 (2004年1月10日)

②受賞

なし

③その他

K. Kubo, M. Ichikawa, and K. Yoshikawa, “Optically driven transport into a living cell”, *Appl. Phys. Lett.*, **83**, 2468-2470 (2003). の内容に関して Nature 誌の News & views で Cell mail delivered by light というタイトルで紹介された (Nature, **425**, 364 (2003).)。

NHK教育テレビ「NHK高校講座 生物」

第4回「細胞のしくみ(1)～細胞膜の性質～」(2004年4月30日放送)

中で「細胞膜はシャボン玉」

第5回「細胞のしくみ(2)～酵素～」(2004年5月7日放送)

中で「人工細胞の鍵は酵素」

のタイトルで吉川グループの研究が紹介された。

(5)その他特記事項

なし

7. 結び

近代科学はビルや橋梁等の巨大な構造物、飛行機や自動車などの輸送手段、肥料や農薬を活用する食物生産方式、高品質・高耐久性の化学製品など、豊かな現代生活に欠かせないものを作り上げてきました。それらは、巨大さ、速さ、丈夫さ、効率などの点で、既に生物の能力を凌駕したものとなっています。しかしながら、21世紀を迎え、“自然を征服”する科学技術から、“自然と調和”した科学技術へと、その発展方向を転換させることの必然性が明らかになりつつあると言えます。一方で、地球上の生物には、数十億年の長きにわたる進化の中で獲得してきた叡智が刻み込まれています。よって生命の叡智を学ぶことにより、人類はその未来を切り開いていかなければならないのではないのでしょうか。

近年の分子生物学の著しい発展に伴い、生命体を構成する数多くの分子の構造が明らかになりつつあります。さらに、「構造生物学」の名のもとに、タンパク質などの“生命の部品”の巧妙な機能が、分子の構造論により解き明かされようとしてきています。しかしながら、生命の謎を、数々の部品に関する知識の単純な集積からは明らかにすることは不可能でしょう。部品である生体分子がどのようにして自発的に組織化され、そして動的な機能発現へとつながるのか、といった視点が不可欠だと思います。各々の分子にはない特質を“ナノ分子組織体”で実現する。このような、研究の潮流を作り出すことが求められていると言えると思います。

私達は、生命の巧妙な機能の中でも、心臓の拍動、神経発火、等温系での運動機関など、時間軸上の現象に注目し、それらの現実空間上のモデルを分子複合系で作り出すことを主な目的として研究を進めて来ました。換言すると、熱力学的な開放条件下、分子集団が自ら時間的、空間的構造を形成し、そして時間発展する、そのような実験系について研究を進めてきました。このような研究は、生命の本質的な理解に役立つのみならず、“自然と調和”した科学技術の創造に貢献できるものと確信します。

CRESTでの研究を開始してから5年が経過し、期間中、従来国立大学では不可能であった夢のような研究の条件を与えていただきました。この間、DNAの高次構造転移、高分子の折り畳み転移、化学領域の非線形ダイナミクスなどの研究課題で、国際的に見て先導的な研究を展開することが出来ました。海外からの研究者の招聘や、博士研究員の雇用、さらには、大学院生の海外での研究発表などに際しても、CRESTの事務局からは、“前例は無いが研究に役立つことであるなら検討してみましよう”との返答をしていただき、研究を飛躍的に発展させることが可能となりました。大学の事務局の、“前例が無いから出来ません”という対応とは対照的であり、このような援助を得たおかげで研究費を最大の効率で活用することが可

能となったと思っております。

本研究は、過去5年間にわたってCREST“分子複合系の構築と機能”のプログラムのもと、櫻井総括を始め、黒田技術参事、朝日向事務参事など、機構関係者からの絶大な支援をえて遂行したものであり、心から謝辞を申し上げさせていただきます。また、共同研究のグループである、京大理の職員院生をはじめ、共同研究のチームの名古屋大学環境学研究科村田教授のグループ、名古屋文理短大の吉川祐子教授、九州大学医学部の松田武久教授、木戸秋悟助教授、Strasbourg大学の中谷教授のグループとは、密接な連携をとりながら研究を推進しました。また、高分子のナノ構造の生成の課題を核にして、多方面に研究が発展したが、これには、他分野の研究者との助力・援助があつて成し遂げられたものであります。研究成果の論文リストに名前のある全ての方々にお礼の意を表します。

つぎに、本研究を遂行する中で本チームで活躍し、その後他の研究機関に移られた方々を紹介させていただきます。小穴英廣博士（京大理→東大院工講師）・木戸秋悟博士（博士研究員→九大医助教授）・秋田谷龍男博士（博士研究員→名城大薬助教授）・馬籠信之博士（博士研究員→名文理短大講師）・野村M慎一郎博士（博士研究員→東京医歯大講師）・坂倉彰博士（博士研究員→名大工講師）・眞山博幸（博士研究員→北大電子研助手）・元池育子博士（院生→はこだて未来大助手）・湊元幹太博士（院生→三重大工助手）・高木清二（院生→北大電子研助手）・岩松将一博士（博士研究員→名大環境助手）・池本和久博士（院生→藤田保健衛生大医助手）P. S. Vijayalakshmi博士（院生→Indiana University 博士研究員）・小野直亮博士（博士研究員→ATR研究員）・岩瀧敏男博士（院生→東大博士研究員）・相原良一博士（院生→理研研究員）・牧田直子博士（院生→名城大薬博士研究員）・向井貞篤氏（院生→海洋研究開発機構博士研究員）・一野天利博士（院生→京大VBL博士研究員）・坂上貴洋博士（院生→College de France 博士研究員）・岩城貴史



博士（院生→New York City Univ. 博士研究員）・A. A. Zinchenko博士（名大院生→京大理博士研究員）・小平将裕氏（院生→中央大学教務補佐員）。さらに、研究の発展を縁の下から支えていただいた、秘書の眞山、川上両氏の功績は極めて大きいものでありました。