

やわらかく小さなシステムの構造変化と非平衡ダイナミクス

東京大学大学院理学系研究科・教授 佐野 雅己

1. 初期の研究目標と実際の研究推進

本研究では統計力学の重要課題であるシステムの非線形応答や非平衡ゆらぎが、やわらかく小さなシステムであるソフトマターで特に顕著に表れることに着目し、生体高分子や液晶などが織りなす様々の構造と外場の下で示す非平衡ダイナミクスを実験により明らかにするとともに、非平衡ゆらぎと非線形動力学を機軸として非平衡ソフトマターの体系的に理解することを目指した。そのため初期には以下の項目を目標にあげた。(1) DNA の 1 分子計測により外場に対する応答を測定し、構造変化と非線形応答、非平衡ゆらぎなどの関係を明らかにする。(2) 蛋白質を引き伸ばした際のアンフォールディングのダイナミクスと機能喪失の相関。これらの課題は初期の2年間でほぼ達成したため(成果 2-1, 2-2)、3年目以降ではこれらに加えて、以下の目的を追加した。(3) 流動場による液晶のトポロジカル欠陥の生成・伸長における法則などを明らかにする。(4) 新しい分子マニピュレーションの解明とソフトマターへの展開。(3)については2-4で、(4)については2-5でその成果について述べる。さらに、本研究では非ニュートン流体の不安定性に関する新たな成果(2-3)も得られた。

2. 研究成果

2-1. DNA およびタンパク質 1 分子の力学応答と構造変化、機能との相関

DNA は直径(2nm)に比べて全長が極めて長いため、セミフレキシブル高分子の理想的なモデルである。また、荷電高分子であるため溶液中のイオンの価数や濃度を変えることにより 1 分子でも凝縮相転移することが知られている。したがって、凝縮した DNA 分子が外力に対してどのように応答し、構造変化を起こすかを定量的に測定することで DNA の凝縮相転移に関する知見が得られる。我々は、1 分子 DNA の両端にビーズを付け、様々のイオン濃度の下でレーザーピンセットを用いて伸張させ、力学応答の変化を調べた。その結果、3 価のイオンであるスperlミジン (SPD) 濃度が十分低い状態では、セミフレキシブル高分子の特徴である Worm-Like Chain (WLC)特性、SPD が $500 \mu\text{M}$ 程度では力が一定で引き伸ばされるプラトー特性、SPD が $1\sim 10\text{mM}$ の高濃度では鋸歯状の Stick-release 応答の 3 種類の特徴的な応答が観測された。また、SPD が 200mM 以上では再び凝縮が解け、WLC 特性が復活するリエントラント転移が起こることを 1 分子で初めて観測した。この状態で蛍光観察を行うとランダムコイル状態と凝縮状態では、伸張・収縮時の DNA のゆらぎが大きく異なることを確認した。さらに、1 分子レオロジーを目指して分子内摩擦を測る目的で、伸張力の速度依存性を測定し、速度の増加につれ伸張力が増大する現象を見いだした。

単一タンパク質の外力による伸張過程(アンフォールディング)における中間状態の観測と並列性の発見: この実験では、単一分子タンパク質(SNase)を AFM を用いて伸張したときの力学応答を測定した。1 分子で中間構造に対応する複数のピークが観測された。SNase は Ca の存在下

で DNA を切断する酵素であることから、ネイティブ状態、変性状態、Ca 存在下、Ca+DNA 類似分子の存在下でそれぞれ力学応答を測定した。その結果、リガンドを結合した場合にその力学応答が大きく変化することを初めて示すことに成功した。

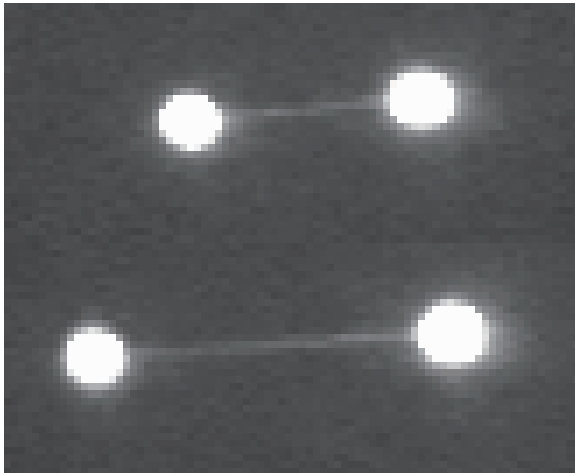


図1 1分子 DNA の伸張と可視化

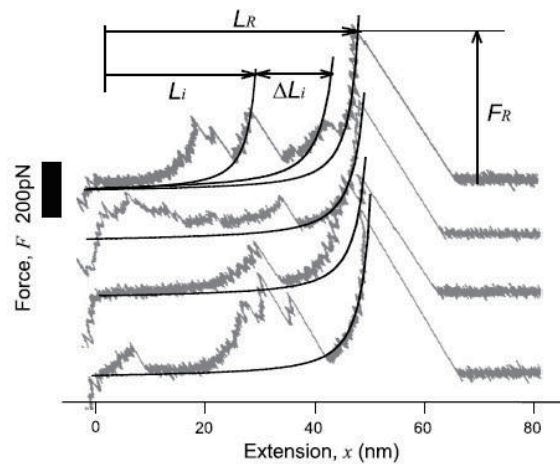


図2 SNase 酵素 1 分子の力学応答

2-2. 非平衡定常状態における新しい関係式の実験的検証

ここ数年で非平衡統計力学の分野の様相は一変した。例えば、非平衡状態に関する Fluctuation Theorem や Jarzynski 等式の発見は、従来は理論的扱いが困難であった小さな系や非線形領域での揺らぎに関して新しい切り口を提供するものである。ソフトマターは微小な外力に対して大きな応答とゆらぎを示すため、これら非平衡の新理論を検証し応用する格好の舞台である。我々は、非線形系の非平衡定常状態に関して提案された Harada-Sasa 等式をコロイド粒子系に適用し、レーザーピンセットで粒子をドライブさせて非平衡定常状態を実現し、この関係が成立していることを実験的に検証した。さらに高分子溶液中のコロイド粒子系においてもこの関係式の成立を高精度で実証し、高分子溶液中のコロイドの運動が記憶効果を持つ一般化ランジュバン方程式で記述される実験的証拠を与えた。さらに、観測結果に関する情報をマイクロ系にフィードバックした場合に適用できる新しい関係式、一般化 Jarzynski 等式 (Sagawa, Ueda, 2009) を始めて実験で実現検証し、コロイド粒子を用いたマックスウェルの悪魔の実現として多くのメディアで紹介された。本課題は今後も別の形で継続の予定である。

2-3. 加振された粘塑性物質における対流現象の発見

我々は、特異なレオロジー特性を示す物質が非平衡条件下におかれた時に示す様々の不安定性にも着目した。ニュートン流体に関しては、Benard 対流や Faraday Wave など非平衡条件下で起こる不安定性とカオスや乱流への転移現象が研究され、非平衡統計力学のマクロ系への展開を促進し、乱流の起源に関しても新たな知見を提供してきた。一方、非ニュートン流体における非平衡現象の研究はまだ始まったばかりである。我々はジェルやペーストなどの流体であるが降伏応力を持つ粘塑性流体、サスペンションなどのダイラタンシー流体の不安定性を調べた。これらの物質に鉛直方向の振動を加えると、粘塑性流体では、振動加速度が閾値を超えると流動化し平板の上に自立した 2 本のロールパターンを形成し、内向きに回転

を始めるといふ新しいタイプの不安定性を見出した。また、スターチ類やガラスビーズの濃厚サスペンション (Dense Suspension または Wet Granular) は、外場や流動場の下で最初 Shear Thinning を起こし、高いシア状態では Shear Thickening を起こすことが知られているが、それに対応して様々の不安定現象が期待される。我々は、粉体粒子の粒径、液体の粘性、充填率などを変えて加振速度を変化させることにより流体界面に起こる新規の不安定性を発見した。界面に生じた穴が拡大する現象や穴が分裂、複製を繰り返す現象などについて、その全体像を明らかにした。本成果は一部発表済みであるが、他の一部は発表準備中である。

2-4. Directed Percolation 転移のユニバーサリティーの初の実験的検証

吸収状態がある系の相転移は、Directed Percolation (DP) と呼ばれ、非平衡系における相転移の普遍的なクラスとして知られており、物理・化学・生物等多くの分野で理論的研究が行われてきた。しかし、DP 転移の実験による十分な検証は存在しなかった。我々は、液晶中に生じる乱流・乱流転移が DP 転移と関わっていることを見出し、従来に比べ格段にシステムサイズが大きく統計性の高い実験を行い、12 個の臨界指数と8つのスケーリング関係式の全てが高精度で DP クラスに一致することを明らかにし、DP 転移が現実存在することを実証した。さらに、臨界点より上でレーザー照射により乱流核生成を誘起すると、乱流界面の広がり方は Kardar-Parisi-Zhang 方程式で予測されるスケーリングと、ゆらぎの普遍分布(ランダム行列の最大固有値分布)と一致することを発見した。流動によるトポロジカル欠陥の生成機構に関する研究は現在、発表準備中である。

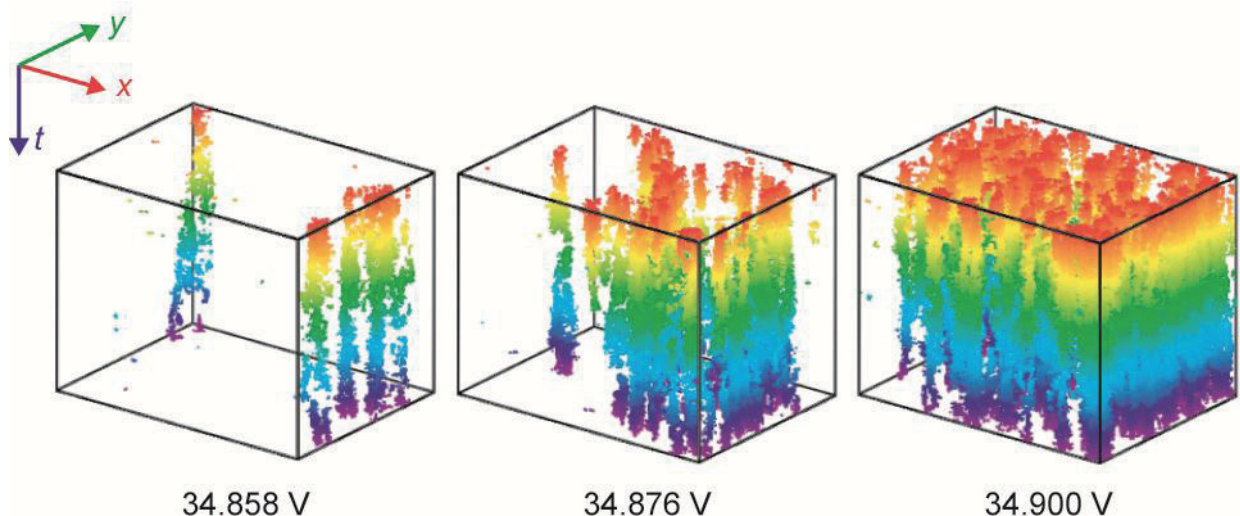


図3 液晶の乱流・乱流転移における Directed Percolation 転移の様子

2-5. 非平衡枯渇効果の発見と新しいマイクロマニピュレーションの提案

熱泳動による DNA 単分子の操作と引き伸ばし

非平衡クロス効果の一つである温度勾配中での物質の拡散(熱泳動: Thermophoresis)を利用して、単一分子 DNA を熱泳動により引き伸ばし、構造変化を引き起こすことができることを実証し、熱泳動によって DNA モノマーに働く力の測定を測定することに成功した。片端または両端を基盤に固定した DNA の近傍にレーザーを集光させ、基盤にレーザー光を吸収させることにより局所的に $1^{\circ}\text{C}/\mu\text{m}$ 程度の温度勾配を作る装置を実現した。その結果、コイ

ル状態にある λ DNA が全長の 1/2 程度まで伸張され、WLC モデルとの比較から熱泳動による力は 1 分子当たり 1~2pN と推定された。

非平衡枯渇効果の発見とコロイド粒子の新しい分子マニピュレーション法の提案

温度勾配下における物質の輸送は熱泳動現象またはソーレ効果として古くから知られているが、一般に温度勾配による輸送の向き（熱拡散係数の符号）やその強度を理論的に予測することは難しい。我々は、コロイド粒子の熱泳動現象に関して、溶液中に高分子（PEG）を添加することにより、熱拡散の強さを表す実効的ソーレ係数（ S_T^{eff} ）の大きさが加えた PEG の濃度に比例して変化すること、さらには本来、 $S_T^{eff} > 0$ であり低温側に泳動する物質でも PEG 濃度の増加により符号を変え、 $S_T^{eff} < 0$ となり高温側へと輸送されることを見出した。このことは、レーザー等で局所的に加熱することによりコロイド粒子をレーザーの焦点に集束可能であることを意味し、レーザーピンセットなどでは捕捉しにくい物体も捕捉、操作できる可能性を示唆している。実際に我々は、種々のビーズや DNA 分子、細胞などがこの手法で捕捉、操作できることを示し、新しい分子マニピュレーション法としての応用可能性を提案した。この現象のメカニズムを明らかにするため、実効的ソーレ係数のコロイド粒径に対する依存性を調べ、それが粒径に比例することを見出した。また、理論解析により粒子の界面近傍における高分子の枯渇効果（エントロピー効果）を解析した。温度勾配によって生じた高分子の濃度勾配によって生じる正味の枯渇力を計算したところ、浸透圧効果、平衡状態の枯渇効果は全て液体の静水圧によって相殺し、結果として枯渇力の接線成分が流体の運動を引き起こして粘性応力と釣り合うことによって粒子に運動量を与えるという描像を得た。この理論では、実効的なソーレ係数は、高分子濃度とコロイド粒径に比例することが導かれ、理論から予測される枯渇層の厚さも約 5 nm となり、使用した PEG の慣性半径とほぼ一致し、殆どの点で実験結果をうまく説明できることを明らかにした。

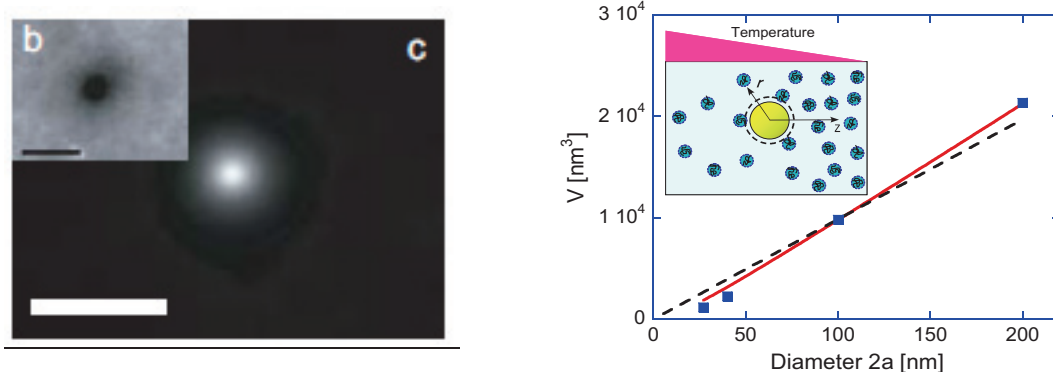


図4 (左) レーザーによる蛍光コロイド粒子の捕捉 (右) 実効的ソーレ係数の粒径依存性

<参考文献>

- [1] Y. Murayama, H. Wada and M. Sano, Europhys. Lett. 79, 58001 (2007), T. Ishii, *et al.*, Biochem. and Biophys. Res. Comm. 375, 586 (2008).
- [2] H.R. Jiang, H. Wada, N. Yoshinaga, and M. Sano, Phys. Rev. Lett 102, 208301 (2009), H.R. Jiang, N. Yoshinaga, M. Sano, Phys. Rev. Lett., Vol. 105, 268302 (2010).
- [3] K.A. Takeuchi, M. Kuroda, H. Chate, and M. Sano, Phys. Rev. E 80, 051116 (2009), K.A. Takeuchi and M. Sano, Phys. Rev. Lett. 104, 230601 (2010).