

令和元年6月11日現在

機関番号：34310

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2013～2017

課題番号：25103012

研究課題名(和文)時空間秩序の生成とその生命現象への展開

研究課題名(英文) Synergy of Fluctuation and Structure : Quest for Universal Laws in Non-Equilibrium Systems

研究代表者

吉川 研一 (Yoshikawa, Kenichi)

同志社大学・生命医科学部・教授

研究者番号：80110823

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 61,400,000円

研究成果の概要(和文)：生物、非生物の壁を乗り越え、非平衡ゆらぎから秩序の生成するシナリオを物理学的な視点で解明することを目指した。吉川グループでは、ゲノムサイズDNAの折り畳み相転移のダイナミクス、細胞サイズ微小空間の特異性、マイクロ・ナノシステムにおける化学運動のエネルギー変換系の課題で、独創性の高い研究成果が得られている。鶴山らのグループは、細胞内のシグナル情報伝達の定量的な評価において「ゆらぎの定理」を応用した情報熱力学の応用を試み貴重な成果が得られている。市川らのグループは、アクトミオシンで裏打ちされた、膜面が自己収縮するマイクロ液滴を創り出すなどの成果を挙げている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物には、これまでの人類の科学技術では実現が来ていない特質がある。近年、生物を構成している個々の分子の知見は急速に増大しているが、それが非平衡条件下でどのようなメカニズムで自己秩序を形成し生きている状態を維持しているのか、その根本の原理は未解明となっている。本研究では、実空間上のモデルと数理モデルを活用した研究を進める中で、化学エネルギーから仕事への効率的な変換を可能とするような実験系の構築に成功してきている。さらに、ゲノムDNAの高次構造転移の研究を通して、DNA上の多数の遺伝情報(たんぱく質の一次構造)から、各々の細胞が自律的な遺伝子群の発現を各々行っているその謎に迫ることもできている。

研究成果の概要(英文)：According to the principle of statistical thermodynamics, all of the existing order should be destroyed into disordered, random state with time. On the contrary, the nature in our world is creating spatio-temporal order spontaneously. The target of the present study was to shed light on the underlying mechanism of the self-emergent spatio-temporal order both for life and a life systems. The research group of Yoshikawa obtained fruitful results; 1) Clarification on the role of the transition of higher-structure of genomic DNA on the biological function. 2) Realization of the energy transduction of chemical onto mechanical motions under isothermal condition. 3) Discovery on the effect of crowding inner environment of living cells. Tusruyama successful propose a new mechanism on the signal transduction in living cells. Ichikawa reported novel reconstructed model on the self-motile living cell.

研究分野：生命物理学、非線形科学

キーワード：生命物理学 非平衡開放系 時空間秩序 ソフトマター 非線形ダイナミクス 非平衡ゆらぎ ゲノムDNA 病態の物理

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

遺伝子レベルでの生物学的知見の急激な増大によって、近年の生命科学は現象論から数式を織り交ぜた実体論に移行しつつある。しかし、時空間にわたる自己組織化など生命現象の本質に切り込むには学問的に未発展であり、**非平衡物理学の立場からの研究が必要不可欠**となっている。

2. 研究の目的

生命を散逸系における動的現象として捉え、生命システムの設計原理の究明を目指す。そのために、実空間上に単純な実験モデルを構築することにより、生命現象が示す時空間の自己組織化の本質に迫る。非平衡物理学や非線形科学の近年の発展に立脚し、縮約した数理モデルを取り上げ、実際の生命現象や実空間のモデルと対比しながら、研究を統一的に進め、生命体の時空間自己組織化の根源を捉えることのできるような方法論の構築を目指す。

3. 研究の方法

分子(ゲノム DNA)、細胞サイズ、マクロサイズ(多細胞~個体)の、各階層で体现する「**生物らしさ**」の特質を明らかにするため、実空間上のモデル系を構築する。これにより、現実の生物実験と数理モデル研究との間を繋ぎ、非線形・非平衡物理学の立場から本質・原理を抉り出す。1) 一分子観察手法と統計解析を組み合わせた実験と計算機シミュレーションの両面から研究を行い、クロマチン構造等の高次構造と機能発現を物理学的に解明する。2) 細胞レベルでは、実空間上でのモデル小胞系を構築、微小空間での細胞骨格やDNAなどの自己組織化、微小空間での遺伝子制御、細胞様の自律運動の再現を行う。3) 多細胞系では、組織形成における時空間秩序形成のモデル構築にも取り組む。制御が容易な cm スケールでの非平衡開放系でのモデル実験系の研究も行い、「自発的な動き」と等温下での「化学 運動エネルギー変換」を、非平衡開放系でのモデル実験や計算機実験・理論解析の統合的なアプローチにより解明する。

4. 研究成果

実空間上に人工的なモデルを構築し実験と進め得られた結果を、実際の生命体の構造や機能と対比することにより、生命現象における基本原理に迫ることを目的として研究を進めた。

吉川グループでは、1)「ゲノムサイズ DNA の折り畳み相転移のダイナミクス」の課題のもと、一分子 DNA 観察による高次構造転移計測を基軸とした、DNA の構造と活性の相関についての研究が大いに進展した。ルシフェラーゼアッセイによる遺伝子発現実験を *in vitro* で行った結果、スペルミジン, SPD(3+), スペルミン, SP(4+), とともに、低濃度条件下では遺伝子発現の促進、高濃度条件下では遺伝子発現の完全な阻害が認められた。ポリアミンは、細胞分裂が盛んな組織や癌などで、その濃度が顕著に増大することが知られていたが、この原因としては、今回の研究で明らかになった、遺伝子活性の促進効果に関係しているものと予想される。さらに、ゲノム DNA の高次構造転移は、遺伝子群の on/off 制御にも直接寄与しているものと考えられることから、今後この方向の研究を進展させることの意義は大きい。

2)「細胞サイズ微小空間の特異性」の課題についても、当初の予想を上回る成果が得られてきている。理論面からは、細胞サイズの混雑環境下では、膜の剛性が、細胞内顆粒の局在化に決定的な影響を与えており、硬い場合は内部の空間に、柔らかい場合は膜近傍に局在することが、ゆらぎ運動を取り入れたモデル計算により、明らかになってきている。また、2種の高分子混合系の相分離近傍では、細胞サイズの液滴が安定に存在し、かつ、DNA や actin などの生体高分子が液滴内に局在化することも実験的に明らかにしてきている。

3)「マイクロ・ナノシステムにおける化学 運動のエネルギー変換系」についても、順調に研究が進展してきている。定常的な可視レーザー照射下で、cm サイズの固形物体に規則的な振り子運動や一方方向の回転運動を引き

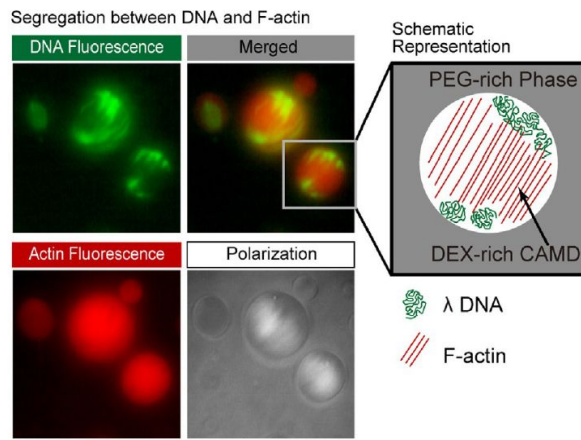
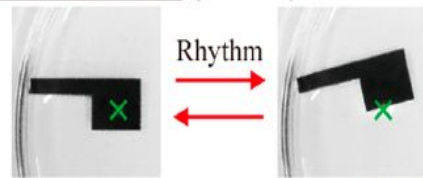


図1 水/水ミクロ相分離液滴に自発的に形成された細胞分裂期に対する類似構造。ゲノム DNA, actin 共存下で相分離が生じることにより創成する。(吉川ら、ChemBioChem 2018 のVIP paper)

Pendular motion (ca.3sec) × Laser spot



Rotary motion (ca.3sec)

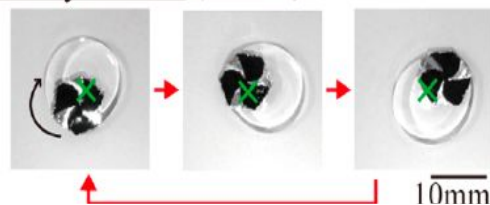


図2 レーザによる”振り子”、“自転”運動。(J.Phys.Chem.C 2018).

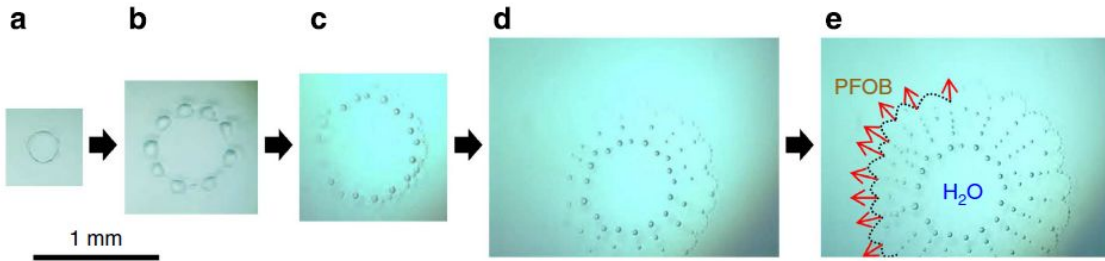


図3 PEOB 液滴の配列秩序構造の時間発展 (Nature Comm. 2015)

起こすことにも成功している。また、等温条件下化学反応により、並進や回転運動が発生する実験系の構築や、sub mm スケールで、一定の直流電場の下での、振動や回転（公転や自転）を引き起こさせることに成功している。非平衡条件下での油水界面での物質移動が駆動する液滴の上下運動が同調現象を示すことも報告している。臨界点近傍の組成の油水に成分流体にレーザ照射することにより、マイクロ液滴が連続的に生成する。この現象を、幾何学的に非対称な容器形状で観測することにより、一方方向の定常的な流体運動が生じる（光誘起流体ポンプ）も明らかにした⁹。また、液滴の2次元的な進展運動により、非平衡条件下、六方格子上の規則的なパターン自発的に生成する現象とその理論解析についての報告も行っている。（図3参照）ここで用いているフッ素系の油 perfluorooctyl bromide (PFOB)は、普通の油とは相分離するなど、化学的に特異な性質を示す物質として注目されている。弱揮発性の PEOB を水面上に滴下すると、水面上で薄膜を形成し、水面に対して PFOB が濡れた(wet)状態になる。徐々に PFOB が蒸発すると、突然薄膜上に空孔(hole)が現れ、その周りに液滴が自発的に配列する(pearling)する。空孔の成長に伴い、次の段階では、放射状に小滴群が1次元配列パターンを形成する。その後、この小滴群は全体として膨張・収縮を繰り返し、2次元のハチの巣構造(hexagonal)を形成するといった、時間発展が起こる。このような自発的な秩序と液滴の集団運動に関して、理論的な考察を行い、濡れ転移の非線形性を考慮することにより、このような規則構造の現れる機構を説明した。ここで、濡れ転移が、基本的には双安定性を示す現象であり、その速度過程は薄膜の厚み d の3次の非線形項で表されることが、理論モデルの骨格となっている。

鶴山らのグループは、細胞内のシグナル情報伝達の定量的な評価において「ゆらぎの定理」を応用した情報熱力学の応用を試みた。情報源符合化定理の関連として、与えられた符号長の範囲内で Tsallis エントロピーを最大化することにより、情報伝送容量を定式化することに一定の成功をおさめた。さらに、シグナル伝達カスケード(連鎖反応)は、リン酸化された活性化型、および非リン酸化型不活性化型を有する2種類のシグナル伝達分子タンパク質からなる二元符号システムと考えることに加え、「ゆらぎの定理」を適用し、生物学的シグナル伝達をエントロピー生成速度により定量的評価できることを示した。5年間の成果として、物理学の医学診断応用への理論的応用の枠組みを前進させたことが重要であると考えている。また、バンドパスフィルター効果の発見などこれまで知られていない新たな動力学的発見がなされた。さらに、鶴山らは生命現象や疾患からのアプローチで研究を行っている。ヒトの病理組織における質量分析イメージング法を応用し、細胞形態のゆらぎ解析を行った(図4)。皮膚病、心臓病、消化器病のリンパ球、肺癌細胞、心臓筋肉細胞の形態変化をそれぞれ定量的事で、疾患に特異的なバイオマーカーの同定を行っている。特に質量分析イメージング法と組み合わせた方法を確立した。

市川らのグループは、DNA封入リボソームの形成初期過程を、放射光X線回折によって高時間

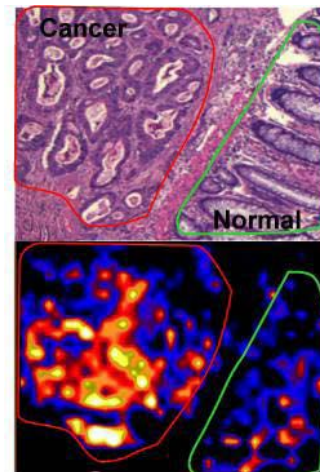


図4. がん細胞と正常細胞の質量分析イメージング。

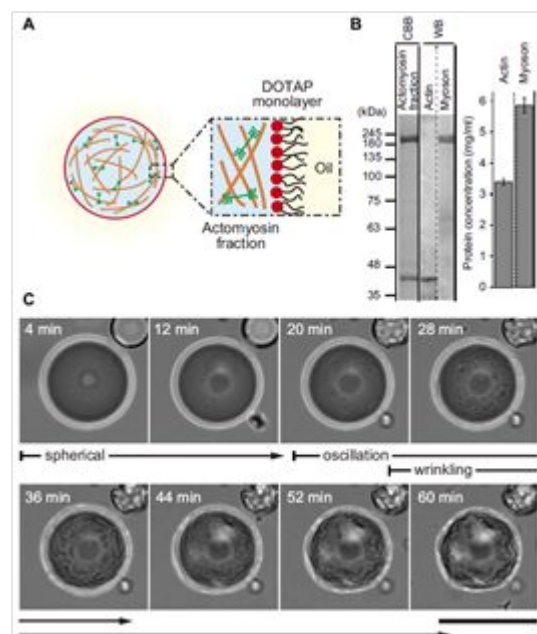


図5. 油中液滴内で駆動し、界面を激しく変形させている様子。(Sci.Rep.2016)

分解能で観察し、形成初期過程に粘弾性的な挙動を見られる事を明らかにした。動く人工細胞として、駆動するアクトミオシン溶液を封入する事で、膜表面を自発的に変形させる細胞サイズの液滴の作成に成功した。(図 5 参照)アクトミオシンが自発的に創り出す構造が生むアクティブなゆらぎや、収縮性のアクトミオシンコーテックスが見せる液滴の変形を研究した。*Amoeba proteus* から抽出したアクトミオシン溶液が激しく運動する事を報告している。このアクトミオシン溶液を脂質一分子膜で覆われた油中水滴に封入したときの液滴の変形を研究した。アクトミオシンと膜が静電結合する条件におく事で、アクトミオシンの運動が膜界面の運動や変形として顕れる事を期待した。その結果、時間と共に激しく界面がゆらぐ現象と、界面に出来たしわが時間と共に成長していく現象の、2つの興味深いダイナミクスが得られた。これらの性質を、ゆらぎのパワースペクトル解析や変形挙動の数値モデルを通じて明らかにした同様に、アクトミオシンで裏打ちされた、膜面が自己収縮するマイクロ液滴を創り出すと共に、両者の関係を明らかにした。また、微細系での運動変換についても研究を進め、対面電極間での液滴往復運動に電圧ゆらぎを印加し、コヒーレントレゾナンスを利用して振動領域を微細側に拡張できる事を示した。遊泳微生物テトラヒメナを自己推進物体として解析し、テトラヒメナが壁付近で見せる生態を流体力学的に解明した。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 86 件 ; 全て査読有) 以下 20 件のみ抜粋

- (1) A. Kanemura, Y. Yoshikawa, W. Fukuda, K. Tsumoto, T. Kenmotsu, K. Yoshikawa, Opposite effect of polyamines on in vitro gene expression: Enhancement at low concentrations but inhibition at high concentrations , PLOS ONE, 13, e0193595, 10.1371/journal.pone.0193595 (2018).
- (2) N. Nakatani, H. Sakuta, M. Hayashi, S. Tanaka, K. Taniguchi, K. Tsumoto, and K. Yoshikawa, Specific Spatial Localization of Actin and DNA in a Water/Water Microdroplet: Self-Emergence of a Cell-Like Structure, ChemBioChem, 19, 1370-1374, 10.1002/cbic.201800066 (2018).
- (3) Y. Harada, K. Koyoshi, H. Sakuta, K. Sadakane, T. Kenmotsu and K. Yoshikawa, Emergence of Pendular and Rotary Motions of a Centimeter-Sized Metallic Sheet under Stationary Photoirradiation, J. Phys. Chem. C, 122, 2747-2752, 10.1021/acs.jpcc.7b11123 (2018).
- (4) H. Sakuta, S. Seo, S. Kimura, M. Hoerning, K. Sadakane, T. Kenmotsu, M. Tanaka, and K. Yoshikawa, Optical Fluid Pump: Generation of Directional Flow via Microphase Segregation/Homogenization, J. Phys. Chem. Lett., 9, 5792, 10.1021/acs.jpcllett.8b01876 (2018).
- (5) T. Ohmura, Y. Nishigami, A. Taniguchi, S. Nonaka, J. Manabe, T. Ishikawa, and M. Ichikawa, Simple mechanosense and response of cilia motion reveal the intrinsic habits of ciliates, Proc. Natl. Acad. USA, 115, 3231, 10.1073/pnas.1718294115 (2018).
- (6) T. Tsuruyama, Information Thermodynamics of the Cell Signal Transduction as a Szilard Engine, Entropy, 20, 145, 10.3390/e20040224 (2018).
- (7) C.-Ya. Shew, S. Oda and K. Yoshikawa, Localization switching of a large object in a crowded cavity: A rigid/soft object prefers surface/inner positioning, J. Chem. Phys., 147, 204901, 10.1063/1.5000762 (2017).
- (8) K. Tsumoto and K. Yoshikawa, The Aqueous Two Phase System (ATPS) Deserves Plausible Real-World Modeling for the Structure and Function of Living Cells, MRS Advances, 2, 2407, 10.1557/adv.2017.358 (2017).
- (9) Y. Chen, K. Sadakane, H. Sakuta, C. Yao and K. Yoshikawa, Spontaneous Oscillations and Synchronization of Active Droplets on a Water Surface via Marangoni Convection, Langmuir, 33, 12362, 10.1021/acs.langmuir.7b03061 (2017).
- (10) M. Noda, Y. Ma, Y. Yoshikawa, T. Imanaka, T. Mori, M. Furuta, T. Tsuruyama, K. Yoshikawa, A single-molecule assessment of the protective effect of DMSO against DNA double-strand breaks induced by photo- and γ -ray-irradiation, and freezing, Sci. Rep., 7, e8557, 10.1038/s41598-017-08894-y (2017).
- (11) H. Ito, M. Makuta, Y. Nishigami, M. Ichikawa, Active Materials Integrated with Actomyosin, J. Phys. Soc. Jpn., 86, 101001, 10.7566/JPSJ.86.101001 (2017).
- (12) T. Tsuruyama, Channel Capacity of Coding System on Tsallis Entropy and q-Statistics, Entropy, 19, 682, e19120682, 10.3390/e19120682 (2017).
- (13) T. Kurimura and M. Ichikawa, Noise-supported actuator: Coherent resonance in the oscillations of a micrometer-sized object under a direct current-voltage, Appl. Phys. Lett. 108, 144101, 10.1063/1.4945726 (2016).
- (14) S. F. Shimobayashi, M. Hishida, T. Kurimura and M. Ichikawa, Nanoscale hydration dynamics of DNA-lipid blend dry films: DNA-size dependency, Phys. Chem. Chem. Phys., 18, 31664, 10.1039/C6CP06305E (2016).

- (15) Y. Nishigami, H. Ito, S. Sonobe and M. Ichikawa, Non-periodic oscillatory deformation of an actomyosin microdroplet encapsulated within a lipid interface, *Sci. Rep.* 6, 18964, 10.1038/srep18964 (2016).
- (16) D. Yamamoto, T. Takada, M. Tachibana, Y. Iijima, A. Shioi and K. Yoshikawa, Micromotors working in water through artificial aerobic metabolism, *Nanoscale*, 7, 13186, 10.1039/C5NR03300D (2015).
- (17) D. Yamamoto, C. Nakajima, A. Shioi, M.-P. Krafft and K. Yoshikawa, The evolution of spatial ordering of oil drops fast spreading on a water surface, *Nature Commun.*, 6, 7189, 10.1038/ncomms8189 (2015).
- (18) H. Ueno, T. Tsuruyama, B. Nowakowski, J. Gorecki, K. Yoshikawa, Discrimination of time-dependent inflow properties with a cooperative dynamical system, *Chaos*. 25, 103115, 10.1063/1.4931799 (2015).
- (19) H. Ito, Y. Nishigami, S. Sonobe, and M. Ichikawa, Wrinkling of a spherical lipid interface induced by actomyosin cortex, *Phys. Rev. E*, 92, 062711, 10.1103/PhysRevE.92.062711 (2015).
- (20) T. Kurimura, M. Ichikawa, M. Takinoue, and K. Yoshikawa, Back-and-forth micromotion of aqueous droplets in a dc electric field, *Phys. Rev. E* 88, 042918, 10.1103/PhysRevE.88.042918 (2013).

〔学会発表〕(計 85 件) 国際学会 Plenary および invited のみ抜粋
2017

Keynote/Plenary

*K. Yoshikawa, Playing with Crowding: Creation of Cell-Mimicking Structure & Function, First International Symposium on Chemistry for Multimolecular Crowding Biosystems (CMCB2017) (Dec. 12-13, 2017), Kobe, Japan.

Keynote/Plenary

*K. Yoshikawa, How to Bridge the Gap between Life and Matter, Italy meets Asia: Scientific Venue in Kyoto 2017 (Nov. 11, 2017), Kyoto, Japan.

Invited

*K. Yoshikawa, Emergence of Cell-Like Structure & Function under Crowding Condition, International Conference: The Origin of Life (May 29-30, 2017), Tokyo, Japan.

2016

Invited

*T. Ohmura, Yukinori Nishigami, Masatoshi Ichikawa, Jun-ichi Manabe and Takuji Ishikawa, Hydrodynamics of ciliates swimming on wall, Workshop on Micro-Organisms in Stokes Flows (Aug. 31, 2016), Okayama, Japan.

Invited

*K. Yoshikawa, Physics of Life, Kyoto Winter School “From Materials to Life: Multidisciplinary Challenges” (Feb. 15-26, 2016), Kyoto, Japan.

2015

Invited

*K. Yoshikawa, Extending Physics through the Exotic Event in Life: Simple Theory and Real-World Modeling, YITP International Workshop: Biological & Medical Science based on Physics: Radiation and physics, Physics on medical science, Modeling for biological system (Nov. 5-7, 2015), Kyoto, Japan.

2014

Invited

*K. Yoshikawa, A working hypothesis on the self-control of whole genome, Stem Cells and Devices International SPIRITS Symposium (Oct. 2, 2014), Kyoto, Japan.

Invited

*K. Yoshikawa, Phase-transition of genomic DNA, Graduate School of Biostudies & iCeMS Joint Symposium (Sep. 22, 2014), Kyoto University iCeMS.

Invited

*K. Yoshikawa, Real-world Modeling of Living System with Surfactant: Self-organized Structure and Dynamic Function, 20th International Symposium on Surfactants in Solution (Jun. 22-27, 2014), Coimbra, Portugal.

Invited

*T. Tsuruyama, Application of Biophysical Approach for Pathological Diagnosis: Mass Spectrometry-Imaging., 8th IUPAP International Conference on Biological Physics (ICBP2014) (Jun. 18-22, 2014), Beijing, China.

Invited

*K.Yoshikawa, Unveiling Intrinsic Characteristics of Genomic DNA, SPIRITS Symposium “Novel, Integrated Clinicopathologic Diagnosis of Cancer based on Physical Readouts” (Mar. 18, 2014), Kyoto, Japan.

2013

Invited

*K.Yoshikawa, Phase Transition on Genomic DNA: Its Physics & Biological Significance, German Science Day (Oct. 26, 2013), Kyoto, Japan.

Invited

*K.Yoshikawa, Specificity of Cell-Sized Confinement, International Workshop “From Soft Matter to Protocell” (Sep. 18-20, 2013), Sendai, Japan.

Invited

*K.Yoshikawa, How does the higher-order structure of DNA concern with genetic functions? 20th International Conference on Medical Physics (ICMP) (Sep. 1-4, 2013), Brighton, UK.

〔産業財産権〕

出願状況（計8件）：1件のみ抜粋

名称：病態診断支援システムおよび病態診断支援方法

発明者：吉川研一 他5名

権利者：同志社大学

種類：特願

番号：2016-145435

出願年：2016

国内外の別：日本

取得状況（計4件）：1件のみ抜粋

名称：耐熱性が向上した易熱変性物質内包リポソーム、及び複数のリポソームを内包する保護カプセル

発明者：市川正敏、吉川研一

権利者：株式会社ピカソ美化学研究所、国立大学法人京都大学

種類：特願

番号：ZL201310430679.3

取得年：2018

国内外の別：外国(中国)

〔その他〕

ホームページ <http://dmpl.doshisha.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：鶴山 竜昭

ローマ字氏名：Tatsuaki Tsuruyama

所属研究機関名：京都大学

部局名：医学研究科

職名：特定教授

研究者番号（8桁）：00303842

研究分担者氏名：市川 正敏

ローマ字氏名：Masatoshi Ichikawa

所属研究機関名：京都大学

部局名：理学研究科

職名：講師

研究者番号（8桁）：40403919