

「重点研究テーマ」

情報生物学の構成的展開 理工学研究科 教授 中林誠一郎

1 研究の目的

本重点研究の趣旨は、高度な化学機構である生理現象を再構成して、物理化学的に理解することにある。生理現象を、界面、非線形、顕微光化学をキーワードとして、解明するべく努めた。20世紀に長足に発展した溶液や気相の化学素過程の研究では、例えば、生体膜上の高選択高効率な多体反応を射程に入れることはできない。生体を、精密な化学機械と見立てると、一見緩やかな規則が、集団としての高い機能を、しかも外界からの擾乱に対して頑丈に、作り上げている事実が驚く。半導体デバイスの性能が、恐ろしいまでの結晶の完全性に支配されている事と、驚くほどの対比がある。本研究では、冗長性を許しながら精緻な規則が組みあがる機構の解明に努めた。

この目的を果たすため、4つのサブテーマを設定した。テーマ1では、生理機能発現の要となる非線形ネットワークを、素性の判った電気化学振動子で置き換え、構成的にエミュレートする。テーマ2では、細胞性粘菌のクラスター化を、細胞内生理機構を、Black Box化したまま、顕微蛍光法により、熱力学的に考察した。テーマ3では、機能性 q-dot の合成と、生理機能のプロブを目指した。テーマ4では、固液界面にナノ反応場を組み、閉じこめられたナノ反応系への展開を模索した。

2 非線形電気化学振動子による生理機能の再構成

生体に見られる自己組織化的な時空間パターンの形成、具体的には、蠕動運動や心拍動あるいは、組織や器官の形態形成は、これらに關与する生化学反応の非線形性が原因となっている。我々の身体を含む生物系の不随運動を支配する神経系の振る舞いは、特徴的な非線形性を有する一連の微分方程式群；Hodgkin-Huxley 式によって記述される。この微分方程式は、拍動のような規則正しい非線形波動を生ずる「振動解」だけでなく、外部から信号が加わったときに一過的な信号を生み出す「興奮解」、あるいは、一見ランダムな信号を発生させる「カオス解」を有する。これら、振動、興奮、カオスが適時組み合わせられて、外部擾乱に対して堅牢な生体回路が構成される。これら天然の生体回路の、動作状態は、カルシウムイオン濃度の時空間変化を蛍光プローブ色素（フルオ2）で可視化した生体標本の蛍光顕微鏡観察から求めることができる。

一方、人工系では、研究代表者が手がける非線形電気化学振動子の電流発振の時系列が、天然系の Hodgkin-Huxley 式と数理的に等価であることが判っている。非線形電気化学振動子は、電極電位を、ある規則に従って設定することにより、振動状態、興奮状態およびカオスを選択的に発生させることができる。本研究では、30-100 個の非線形電気化学振動子を、同一電解液の中に配列し、振動子の空間配置と、各振動子の電位設定を工夫して、生体回路と等価な振る舞いを示す非線形振動子集団を構成する。そして、人工系と天然系を比較することにより、生体回路の外部損傷に対する堅牢性や、高度な秩序の発生起源を明らかにした。本研究では、腎盂組織を、再構成の標的とした。腎盂は、腎臓と膀胱をつなぐ尿管の上流に位置する組織であり、尿の輸送を司る蠕動運動をおこなうポンプ機能を持った組織である。ラットから取り出した腎盂を、生理条件下で染色し、その収縮運動を、カルシウム波動の蛍光顕微鏡観察から求めた。腎盂本体は、収縮運動をおこなう平滑筋細胞からできているが、腎臓との接合部では、腎細胞と平滑筋細胞とが混じり合う境界領域がある。腎盂は、腎臓を上流とした漏斗型をしていて、上流から下流へ向かうカルシウム波動が伝播し、このカルシウム濃度上昇が誘起する蠕動運動によって尿が押し出される。生理学的な興味は、カルシウム波動の生成機構に集中し、蛍光を用いた可視化技術や電気生理学的な手法で、カルシウム波動を制御するペースメーカー部位の特定に研究が集

中してきた。現状では、(1) 上流部に人為的な「ひっかき傷」などの欠損が生じても、その直下の部位から新たな波動が生成して、欠損を補償する堅牢な回路構成を有していること。(2) 上流の欠損に伴い、発生点が降下するにつれて、カルシウム波動の振動数が減少すること。(3) 特定の生理的なペースメーカー回路は発見されていないこと。以上(1) - (3)の事実が知られている。本研究では、鉄非線形電気化学振動子を9個菱形に配置した振動子集団によって上記(1) - (3)の生理的観察結果を、人工系で再構成することができた。

3 単一細胞（細胞性粘菌）の分光熱力学

バクテリアなどの単一生細胞は、定められた場所で、数多くの化学反応が、時々刻々進行して生命機能を維持・発現している。本研究では、細胞を、化学的に制御された精密機械と考える。細胞性粘菌を対象として、生きたままの状態、レーザー顕微分光の手法で、細胞生命機能（おもにエネルギー代謝）の維持・発現の解明を目指した。単一細胞レベルの代謝指標であるミトコンドリア中の NADH 量を、励起状態の NADH 由来の蛍光量の変化から測定した。蛍光変化は、注目細胞の運動・静止により変化した。また、ATP 合成生理回路の中で、NADH の生成と分解を促す薬剤 NaCN と Carbonyl cyanide p-trifluoromethoxyphenylhydrazone (FCCP) を、それぞれを細胞に添加すると、蛍光強度の増減が観測された。以上のことから、定常光照射による顕微蛍光測定は、単一細胞ミトコンドリア内の NADH 量を正しくモニターしていると言える。細胞性粘菌は、飢餓状態におかれると、それまで孤立してバラバラに動いていた細胞が、突然、特定方向に移動を始め、多細胞化し凝集体を作る。飢餓が誘起する多細胞化は、細胞性粘菌に特徴的な振る舞いであり、以前からよく知られている。飢餓状態の細胞性粘菌は、C-AMP を放出し、自らの存在を、他の孤立細胞に知らせる。孤立細胞は、誘因分子である C-AMP の濃度勾配を遡る運動をおこない、凝集体が完成する。本研究では、この細胞凝集が、単一細胞当たりのエネルギー代謝を減少させ、生存を担保する合目的性を持っていると推定した。さらに、孤立単細胞が、多細胞状態に転移する現象は、生命進化の初期過程の重要な状態変化「真核多細胞生物の出現」に関わりがある。つまり、細胞性粘菌の単細胞・多細胞転移に伴う生体エネルギー変化を明らかにできれば、細胞性粘菌に固有な知見を得ると同時に、広く、生命進化の初期過程の駆動力を解明するヒントが掴めると期待して研究を進めて来た。細胞性粘菌は、劇的な単細胞多細胞転移をおこし、かつ、光学的に透明な実験生物であり、顕微レーザー分光が有効に機能する研究対象と言える。

4 光反応型量子ドットによる細胞制御

半導体微粒子は、その光励起状態で、極めて活性の高い電子・正孔対を生成する。この事は、光触媒など環境浄化材料として広く利用されている。また、粒径の制御された半導体微粒子は、生体イメージング研究において、光退色のない蛍光プローブとして注目を集めている。生体イメージング用半導体微粒子は、その周囲を絶縁層で覆い、光生成した電子正孔対の分離を抑制して、再結合確率を高める設計となっている。半導体量子ドットを発光材料として生体研究に応用する事は、半導体量子ドットの持つ片方の機能だけしか利用していない。つまり、現在利用されていない電子正孔対の高い反応性に着目すれば、多くの生理活性分子を光放出する機能を発現できるし、あるいは、光発生した電子や正孔を直接生体に送り込み、生体内で酸化還元反応を光駆動することも可能である。本研究では、単分散半導体ナノ微粒子の合成手法を確立した。あらかじめ大きさを制御した逆ミセル内の液相部分で無機化学的に、大きさの揃った半導体量子ドットを合成できた。具体的には、CdSe, CdS あるいは、CdSe/ZnSe のコアシェル型半導体量子ドットに関して、逆ミセル合成法の成功を確認した。逆ミセル内に合成された量子ドットは、量子サイズ効果によって、その粒子の大きさにより光吸収波長と蛍光波長を制御できる（粒子径が大きくなるほど、両者とも長波長シフトする）。

Spiropyran は、紫外線照射によって、螺旋環状 (Spiro, SO) 構造から直鎖 (Merocyanine, MS) 型へ分子骨格が変化し、500-600nm の光を吸収する。一方、 ナノメータサイズで

大きさの揃った半導体微結晶を合成すると、結晶が成長するとともに発光波長が青から赤へ変化する。直径を 6nm にそろえた、ZnSe に Mn^{2+} をドーピングすると、2色の発光が得られる。450nm の発光は ZnSe 中の励起子再結合発光でピコ秒の寿命を持つ。550-600nm の発光は、励起子から Mn^{2+} へ共鳴エネルギー移動(FRET)が起こり、 ${}^4T_1 \Rightarrow {}^6A_1$ の光学遷移が禁制であるから、寿命が 10^9 倍に伸び 1 ms となる。 Mn^{2+} からの発光スペクトルは、MS 分子の吸収と一致するので、 $Mn^{2+} \Rightarrow MS$ の FRET が起こり、650nm に寿命 0.1ms の発光が観察される。すなわち、[ZnSe;Mn—SO/MS]超分子は、2回の分子内 FRET (共鳴エネルギー移動) と、1回の SO \rightleftharpoons MS 分子構造変化で、3波長の発光 (発光) を観測できる世界で唯一の超分子プローブである。[ZnSe;Mn—SO/MS]の発光相関を測定すると、超分子が置かれている空間の非等方性を直接明らかにできる。450nm の発光は ZnSe の励起子再結合発光であり、この発光相関は、流体力学的直径約 10nm の超分子の移動 (マクロ拡散) の容易さの指標を与える。650nm の発光相関は、スピロピラン分子構造変化の起こりやすさ、すなわち、分子レベルでの隙間 (マイクロ拡散) の指標を与える。当局的な液体中では、マイクロ拡散とマクロ拡散は一致する。しかし、非等法的な場では異なる。「3 畳間」がデタラメに連結された空間を考える。部屋から部屋への移動は、ふすまの開け閉め等で時間が掛かる (マクロ拡散)。しかし、同一部屋内での屈伸運動は、何にも傷害されない (マイクロ拡散)。このように、[ZnSe;Mn—SO/MS]超分子は、大振幅自由度と、小振幅自由度を切り分けて観測できる新規分子プローブである。本共同研究では、埼玉大学で開発された[ZnSe;Mn—SO/MS]超分子を細胞性粘菌中に入れ、共焦点レーザー顕微鏡を改造した発光相関分光測定装置を用いて、アメーバの運動を支配する重合解重合モーター (粘性モーター) の分子論的な機構を明らかにしつつある。

5 分散力が支配する新規界面反応場の探索

液体と接した固体表面で van der Waals 力が支配する 1-100nm の長距離域では、様々なナノ構造が出現する。1-100nm の長距離域の構造は、固体表面直上で強い相互作用が支配する表面構造とは異なる。本研究では Au(111)面を、窒素で飽和された水に漬けた。窒素飽和水中で、界面に与える探針の力学的摂動をできる限り低減し Au(111)清浄界面を見ると、高さ 1 nm、幅 10nm の微小構造がランダムに表面を覆っていた。脱気水では、この構造は見えない。位相イメージから、観測された微小構造は極めて柔らかく、フォース解析からも、この結論は支持された。気体飽和水と接した界面でだけ観測されるナノ構造は、溶存気体を主成分とする微小気泡 (ナノ気泡) である。ナノ気泡は、今世紀初頭に存在が示された新規な研究対象である。その後、中性子散乱実験から、固液界面 50nm 域で、水分子密度の減少が報告され、気泡存在と調和する。流体力学では、固液界面での面内流体速度はゼロとなるが、界面選択的な運動解析から、面内速度は有限の値を持つことが明らかになった。MCM-41(シリカの配列ナノ細孔)のナノメートル径細孔中でも、細孔内の流体の移動が明らかとなっている。これらの事実は、溶液と接した固体表面にスリップ層が存在することを支持し、古典流体力学の固定壁境界条件が実在系では破綻している事を意味する。固定壁境界条件の破綻は、固液界面の微小気泡の存在を考慮すると合理的に解消できる。

異相界面の 1-100nm 域の特異性は、生体膜を貫通するタンパク質チャンネル内でも観測される。大腸菌の細胞膜を貫通するチャンネル蛋白 Aquaporin 内孔は、疎水性壁で囲まれた微小空間である。タンパク質疎水壁と水との界面エネルギーは大きい。細孔内に閉じこめられた水体积は小さいので、微小空間の液体の水が、気体に変化する際のエネルギーは小さい。微小空間内の水が気化する体積エネルギー損と、疎水壁が水蒸気と接して得られる界面エネルギー利得が、熱エネルギー (kT) 程度でバランスする。この時、Aquaporin 内孔の水は、液相 \rightleftharpoons 気相を揺らぐ特異な状況となる。閉じこめられた空間での気液揺らぎを考慮すると、膜貫通蛋白 Aquaporin を介した、電気生理的なイオン輸送の時系列がよく説明される。このように、疎水固体壁と溶液との接合は、

表面直上の強い相互作用だけを考えるのではなく、1-100nm の長距離域に、真空表面とは決定的に異なる特異な振る舞いがある。この長距離相互作用は、おもに分散力により支配され、自然界に広汎に認められる諸現象を、合理的に理解できる。水中に、ブタンガスを溶かすと Si(100)上に、ブタンのナノ液滴が発生した。分極性固体上のナノ液滴は、水中における新規なナノ疎水反応場を提供する。従来、ミセルやベシクルなどの水中の疎水反応場の重要性が、分子進化との関連で、指摘されているが、界面活性分子濃度が臨界ミセル濃度を越える以前に、固体と液体界面の微小有機液滴が分子進化の場を与えていたのではないかと思われる。

6 論文発表

1. V. Moshnyaga, A. Giske and K Samwer, E. Mishina, T. Tamura, and **S.Nakabayashi**, A. Belenchuk, O. Shapoval, and L. Kulyuk "Giant negative photoconductivity in $\text{La}_{0.7}\text{Ca}_{0.3}\text{MnO}_3$ thin films," J.Appl.Phys. 95, 7360-7362 (2004).
2. H.Hosoda, H.Mori, N.Sogoshi, A.Nagasawa and **S.Nakabayashi** "Refractive Indices of Water and Aqueous Electrolyte Solutions under High Magnetic Fields" J.Phys.Chem.A 108,1461-1464(2004).
3. Antonis Karantonis, Michael Pagitsas, Yasuyuki Miyakita and **Seiichiro Nakabayashi** "In-phase, anti-phase and fractured synchrony in ring networks of coupled relaxation electrochemical oscillators" J.Phys.Chem.B., 108 5836-5846 (2004).
4. E. Mishina, T. Tamura, H. Sakaguchi, L.Kulyuk, **S.Nakabayashi** "Photoluminescence studies of oligothiophene self-assembled monolayers at low excitation energy " J. Chem. Phys., 120,9763 -9768(2004).
5. Kazutoshi Kitajima, Toma Fujita, Norihito Sogoshi, **Seiichiro Nakabayashi**, "Synthesis of Magnetic Composite Particles of $\text{g-Fe}_2\text{O}_3@/\text{SiO}_2$ and the Control of the Structural Color of the Colloidal Crystal by Magnetic Fields" ChemLett.1106-1107 (2004)
6. Nobuko Tanimura, **Seiichiro Nakabayashi**, Toshikazu Yamashita, Shinichiro Kokubunn, "Femtosecond Pulsed Laser Induces an Intracellular Ca^{2+} Transient and Its Intracellular Propagation in the Human Submandibular Duct Cell Line A253" IEE Japan, MAG-04-124, 35-39 (2004).
7. Elena D. Mishina, Vladimir I. Stadnichuk, Alexandr S. Sigov, Yuriy I. Golovko, Vladimir M. Mukhorotov, **Seiichiro Nakabayashi**, Hideki Masuda, Daisuke Hashizume, Aiko Nakao, "Ferroelectric nano-structure sputtered an alumina membranes" Physica E, 25, 35-41 (2004).
8. Elena D.Mishina, Galina A. Tsirlina, Elena V. Timofeeva, Nataliya E. Sherstyuk, Marina I.Borzenko, NobukoTanimura, **Seiichiro Nakabayashi**, Oleg A. Petrii "Adlayers of Keggin type polytungstate anions on platinum: electrochemically invisible being' and manifestations of 'molecular upd'" J. Phys. Chem. B (2004) 108, 17096-17105.
9. Yasuyuki Miyakita , **Seiichiro Nakabayashi**, Antonis Karantonis "Spatiotemporal Coding in an Electrochemical Oscillator Network" Phys.Rev.E, 71, 056207 1-9(2005).
10. Masayoshi Fujita, Yasuyuki Miyakita, Norihito Sogoshi, **Seiichiro Nakabayashi**, Masahiko Ishii "Electrochemical Deposition of Stacked Layers of $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Cu}/\text{Cu}_2\text{O}$ and Rendering of Structural Colors" Trans. Mat. Res. Soc. Jpn. 30(4), 1041-1044 (2005).
11. Yuhei Terui, Masayoshi Fujita, Yasuyuki Miyakita, Norihito Sogoshi, and **Seiichiro Nakabayashi** "Photoluminescence of Electrochemically-Deposited Granular Cu_2O Films" Trans. Mat. Res. Soc. Jpn. 30(4), 1049-1052 (2005).
12. Antonis Karantonis, Michael Pagitas, Yasuyuki Miyakita, **Seiichiro Nakabayashi** "Manipulation of Spatio-temporal Patterns in Networks of Relaxation Electrochemical Oscillators" Electrochem. Acta., 50, 5056 (2005).
13. Antonis Karantonis, Michael Pagitas, Yasuyuki Miyakita, **Seiichiro Nakabayashi** "Synchronization Phenomena in Networks of Coupled Relaxation Electrochemical Oscillators". Journal of Bifurcation and Chaos 16, 1951-1960 (2006)
14. S.Nakabayashi, N.Tanimura, Y.Miyakita. S.kokubun and T.Yamashita "Constitutive chemical biology; Reconstruction of inter-cellular Ca^{2+} ; transience by non-linear

- oscillators” ProcSPIE 6376, 637605 (2006)
15. S.Nakabayashi N.Tanimura, T.Yamashita and S.Kokubun “Constitutive chemical biology” invited article IEICE Transactions on Electronics, E90-c, 116-119 (2007).
 16. S.Nakabayashi and N.Kameda “Quasi-anisotropic Magnetic Field Effect on Protoplasmic Streaming of Chara Braunii” J.J.Appl.Phys. 46, L417-419(2007).
 17. Yuhki Abe and Seiichiro Nakabayashi “Partial Quenching of Sonoluminescence by Monoatomic Gases” Chem.Lett. 36, 836-837 (2007)
 18. 曾越宣仁、中林誠一郎 “磁性コロイド粒子からなるコロイド結晶の光学特性” 高分子論文集 64、355-360 (2007) .
 19. Saim M.Emin, Ceco.D.Dushkin, Seiichiro Nakabayashi, and Eiki Adachi “Growth kinetics CdSe nanoparticles using bis(trimethylsilyl) selenium precursor” Central European Journal of Chemistry, 5, 590-604 (2007).
 20. Naoki Kameda and Seiichiro Nakabayashi “Shape Dynamics of Nanobubbles Located on Bunched and Wide Terraces at HOPG/Water-Ethanol Interface” J.J.Appl.Phys. 47,1065-1067(2008).
 21. Naoki Kameda, Norihito Sogoshi and Seiichiro Nakabayashi “Nitrogen nanobubbles and butane nanodroplets at Si(100)” Surface Science, 602, 1579-7584 (2008).
 22. Naoki Kameda and Seiichiro Nakabayashi “Size induced line tension inversion of bubble confined at solid/liquid interface” Chem.Phys.Lett., 468,122-126 (2008).

7 雑文

1. 中林誠一郎、宮北 康之, Antonis Karantonis “電極表面の非線形現象” 表面化学 25 104-109 (2004)
2. S.Nakabayashi and N.Sogoshi “Refractive Indices of Water and Aqueous Electrolyte Solutions under High Magnetic Fields” in “Materials Processing in Magnetic Fields” p.115-123, Edited by H.Wada and H.J.Schneider-Muntau, World Scientific (2005).
3. 曾越宣仁、中林 誠一郎、”強磁場下での水の溶液物性と電気化学”, Electrochemistry 73, 445-449 (2005) .
4. S.Nakabayashi and N.Sogoshi “Magnetic Field Effects on Optical Properties of Water and Aqueous Solutions” in Magneto-Science p310-317 Eds. Y.Tanimoto and M.Taniguchi, 310-317 Series in material Sciences 89 (2006).
5. 中林誠一郎、曾越宣仁、“水と強磁場との相互作用；屈折率に見る水素結合ネットワークへの磁場効果” 化学と教育 54、8-11 (2006) .
6. 中林 誠一郎 “他人の芝生” 日本生理学会 巻頭言 12, 1 (2006).
7. 中林 誠一郎 “固液界面の反応速度論” 表面物性ハンドブック、小間篤、八木克道、塚田捷、青野正和 (編) 丸善. (2007)
8. 中林誠一郎、“連成非線形電気化学振動子” 自己組織化ハンドブック NTS 出版 監修 国武豊喜 6・2章 (2008) .