

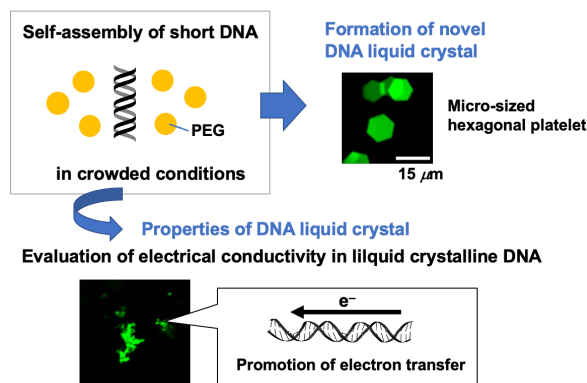
Accounts of Materials & Surface Research

Various Forms of Self-Assembled DNA and Their Properties

Tetsunao Makino and Makiko Tanaka*

Department of Engineering Science, Graduate School of Informatics and Engineering, The University of Electro-Communications, 1-5-1 Chofugaoka, Chofu, Tokyo 182-8585 Japan
makiko.tanaka@uec.ac.jp

A crowded conditions often causes phase separation of biomolecules. For example, double-stranded DNA (dsDNA) can be packed into a liquid crystalline phase by high concentrations of coexisting molecules. In *in vitro* experiments, dsDNA liquid crystals were formed by adding polymer in aqueous-salt buffer solution. Here we report the observation of a novel DNA liquid crystal formed under aqueous-salt poly(ethylene glycol) (PEG) solution. Independent micro-sized hexagonal platelet was built from one pair of short dsDNA and clearly observed even by ordinary optical microscopy. Each DNA strand has complementary overhangs promote stacking between the dsDNAs in the liquid crystalline phase through hydrogen bonding of base pairs. Parallel alignments of short dsDNA in the condensed hexagonal platelet were strongly suggested by polarization microscopy observation. The formation of the hexagonal DNA was highly dependent on the sequence and concentrations of DNA and PEG in solution. On the other hand, from the viewpoint of application to materials, the electrical conductivity of dsDNA has been investigated for decades. Our group have studied the efficiency of DNA-mediated electron-transfer (ET) in cholesteric liquid crystalline DNA using a chromophore-modified oligonucleotide in aqueous-salt PEG solution. Phase transition between cholesteric and columnar hexagonal DNA liquid crystals readily occurs because of changes in the twisting of packed dsDNA. DNA-mediated ET efficiency was highly promoted in a cholesteric liquid crystalline DNA. Various forms of self-assembled DNA liquid crystals would have great potential for future biomedical device development.



Keyword: DNA, electron transfer, condensation, liquid crystal, self-assembly

Tetsunao Makino received his BS degree (2022) from the University of Electro-Communications under the supervision of Prof. Makiko Tanaka. He is currently carrying out his master's studies in the same group.



Makiko Tanaka graduated from Osaka University in 2002 and received Ph.D from Osaka University in 2007. After working in Osaka University, California Institute of Technology, Nihon University, and Tsukuba University, she joined to the University of Electro-Communications in 2016. Since 2021, she is an associate professor of the University of Electro-Communications. Her research interests are DNA as a soft material and its biological functions.



自己集積する DNA の多様な形態とその特性

牧野 哲直、田仲 真紀子*

電気通信大学 情報理工学研究科 基盤理工学専攻

1. はじめに

生命の遺伝情報を保持する DNA は、生物学者だけでなく化学者にとっても非常に魅力的な研究対象であり続けてきた。DNA の B 型二重らせん構造の整然とした核酸塩基の積層は、効率的に電子を長距離移動させる媒体としての可能性が期待され、DNA 内長距離電子移動の実現の可否を巡って、1990 年代から 2000 年代初頭にかけて数多くの研究が著名な雑誌を賑わせた^{1,2)}。DNA 内の電子移動と生体機能との関連も注目され、DNA 修復酵素のシグナル伝達に電子移動が用いられているのではないかとの仮説も提案されている³⁾。これらの化学的アプローチからの DNA 研究には主に、「光」が用いられてきた。化学合成により DNA に修飾した光増感剤を励起し、電子移動反応を開始させる手法を用いることで、DNA 自体に影響を与えずその機能を解析できる⁴⁾。

ところで上記のような化学研究は、これまで希薄で均一な溶液中における DNA を用いて行われてきている。通常の化学実験では、注意深く不純物を除いて目的物質を精製する。しかし生命体の中の DNA は実際のところ、膨大な生体分子が高密度に夾雑した混雑状態で機能している⁵⁾。希薄で均一な水溶液中のデータから得られた分子の情報だけから、実際の生体反応の全容を捉えるのは困難であることは明らかである。

2. 集合する生体分子

生体分子が高密度となった分子混雑状態では、特定の分子が集合することがある。二本鎖 DNA に限らずとも、細胞内ではタンパク質や核酸が集合して液滴を形成すること(液-液相分離現象)が、生体反応に重要な役割を果たしている可能性が近年広く着目されており⁶⁾、ヌクレオソームが相分離により凝縮する性質を持つことも観察

されている⁷⁾。生体分子は刻々と変わる環境に応じその形を変化させることで、多彩に機能し生命活動に関わっていることが予想される。しかし DNA やタンパクの集合が、生命維持機能を担っていることが分子生物学分野の研究から注目されてきたのはごく最近であり、特に DNA 集合体の機能についてはまだわかっていないことが多い。

化学の分野ではこれまで広く着目されていた現象ではなかったが、二本鎖 DNA は自己集合して液晶構造をとることがある。そこで次節ではまず分子混雑環境中において二本鎖 DNA が集合し液晶を形成する性質をもつことについてその特徴的な CD スペクトルとともに紹介したい。さらに筆者らは最近、特定の配列の二本鎖 DNA が分子混雑環境中で六角形プレート型液晶を形成することを発見しており、続く第 4 節ではこの新たな DNA 液晶についてその詳細を紹介する。第 5 節では DNA 液晶の特性を調べるために DNA に光増感剤を組み入れることによって、ねじれたコレステリック液晶型 DNA 集合体の電気伝導性を検討した最近の研究について解説する。本論文の概要を図 1 に示した。

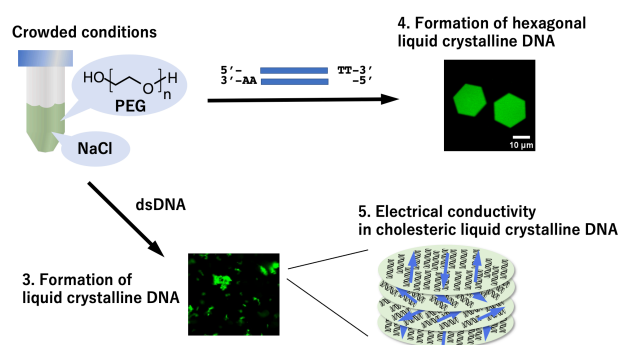


Figure 1. Various forms of self-assembled double-stranded DNA and their properties in crowded conditions.

3. 液晶となる二本鎖 DNA

二本鎖 DNA が、高濃度条件で液晶などの集合体を形成することは以前から報告されていた⁸⁾。液晶 DNA は試験管内環境だけでなく、ウイルス頭部⁹⁾や渦鞭毛藻の染色体¹⁰⁾などでも観測されている。二本鎖 DNA はねじれたコレステリック(キラルネマティック)型液晶相をとることがよくある。このような液晶 DNA が、試験管内で高分子と塩との共存条件で形成される場合、「プサイ(psi: polymer and salt induced) DNA」とも呼ばれている。Yevdokimov らは、ランダムな配列の DNA を用い、高濃度のポリエチレングリコール(PEG)と塩の存在下で形成される二本鎖 DNA によるコレステリック型液晶の粒子(パーティクル)について、X 線を用いた観測を行い、さらに CD スペクトル測定を行なっている¹¹⁾。コレステリック型液晶 DNA は、非常に高強度の CD シグナルを示すことが特徴的である。実際に筆者らも塩を含む PEG 高濃度溶液中で二本鎖 DNA の CD スペクトル測定を行なったところ、通常の水溶液中の同濃度の二本鎖 DNA と比較して数桁違いの高強度の CD シグナルを得た¹²⁾。またその形状は通常の B 型 DNA と明らかに異なっていた(図2)。筆者らが使用した DNA は、42 塩基の長さの化学合成した DNA を、相補鎖とアニーリングして二本鎖としたものであり、試験管内の分子混雑環境の作製のために平均分子量 1350-1650 である PEG(PEG1540)の 40% 水溶

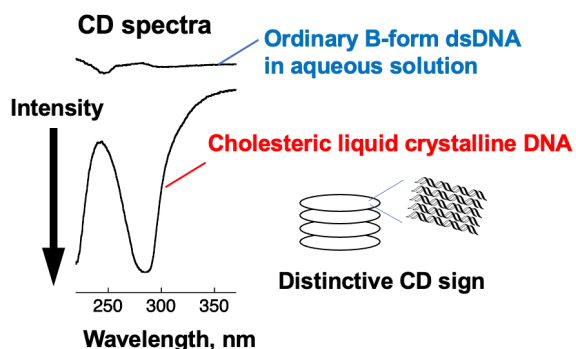


Figure 2. Representative CD spectra of B-form dsDNA in aqueous buffer solution and cholesteric liquid crystalline DNA in 40 % PEG solution containing NaCl with sketches of cholesteric liquid crystal.

液を用いている。これらの CD スペクトル測定の結果は、これまでに報告例のあるプサイ DNA のものとよく類似していた。高濃度の PEG による排除体積効果と、塩による電荷の中和の影響により、DNA は集合して液晶構造を取り、そのコレステリック構造のねじれがこのような高強度の CD シグナルを誘起すると考えられている。

4. 六角形プレート型 DNA 液晶

1989 年の Nature では、二本鎖 DNA は高濃度条件において、上述のようなねじれたコレステリック型液晶相だけではなく、ヘキサゴナルカラムナー相(六方柱状相)を取ることが Livolant らにより報告されている¹³⁾。また Yevdokimov らも、ランダムな配列の DNA の集合により、試験管内の PEG 共存条件で数百ナノメートルレベルのサイズの六方柱状相の粒子が形成されることを X 線により確認している¹⁴⁾。ヘキサゴナルカラムナー液晶相では、二本鎖 DNA が隣り合って並んでいるため、ねじれはなく、したがってコレステリック液晶の形成において観測されたような高強度の CD シグナルも見られない。筆者らとはごく最近、ヘキサゴナルカラムナー液晶の一種と考えられる新しい DNA 集合体を観測したので、その詳細を紹介する¹⁵⁾。化学合成した一種類の二本鎖 DNA を溶解させた溶液中で、PEG を高濃度としたところ、一般的な顕微鏡で容易に観測可能な大きさのユニークな正六角形プレート型の DNA 液晶が観測できた(図3)。

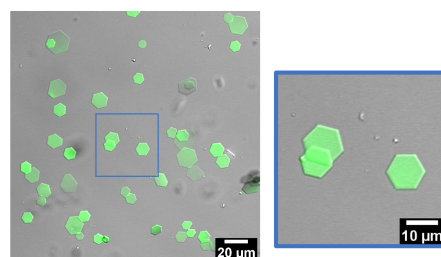


Figure 3. Merged DIC and fluorescence images of hexagonal DNA platelet in 40% PEG solutions. Experimental conditions: [DNA] = 20.2 μ M, [SYBR Green I] = 10 μ M and [NaCl] = 100 mM in pH 7.4 Tris-HCl buffer (50 mM).

このとき主に使用した短鎖の二本鎖 DNA は 25 塩基が連なった長さであり、23 塩基分が相補となり、末端 2 塩基ずつが互いに水素結合によってワトソン・クリック塩基対を組むことが可能な粘着末端となるデザインである。DNA 塩基対の間にインターカレートして蛍光を発する SYBR Green I を染色に使用しており、画像は微分干渉顕微鏡 (DIC) と共焦点蛍光顕微鏡による観測の重ね合わせとなる。実験操作としては、塩を含む溶液中で DNA 濃度、PEG 濃度 (w/v%) を調節し、溶液の加熱操作とその後の室温までの冷却を行うことで、安定した正六角形プレート型の液晶形成が可能となっている。さらに図 4 は、顕微鏡観測により六角形プレート型構造形成の DNA 濃度依存性と PEG 濃度依存性を調査した結果である。DNA および PEG の低濃度条件では集合体自体が観測されない。DNA、PEG の濃度を上げていくとまずは、不完全な多角形型の集合体が観測される。PEG 35.0%、DNA 濃度 13.4 μM 以上では明確な正六角形構造の 10 μm を超えるようなサイズの集合体も観測できる。さらに PEG 濃度を上げ 37.5% 以上になると、形成される六角形プレート型集合体のサイズが小さ

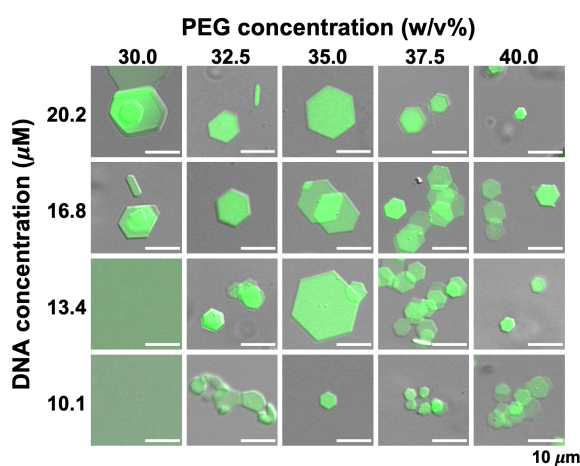


Figure 4. Hexagonal platelet formation as a function of DNA and PEG concentrations. Merged DIC and fluorescence images of hexagonal DNA platelet in pH 7.4 Tris-HCl buffer solutions. Experimental conditions: [SYBR Green I] = 10 μM and [NaCl] = 100 mM. These observations were performed at 22 °C.

くなった。また DNA 液晶の内部構造の評価のために偏光顕微鏡による観測を行った結果、屈折率の異方性から図 5 のように六角形のプレート型液晶内で、二本鎖 DNA は六角形面に垂直に隣り合って並んでいることが強く示唆された。典型的な一つの六角形型 DNA を選び、蛍光顕微鏡観測より解析したところ、対角線の長さは 12.7 μm となった。二本鎖 DNA 間の距離を 3.0 nm と見積もると、対角線上には 4200 分子程度の二本鎖 DNA が隣り合って並んでいることになる。一方で、六角形プレートの縦方向は薄く、蛍光顕微鏡観測の分解能の限界から 0.1 μm 以下と見積もられた。二本鎖内で積層した塩基間の距離として一般的な B 型二重らせん構造について知られている値である 0.34 nm と仮定すると、縦方向には約 300 以下程度のオリゴヌクレオチド、つまり集合体のビルディングブロックとなる 25 塩基長のオリゴヌクレオチド 12 個以下が繋がった状態で積層していることが予想される。図 5 では積層した DNA をカラムで表し、25 塩基のビルディングブロックを、青と緑の短いカラムで表した。

さらに DNA 分子の末端を変更して塩を含む水溶液中で PEG を高濃度とした場合の集合体の顕微鏡観測を行った。その結果を配列と共に図 6 に記す。図の配列の 2 つの青ブロック部分は DNA の相補配列を表している。平滑末端の DNA を用いた場合、六角形型は形成せず、別のタイプの集合体が形成していることが観測された (図 6(a))。また、互いに相補ではない末端

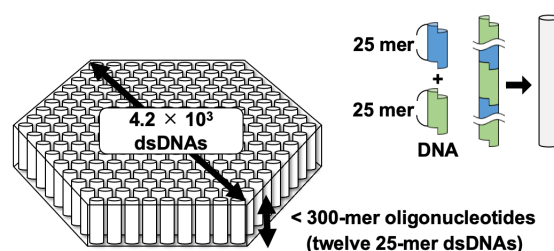


Figure 5. Proposed schematic representation of parallel alignment of dsDNA in a hexagonal platelet. Stacked dsDNA is shown as a column.

配列 GG/TT を含む場合、中央部分に窪みのある不完全な六角形プレート型の集合体が観測された(図 6(b))。互いに相補な粘着末端 GG/CC を使用した場合はこのような中央部分の窪みは見られない(図 6(c))。図 6(d)には図 3 および図 4 の完全な六角形型集合体を形成した配列と同じ、互いに相補な粘着末端 AA/TT をもつ DNA の集合体について、比較のために (a)-(c)と濃度条件を揃えたものを記載している。このように平滑末端の DNA 配列や末端が相補ではない DNA 配列を用いると完全な六角形プレート型液晶の形成を阻害するなど、末端配列の違いによる集合体形成の相違が得られたことから、六角形プレート型液晶の形成には、短鎖 DNA の末端同士の積層が関連していることが示唆さ

Effect of terminal sequences on assembly

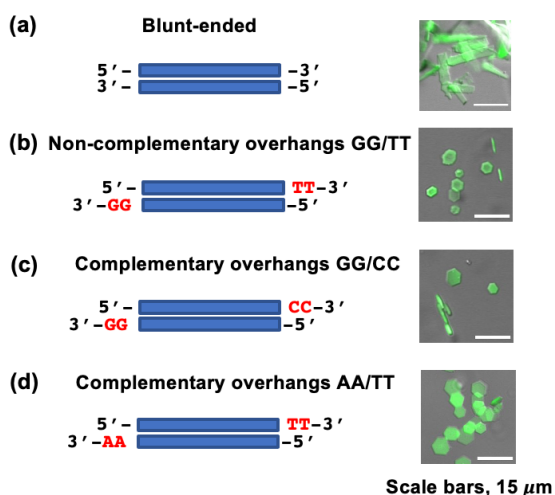


Figure 6. Merged DIC and fluorescence images of DNA condensates composed of (a) blunt-ended dsDNA, (b) dsDNA with non-complementary overhangs (GG/TT), (c) dsDNA with complementary overhangs (GG/CC) and (d) dsDNA with complementary overhangs (AA/TT). Observations were performed at 22 °C. Experimental conditions: [dsDNA] = 20.2 μM , [SYBR Green I] = 10.0 μM and [NaCl] = 100 mM in pH 7.4 Tris-HCl buffer (50 mM) containing 36.8% PEG.

れた。

図 7 には DNA 分子の集合の模式図を記載した。六角形型液晶の形成には、二本鎖末端同士の積層による垂直方向の集合だけでなく、水平方向にも集合する必要がある。筆者らの系では、DNA 水溶液に高濃度の PEG が含まれている。PEG 濃厚溶液中で DNA 分子が集合すると、排除体積の減少により、PEG 分子が動ける空間が増加し、エントロピーの増大が起こる。そのため DNA 分子同士に枯渴力¹⁶⁾とも呼ばれる引力が働くことが、水平方向の集合の要因であることが考えられる。DNA 集合の模式図には棒状 DNA 分子の周囲の点線囲み部分として排除体積を示した。今回観測されたようにはっきりと正六角形型となり、通常の顕微鏡で容易に観測可能な 10 μm を超えるような集合体が形成されたことは、厳密に配列と長さが揃った化学合成されたオリゴヌクレオチドをビルディングブロックとして使用したためではないかと筆者らは考えている。

また六角形型 DNA 液晶を含む水溶液の吸光度の温度変化測定を行ったところ、二本鎖 DNA が一本鎖 DNA に解離する融解温度より低い温度 (30-45°C) において、吸光度が大きく変化する新たな領域が現れることが明らかとなった。温度変化をさせながら六角形型 DNA 液晶の位相差顕微鏡観測を行った結果、新たに現れた吸光度変化が起こる温度領域は、DNA 液晶が融解して消失する温度領域とはほぼ一致していた。吸光度変化は液晶中の塩基の積層状態の変化によるものであることが考えられる。温度上昇により、DNA 液晶がまず二本鎖 DNA と

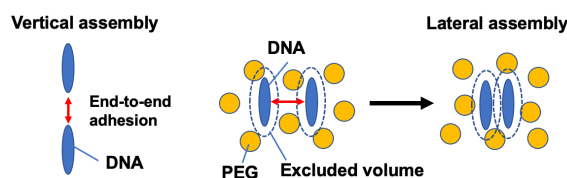


Figure 7. Illustrations of end-to-end adhesion in the vertical direction and self-assembly of hexagonal liquid crystal driven by depletion interaction caused by PEG.

して溶液に融解し、次に一本鎖に解離することがわかった。

このようにごくシンプルで精密な設計の必要のない短鎖の二本鎖 DNA が、分子混雑環境においてユニークな形態に自己集合するという現象が見出された。前述のように二本鎖 DNA はその電気伝導性が着目され、長年にわたって詳細に研究されてきた。自己集合して整列し、六角形型液晶となった DNA は、周囲の環境によって形態と機能を変化させる新たな電気伝導性の材料としての応用が期待される。六角形プレート型液晶の電気伝導性は現在筆者らの研究グループによって検討を始めているが、ねじれたコレステリック型 DNA 液晶の電気伝導性についてはすでに検討を始めた近年の研究結果があるため、その手法と結果を次項で紹介したい。

5. 液晶内における DNA の電気伝導性

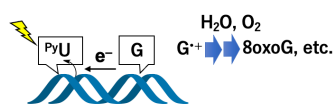
DNA 二重らせんの内部は、チミン (T) とアデニン (A)、グアニン (G) とシトシン (C) の組み合わせのワトソン・クリック塩基対が積層した構造となっている。この塩基対の積層を通して電気伝導性 (電子移動特性) を調べる実験の常套手段は反応のトリガーとして光を用いた手法である (図 8)。化学合成により DNA に光増感剤を修飾し、光増感剤のみを励起する比較的長波長の光を照射することで、光増感剤が電子受容体として働き、近傍の塩基を酸化してホール (正孔) を注入する。注入されたホールは、DNA の塩基対を介して移動し、最終的には DNA 中でもっとも酸化電位の低い塩基であるグアニンもしくは化学

合成により DNA 内に導入した電子供与体を酸化する。このとき DNA 内でホール移動の逆方向に電子移動が起こることになる。グアニンが酸化されて生成するグアニンラジカルカチオンは水や酸素と反応することにより、8-オキシグアニンをはじめとした損傷塩基となる¹⁷⁾。またこのような DNA 内の電子移動はタンパクの結合や、一つ mismatches 塩基の存在により、効率が大きく変化することが知られている¹⁸⁾。

筆者らは DNA 中の光増感剤として、デオキシウリジンの 5 位にエチニルリンカーによってピレン分子を修飾したデオキシウリジン (5-(pyrenylethynyl)-2-deoxyuridine; ^{PyU}) を用いた。^{PyU} の相補塩基としては A を用いる。A は T と同じ様式で U とともに 2 つの水素結合で相補を組むことができ、^{PyU} はワトソン・クリック塩基対を保ったまま DNA に導入できることとなる。ピレン部位の吸収帯はエチニルリンカーによる共役のため 340-420 nm の領域までレッドシフトし、DNA の核酸塩基の吸収帯とは重ならないため容易に選択的励起が可能となる¹⁹⁻²¹⁾。

研究の開始時点での配列中の酸化損傷のターゲットは、天然の DNA 内で最も酸化電位の低いグアニンの連続配列とした。簡便な分析を可能とするため、ターゲット位置以外のグアニンは、酸化不活性でありグアニンと同じくシトシンと水素結合により塩基対を組むことのできるイノシン塩基に置換した。配列は ^{PyU} を含む 42 塩基長の平滑末端の配列を用いている。分子混雑環境を作製するために PEG1540 を加え、塩として NaCl を 100 mM とした条件を用いた。PEG が 40 % となる条件で二本鎖 DNA がコレステリック液晶を形成することを CD スペクトル測定により確認した。

液晶 DNA 中の ^{PyU} への選択的な光照射を行いグアニンの損傷量をサンプルの酵素分解処理と、その後の高速液体クロマトグラフィーによる分析で評価したところ、液晶 DNA 中では液晶構造を取らない溶液中の DNA と比較して、大幅な損傷の促進が起こることがわかった。DNA 内の電子移動を阻害する mismatches 塩基対を含む配列を用いた場合は、光照射によるグアニンの損傷量は減少するため、このグアニン損傷は



- ① Excitation of photosensitizer
- ② Hole injection into DNA
- ③ Electron transfer through base stacking
(ET occurs in the opposite direction to hole transfer, HT)
- ④ Guanine oxidation by hole trapping

Figure 8. Method for studying DNA-mediated electron transfer using photosensitizer.

DNA 内電子移動の結果起こっているものであることが確認された。一方で DNA が液晶構造を取らない、塩濃度が NaCl 20 mM の条件では、光照射を行っても、グアニン損傷は微量である。このことから液晶構造をとることが、グアニンの損傷の増大の原因であることがわかる。このように、液晶中では DNA 内電子移動によって誘発されるグアニン塩基の損傷効率が大幅に増大することが明らかとなった¹²⁾。

しかしながら一電子酸化を受けたグアニンが生成物を与える反応は比較的遅く、さらに段階的に酸化損傷物を生成してしまうため、グアニンの損傷は電子移動をモニターするマーカーとして適しているわけではない。そこで筆者らは新たに、一電子酸化によりすみやかな開環反応を起こすシクロプロパン環を有するグアニン(^oG)を、DNA 液晶中のホール捕捉塩基として使用することとした²²⁾。固相合成により^oGを含むオリゴヌクレオチドを準備し、DNA にホールを注入する光増感剤^{PyU}を含むオリゴヌクレオチドとアニリングすることにより二本鎖を形成させた。図 9

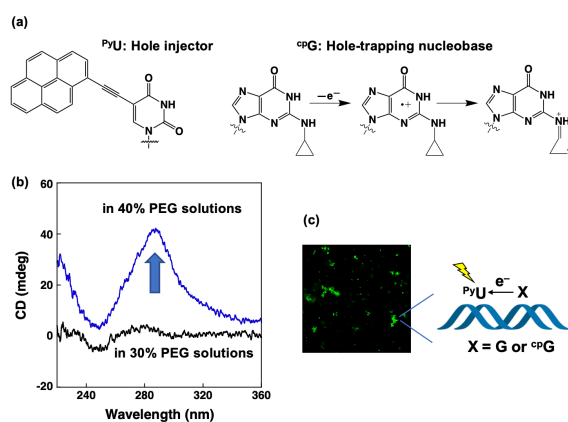


Figure 9. (a) ^{PyU} as a hole injector and ^oG as a hole trapping nucleobase. (b) CD spectra of dsDNA containing ^{PyU} and ^oG in PEG mixed solutions 30% (black line) and 40% (blue line). Experimental conditions: [dsDNA] = 4.0 μM, [SYBR Green I] = 10.0 μM and [NaCl] = 100 mM in pH 7.4 Tris-HCl buffer (50 mM). (c) Illustrations of electron transfer between ^{PyU} and G (or ^oG) through DNA in liquid crystalline phase.

(a)に^{PyU}の構造、ホール捕捉塩基^oGの構造とホール捕捉によるその分解の様子、図 9(b)に PEG30%、および PEG40%の条件での DNA 溶液の CD スペクトル測定結果を示した。溶液に PEG を高濃度で混合することで、修飾塩基^{PyU}と^oGを両方含む二本鎖 DNA を用いた場合も、コレステリック液晶が形成することが、特徴的な高強度の CD シグナルから確認された。CD シグナルの正負は^oG を含まない DNA 液晶と比較して逆転したことから、液晶のねじれの方向が変化したことがわかる。液晶形成は共焦点蛍光顕微鏡観測からも確認された。液晶中での DNA 内電子移動の模式図を図 9(c)に記載している。^{PyU} への選択的な光照射によって引き起こされる^oGの分解量を評価したところ、液晶 DNA 中では大幅な^oG分解の促進が観測され、液晶中で効率的な電子移動が起こることが示唆された²³⁾。さらに、^{PyU}のみを含む二本鎖 DNA と、^oGのみを含む二本鎖 DNA を別に準備し、PEG を高濃度として溶液を混合したところ、よりサイズの大きなコレステリック液晶が形成されることが共焦点蛍光顕微鏡観測より確認された。この溶液に光照射を行うと、^oGの効率的な分解が観測された。PEG が低濃度で DNA が集合体を形成せず液晶が存在しない条件では^oGの分解は見られない。^oGを含む二本鎖 DNA には光増感剤が存在しないため、^oGの分解は二本鎖 DNA の末端同士が液晶内で積層して繋がることで、異なる二本鎖 DNA 内の^{PyU}から注入されたホールが、^oGまで伝達されたことが考えられた(図 10)。DNA が集合して液晶となることで、

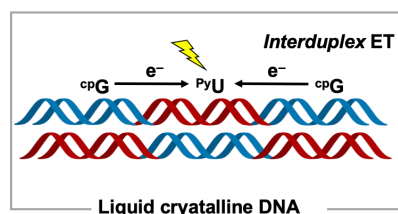


Figure 10. Schematic representation of interduplex electron transfer in liquid crystalline DNA.

均一希薄水溶液中では起こらなかった異なる DNA 鎖への電子(ホール)の伝達が観測されたのではないかと期待される。

6. まとめと今後の展望

生体分子による集合については、DNA だけでなく、ウイルスを用いてソフトマター物理の観点からもモデル系の構築も進められており^{24,25)}、広い学問領域から注目されている分野である。また精密に設計された DNA オリガミのナノテクノロジー²⁶⁻²⁸⁾が顕著に発展する一方で、今回観測された DNA 液晶は、シンプルなわずか一種類のビルディングブロックから、秩序をもった比較的大きな集合体が形成されるという特徴がある。そのため簡便な設計であっても高機能を持つ可能性に着目したい。近年では試験管内実験で短鎖 DNA の集合場形成の研究が進んでおり²⁹⁾、このような短鎖 DNA の集合の役割は初期の生命の誕生という視点からも非常に興味深い³⁰⁾。筆者らの観測した二本鎖 DNA の液晶もまた、集合することで長距離かつ高効率の電子伝達の機能を持つことが期待される。集合により高機能化したマテリアルが将来的にどこまで生命に近づけるかについては、筆者らも鋭意探索中である。DNA 集合体には化学合成によって様々な機能を付与することが可能であり、二本鎖 DNA の融解温度より低い温度領域で集合の解消が起こるといった特徴もある。自己集合した DNA 液晶を利用した医薬品やドラッグデリバリーなど、今後の医療面への応用ができる可能性も期待される。

6. 謝辞

研究を遂行するにあたってご協力をいただいた共同研究者に、この場を借りて感謝したい。本研究は、科研費基盤研究(C) 21K05108 および、電気通信大学の研究活性化支援による支援を受けたものである。

参考文献

- 1) G. Taubes, *Science*, **1997**, 275, 1420-1421.
- 2) R. Erik Holmlin, P. J. Dandliker, and J. K. Barton, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1997**, 36,

- 2714-2730.
- 3) P. A. Sontz, T. P. Mui, J. O. Fuss, J. A. Tainer, and J. K. Barton, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2012**, 109, 1856-1861.
- 4) H.-A. Wagenknecht, *Nat. Prod. Rep.*, **2006**, 23, 973-1006.
- 5) S. Nakano, D. Miyoshi and N. Sugimoto, *Chem. Rev.*, **2014**, 114, 2733-2758.
- 6) 白木賢太郎, 相分離生物学. 2019.
- 7) B. A. Gibson, L. K. Doolittle, M. W. G. Schneider, L. E. Jensen, N. Gamarra, L. Henry, D. W. Gerlich, S. Redding, and M. K. Rosen, *Cell*, **2019**, 179, 470-484.
- 8) F. Livolant, *Physica A*, **1991**, 176, 117-137.
- 9) A. Leforestier and F. Livolant, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2009**, 106, 9157-9162.
- 10) F. Livolant, and M. F. Maestre, *Biochemistry*, **1988**, 27, 3056-3068.
- 11) V. A. Belyakov, V. P. Orlov, S. V. Semenov, S. G. Skuridin and Y. M. Yevdokimov, *Liq. Cryst.*, **1996**, 20, 777-784.
- 12) S. Sakurai, M. Esumi and M. Tanaka, *Chem. Commun.*, **2019**, 55, 7695-7698.
- 13) F. Livolant, A. M. Levelut, J. Doucet, and J. P. Benoit, *Nature*, **1989**, 339, 724-726.
- 14) Y. M. Yevdokimov, S. G. Skuridin, S. V. Semenov, L. A. Dadinova, V. I. Salyanov and E. I. Kats, *J. Biol. Phys.*, **2017**, 43, 45-68.
- 15) T. Makino, D. Nakane and M. Tanaka, *ChemBioChem*, **2022**, 23, e202200360.
- 16) S. Asakura and F. Oosawa, *J. Chem. Phys.*, **1954**, 22, 1255-1256.
- 17) C. J. Burrows and J. G. Muller, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1109-1152.
- 18) N. B. Muren, E. D. Olmon and J. K. Barton, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2012**, 14, 13754-13771.
- 19) M. Tanaka, B. Elias and J. K. Barton, *J. Org. Chem.*, **2010**, 75, 2423-2428.
- 20) M. Tanaka, H. Iida and T. Matsumoto, *Chem. Lett.*, **2018**, 47, 62-64.
- 21) M. Tanaka, T. Matsumoto and H. Iida, *Org. Biomol. Chem.*, **2018**, 16, 6695-6702.

- 22) K. Nakatani, C. Dohno and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 9681-9682.
- 23) Y. Taketomi, Y. Yamaguchi, S. Sakurai, M. Tanaka, *Org. Biomol. Chem.* **2022**, *20*, 2043-2047.
- 24) T. Gibaud, E. Barry, M. J. Zakhary, M. Henglin, A. Ward, Y. Yang, C. Berciu, R. Oldenbourg, M. F. Hagan, D. Nicastro, R. B. Meyer and Z. Dogic, *Nature*, **2012**, *481*, 348-351.
- 25) B. Sung, A. Cotte and E. Grelet, *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 1405.
- 26) P. Rothmund, *Nature*, **2006**, *440*, 297-302.
- 27) H. Said, V. J. Schüller, F. J. Eber, C. Wege, T. Liedl and C. Richert, *Nanoscale*, **2013**, *5*, 284-290.
- 28) B. Lu, S. Vecchioni, Y. P. Ohayon, R. Sha, K. Woloszyn, B. Yang, C. Mao and N. C. Seeman, *ACS Nano*, **2021**, *15*, 16788-16793.
- 29) T. P. Fraccia and T. Z. Jia, *ACS Nano*, **2020**, *14*, 15071-15082.
- 30) T. Z. Jia, T. Bellini, N. Clark and T. P. Fraccia, *Emerg. Top. Life Sci.*, **2022**, *6*, 557-569.