

多時間相関関数および2次元寿命スペクトルによる階層的構造変化ダイナミクスの解析：
アデニル酸キナーゼへの応用

(分子科学研究所¹, 京都大学大学院・理², 総合研究大学院大学³)

○小野 純一¹, 高田 彰二², 斉藤 真司^{1,3}

Analysis of hierarchical conformational dynamics based on multi-time correlation functions
and two-dimensional lifetime spectra: Application to adenylate kinase

(Institute for Molecular Science¹, Kyoto University², SOKENDAI³)

*Junichi Ono¹, Shoji Takada², and Shinji Saito^{1,3}

【序】タンパク質のような生体分子系では、ピコ秒・ナノ秒オーダーの局所的な構造揺らぎからマイクロ秒・ミリ秒オーダーの大域的な立体構造変化まで幅広い時間・空間スケールの間に多種多様な運動が存在する[1]。このような時間的にも空間的にも階層的なダイナミクスの間に有意なカップリングが存在するのか、そして、これらのカップリングが生化学機能の発現において重要な役割を果たしているのかを調べることは、生体分子の立体構造とその分子機能との間の相関(構造機能相関)を動的な側面から理解する上で重要である。しかし、従来の理論研究ではタンパク質の構造機能相関が主に静的あるいはエネルギー的観点から議論されており、その構造機能相関をダイナミクスの観点から議論するための解析手法は未だ十分に確立されていない。そこで我々は、特にタンパク質の立体構造変化に伴う状態間遷移の動的相関を解明するため、多時間相関関数に基づいた新しい時系列解析手法の開発を行った[2]。具体的には、構造を特徴付ける物理量(FRETのドナー・アクセプター間距離など)の三時間相関関数に二次元逆ラプラス変換を施すことによって得られる「二次元寿命スペクトル」の待ち時間依存性を調べることで、異なる寿命を持つ複数の運動間のカップリングの時定数を決定することが可能となった(図1)。これは、主に単純液体中での超高速振動ダイナミクスの解析に従来用いられている二次元赤外分光法の理論を応用したものである。本手法を確立し、生体高分子の多様な立体構造変化の遍歴と相関関係を調べ、生命現象における動的かつ階層的な機能発現メカニズムの解明を進めることが本研究の目的である。

【方法】多時間相関関数および二次元寿命スペクトルに基づいた解析手法の適用例として、マルチドメイン型タンパク質のベンチマークとして知られるアデニル酸キナーゼ(AK)の自発的立体構造変化を考える(図2)。AKはATPとAMPから2つのADPを合成する反応を触媒するリン酸基転移酵素であり、最近のFRETの実験結果から、基質が存在しない状況下において複数の準安定状態が存在することが明らかになっている[3]。計算上、多時間相関関数が収束するためには状態間遷移のイベントを十分に発生させる必要があるため、長時間のトラジェクトリが必要となる。そこで本研究では、計算コスト削減のため、Langevin熱浴と結合した粗視化モデル(アミノ酸配列の特異性と局所的な柔軟性を導入した非格子型郷モデル[4])を採用し、AKの長時間分子動力学シミュレーションを実行した。構造変化を捉える反応座標として、FRETのドナー・アクセプター間距離(主にV142-A203)を採用し、一時間相関関数および多時間相関関数の数値解析を行った。時間相関関数の非指数関数的な減衰振る舞いを「指数関数的減衰成分の重ね合わせ」とみなすと、寿命に関する分布関数(寿命スペクトル)は時間相関関数の逆ラプラス変換により求めることができる。本研究では、Tikhonov正則化法により一次元および二次元逆ラプラス変換を行った。また、タンパク質の寿命と構造を結びつけるため、位置座標に対して主成分分析を行い、反応座標を主成分の線形結合で(近似的に)展開することで寿命スペクトルの各ピークを主成分の観点から帰属した。

【結果と考察】 主要な結果を以下に要約する[2]。(詳細に関しては当日議論を行う)。

- (1) AK の FRET 距離に関する一時間相関関数を計算したところ、複数の温度で非指数関数的な減衰振る舞いが観測された。これに一次元逆ラプラス変換を実行し、一次元寿命スペクトルを求めたところ、短時間から長時間まで幅広い時間スケールの間に複数の運動が存在し、主に速い成分、中間的な成分、および遅い成分に分類できることが明らかになった (図 3)。
- (2) 反応座標 (V142-A203 距離) と各主成分の線形係数を求め、反応座標と強い相関を持つ主成分の自己相関関数と寿命スペクトルを調べた結果、ATP 被覆ドメインが局所的に変化する構造遷移が中間的および遅い成分の起源であることが明らかになった。
- (3) 一時間相関関数に含まれる同時確率分布の時間依存性を調べた結果、寿命が初期構造の違いに強く依存し、特に V142-A203 距離の初期値が長距離および短距離の場合、それぞれ中間的寿命および長寿命を持つことが明らかになった。ここで、長距離構造は ATP 被覆ドメインが局所的に変性した構造であり、短距離構造は ATP 被覆ドメイン内の β ヘアピンとループが互いに配置を入れ替えたフリップ中間構造である (図 3)。
- (4) 三時間相関関数および二次元寿命スペクトルを解析した結果、二次元スペクトルの非対角成分に複雑な待ち時間依存性が観測された (図 4)。二次元寿命スペクトル (寿命の同時確率分布) から各寿命成分間の遷移行列を求め、その待ち時間依存性を調べた結果、長時間にわたりマルコフ過程 (状態間遷移が「記憶の無いジャンプ」によって記述される確率過程) と著しく異なることが明らかになった。これはフリップ中間構造へと至る遅い構造遷移が他の運動と有意に相関していることを示しており、この中間構造の存在が機能発現に何らかの役割を果たしている可能性を示唆している。

[1] K. Henzler-Wildman and D. Kern, *Nature* **450**, 964 (2007).

[2] J. Ono, S. Takada, and S. Saito, *J. Chem. Phys.* **142**, 212404 (2015).

[3] M. Pirchi, G. Ziv, I. Riven, S. S. Cohen, N. Zohar, Y. Barak, and G. Haran, *Nat. Comm.* **2**, 493 (2011).

[4] W. Li, T. Terakawa, W. Wang, and S. Takada, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109**, 17789 (2012).

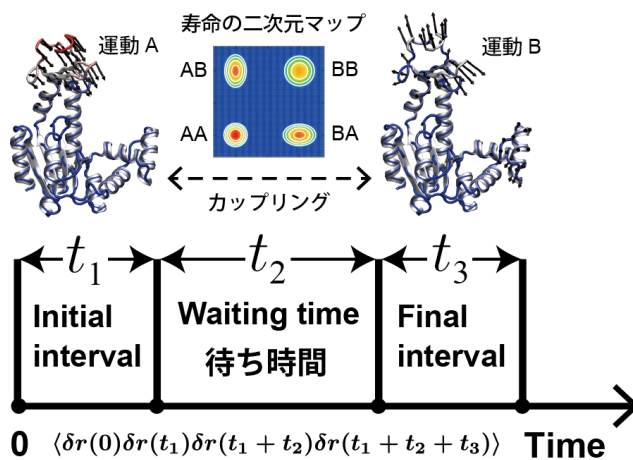


図 1. 多時間相関関数の概念図。

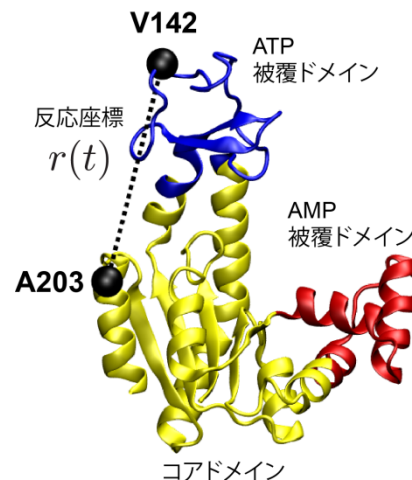


図 2. AK の open 結晶構造と反応座標。

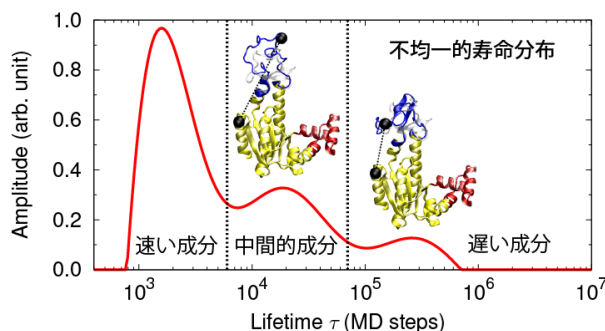


図 3. V142-A203 距離の一次元寿命スペクトル。

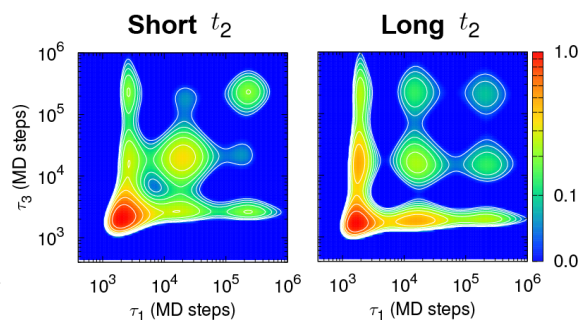


図 4. 二次元寿命スペクトル。

銅含有ジオキシゲナーゼ及びそのモデル錯体の理論的研究

(阪大院・理¹, JST-CREST²)○齋藤徹^{1,2}, 沼田峻宏¹, 川上貴資¹, 山中秀介^{1,2}, 奥村光隆^{1,2}

Theoretical study of the copper-containing dioxygenase and its biomimetic complexes

(Graduate School of Science, Osaka Univ.¹, JST-CREST²)○Toru Saito^{1,2}, Takahiro Numata¹, Takashi Kawakami¹,Shusuke Yamanaka^{1,2}, Mitsutaka Okumura^{1,2}

【序】

Quercetin 2,4-dioxygenase(2,4-QD)は基質である quercetin(Que)を酸化して芳香環を開裂する酵素である[1]. 活性部位は Type II 銅であり, 3つのヒスチジン(His66, His68, His112)とグルタミン酸(Glu73)が配位している. 反応の第一段階で酸素分子が(1)Cuを攻撃するのか, (2)Queを攻撃するのか, について実験・理論の双方から議論されてきた(図 1)[2]. これまでの実験研究の多くは(2)を支持し, Cu-O-O 結合を形成しない機構を提唱してきた. 最近, 我々は QM/MM 計算を用い, (1)の方がエネルギー的に有利であることを示した. また, (2)によって反応

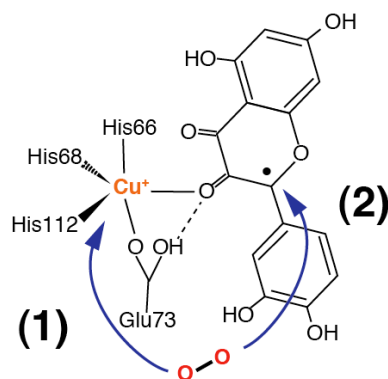


図 1 2,4-QD 活性中心における酸素分子活性化機構(1), (2)

が開始しても、alkylperoxo 中間体[Cu-O-O-C(Que)]を必ず経由することが分かった[3]. この結果は鉄イオンを含むジオキシゲナーゼの最近の研究結果とも一致している[4].

【研究目的・計算】

本研究では 2,4-QD のモデル錯体である $[M^{2+}(\text{fla})(\text{idpa})]^+$ ($M=\text{Cu}(\mathbf{1}), \text{Zn}(\mathbf{2}), \text{idpa}=3,3'\text{-imino-bis}(N,N\text{-dimethylpropylamine})$) を計算の対象とする. $\mathbf{1}, \mathbf{2}$ 両錯体とも 2,4-QD と同じ生成物を与えることは確認されている. 一方, 配位子として 1,10-phenanthroline を用いると生成物が得られないという報告もあるなど[5], モデル錯体における反応の詳細は明らかでない. 本研究では, 2,4-QD と人工モデル錯体との反応機構の相違点を示し、生体模倣錯体の反応性と反応特異性の向上には何が重要なのかを提供することを目的とする. ここでは, 錯体 $\mathbf{2}$ は Zn-O-O 結合が生成しないことから, 中心金属の違いによる反応性への影響について検討を行った.

計算は Gaussian 09 プログラムを用いて, UB3LYP/def2-SVP レベルで行った. PCM 法

を用いて DMF による溶媒効果を考慮した。各停留点において振動解析を行い、373.15 K におけるエンタルピーを算出し、律速段階では、実験から得られた活性化エンタルピーとの比較を行った。

【結果・考察】

錯体 **1**, **2** とともに最初の酸素分子の活性化が(2)の経路で進行することが分かった。2,4-QD で見られる, Que から Cu^{2+} への電荷移動により生じるラジカル種 $\text{Que}\cdot$ と O_2 とが反応するのはなく, O_2 と Que 間での電荷移動, 項間交差を経て peroxo 中間体(**a**)が得られた。2,4-QD では Que が単座配位であるのに対し, モデル錯体では二座配位であるため Cu^{2+} との結合解離に伴う電荷移動が起こりにくいためと考えられる。 **a** からは 1,2-dioxetane(**b**)が得られ, 生成物の前駆体である endoperoxide(**c**)は直接生成しなかった(図 2)。今回検討した **1**, **2** については **b** から O-O 開裂が起こる経路よりも **c** を与える経路の方が活性化障壁は低く, 正しく生成物のみが得られるという実験事実も再現できた。尚, 反応全体を通して錯体 **1,2** とともに反応の律速段階はシクロ環化により **a** から **b** が生成するところであった。計算結果の詳細は当日報告する。

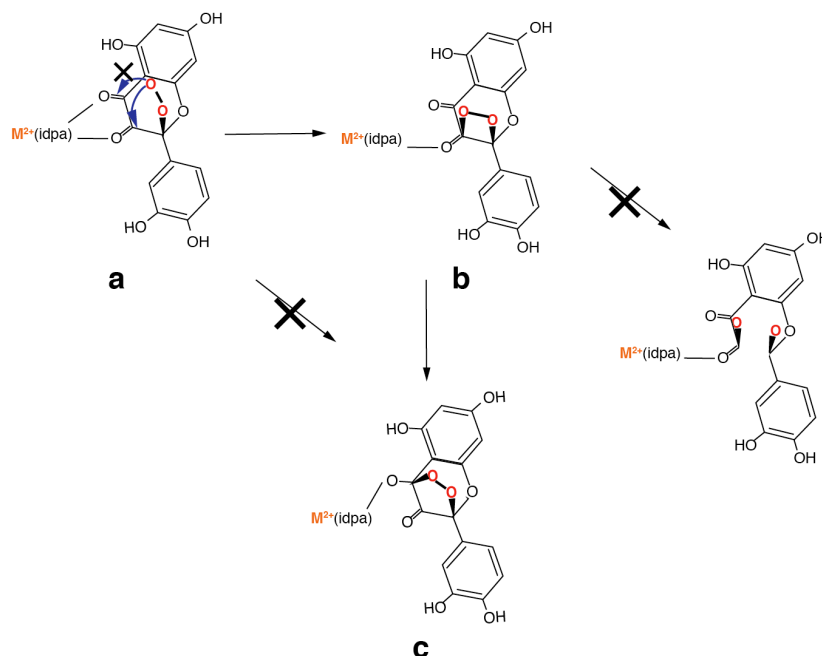


図 2 錯体 **1,2** と酸素分子との反応における主要な中間体

【参考文献】

- [1] R. A. Steiner et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99, 16625 (2002); E. I. Solomon et al. *Chem. Rev.* 114, 3659, 2014.
- [2] J. S. Pap et al. *Coord. Chem. Rev.* 254, 781 (2010); P. E. M. Siegbahn, *Inorg. Chem.* 43, 5944 (2004).
- [3] T. Saito et al. *J. Phys. Chem. B* 119, 6952 (2015).
- [4] R. Jastrzebski et al. *Chem. –Eur. J.* 20, 15686 (2014); C. J. Knoot et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 388 (2015).
- [5] E. Balogh-Hergovich et al. *Eur. J. Inorg. Chem.* 2287 (2002).

4C13

分子認識におけるメチル基効果の理論的研究

(東京大学) ○山下雄史

A theoretical study on methylation effect on molecular recognition

(Univ. Tokyo) ○Takefumi Yamashita

分子認識は細胞の中で重要な役割を果たす。我々の体内では、天文学的な数の分子が正しく相互作用の相手を探し出すことをしており、これによって我々の生命活動が正常に保たれている。さらに、エピゲノムの文脈においては、DNAやヒストンの修飾（メチル化やアセチル化など）によって、生体分子間の相互作用に変化が起き、細胞の分化や形質の制御が成される。ここで、興味深いのは、ちょっとしたメチル化のような修飾が大きく分子認識に影響を与え、生命活動に影響を与えていると言う事実である。

医薬品開発の現場においても、分子認識は重要な概念である。標的タンパク質が酵素であれば、酵素機能を阻害する化合物が薬の候補となる。しかし、その化合物が他の酵素まで阻害してしまうと、重篤な副作用を引き起こす可能性が高まる。したがって、医薬品開発過程においては、様々な化合物の改変と注意深い確認実験を繰り返して、より良い医薬品を創り出していく。

分子認識の重要な指標となる物理量の1つに、結合定数がある。これは、標的タンパク質 P と阻害薬 I として、 $P+I \leftrightarrow PI$ の平衡定数であり、

$$K_a = \frac{[PI]}{[P][I]}$$

である。また、解離定数

$$K_d = \frac{[P][I]}{[PI]}$$

結合自由エネルギー

$$\Delta G_{bind} = k_B T \ln K_d$$

も等価な情報を与える。

これまで、多くの結合親和性の測定がおこなわれているが、しばしば、1つのメチル化のみで結合定数が桁違いに変化する事例が見られる。本研究では、その内の1つの事例に対し分子動力学(MD)計算による解析をおこない、メチル基が親和性に果たす役割を明らかにすることを目的とする。

本目的において、結合自由エネルギーの計算精度は重要である。そのため、高精度の FUJI 力場を利用し、MP-CAFEE 法の計算を実施する。これらの組合せは、論文[2]において確認済みである。

我々は、まず、MD シミュレーションの結果が実験の傾向を良く再現することを確認した。さらに、詳細な結果により、メチル化によって脱水和の自由エネルギーが低下しており、このことによって親和性が向上していることが分かった。本研究では、修飾の効果を深く理解することをおこなったが、こうした原子レベルでの理解は、医薬品設計のアイデアや生命の分子基盤の理解を深化させることにつながると考えている。

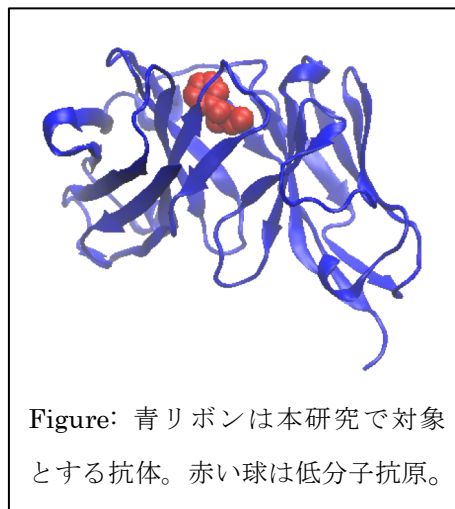


Figure: 青リボンは本研究で対象とする抗体。赤い球は低分子抗原。

References:

- [1] T. Yamashita, JPS Conf. Proc., 5 (2015), pp. 010003.
- [2] T. Yamashita et al., Chem. Pharm. Bull., 63 (2015), pp. 147-155.
- [3] T. Nakayama, E. Mizohata, T. Yamashita et al., Protein Sci., 24 (2015), pp. 328-340.
- [4] T. Yamashita et al., Chem. Pharm. Bull., 62 (2014), pp. 661-667.
- [5] T. Yamashita and H. Fujitani, Chem. Phys. Lett., 609 (2014), pp. 50-53.
- [6] 山下雄史 分子シミュレーション研究会会誌「アンサンブル」17(2) 83-91 (2015)
- [7] 山下雄史、児玉龍彦 月刊「化学」 70(2) 33-38(2015)

機能性人工核酸の理論的分子設計

～導電性・強磁性・非線形光学特性～

(九大院・総理工¹, JST-CREST²) ○折本 裕一¹、青木 百合子^{1,2}

Theoretical molecular design of artificial nucleic acids: conductive, ferromagnetic, non-linear optical properties

(Kyushu Univ.¹, JST-CREST²) ○Yuuichi Orimoto¹, Yuriko Aoki^{1,2}

【序】 核酸の塩基対間 π 電子スタック構造を基盤に、化学修飾や金属原子の導入によって構成される人工核酸^[1]は新規物性を持ちうるナノテクノロジー材料として注目されている。本研究では、人工核酸の導電性、強磁性、非線形光学特性等について電子論的立場からの機能設計および機能制御を目指す。本研究グループで開発してきた巨大系の電子状態を超効率的・高精度に得ることのできる Elongation 法、軌道相互作用の観点から分子構造と分子特性の関係を定量解析できる Through-space/bond 解析法等により、人工核酸の機能材料としての可能性を探るとともに、理論的機能設計におけるこれらの手法の有効性を検証する。

【方法】 高分子の理論的重合法～Elongation(ELG)法^[2]では、高分子の重合反応のように反応末端にモノマーを付加させつつ反応末端付近のみ固有値問題を解くことで高速に系の電子状態を伸長させることができる(図1a)。具体的には、出発クラスタ計算から得た正準分子軌道(CMO)をユニタリ変換によって反応末端側の Active 領域局在化軌道(RLMO)と反対側の Frozen RLMOに変換する。相互作用領域(Active RLMO+付加モノマー)のみ解き、付加モノマーと相互作用のない Frozen RLMOを固有値問題から外すことで、計算精度を落とさず高速に電子状態を伸長できる。軌道局在化と部分固有値問題を繰り返すことで系のサイズに一次比例した時間で計算可能な、オーダーNが実現する。

Through-space/bond (TS/TB) 相互

作用解析法^[3]は、基底関数のガウス型関数の軌道指数を人為的に増大させることで軌道を収縮させ、分子内の特定の軌道間相互作用をカットする(図1b)。相互作用をカットした状態における系の全エネルギーや電子状態が得られるため、カット前後の比較によって、注目している軌道間相互作用の

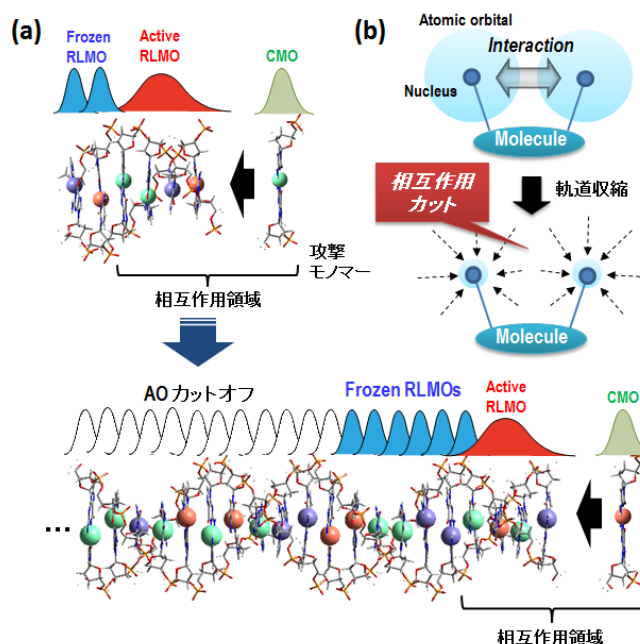


図1 (a) Elongation 法^[2]、(b) Through-space/bond 相互作用解析法^[3]

寄与を非経験的レベルで定量解析できる。

【結果と考察】 化学修飾型人工DNAのモデルとして、 -NH_2 置換 GC 塩基対のスタック系(B-DNAのピッチ角等を使用)を用いて ELG 法の計算速度と計算精度を検証した(図 2a)。系のサイズ N とともに計算時間が急激に増大する従来法(CONV)に比べ、ELG 法では AO カットオフ法(軌道の tailing が及ばなくなった領域の原子軌道(AO)基底関数を計算から外していく)が開始後、各ステップにかかる計算時間がほぼ一定になる。ELG 法の従来法との全エネルギー誤差は、塩基対 20 ユニット目でわずかに 2.16×10^{-9} hartree/atom の高精度を実現している。これは1万原子の系を想定しても約 0.01 kcal/mol であり、十分に化学的精度を満たす。従来法では SCF 収束性が非常に悪く、結果が得られないケースも多かったが、ELG 法では毎ステップ一定サイズの固有値問題を解くことで格段に収束性が高まり、従来法で計算が困難なモデルでも容易に計算できることもわかった(図 2b)。

ELG 法から抽出可能な物性の例として、系の一部にドナーとアクセプターを組み込んだ人工DNAモデルの局所状態密度

(LDOS)を算出した(図 3)。この系のエネルギーギャップ 7.46 eV は同条件で得た天然DNAのギャップより小さいことが分かったが、LDOS 解析によってアクセプターが導入された 20 番目の塩基対の伝導帯ピークが系全体の伝導帯を押し下げていることが分かった。さらに、TS/TB 解析法によってアクセプター導入塩基対の LUMO レベル低下の原因を分子内軌道間相互作用の観点から調べたところ、複数ある -NO_2 基のうち、特定サイトのものが LUMO レベルをコントロールしていることが分かった。

今後、強磁性や非線形光学特性についても解析を進め、人工 DNA の分子構造と特性の関係を ELG 法と TS/TB 解析法によりさらに理解していくことで、より高度な機能設計に結び付けていく。

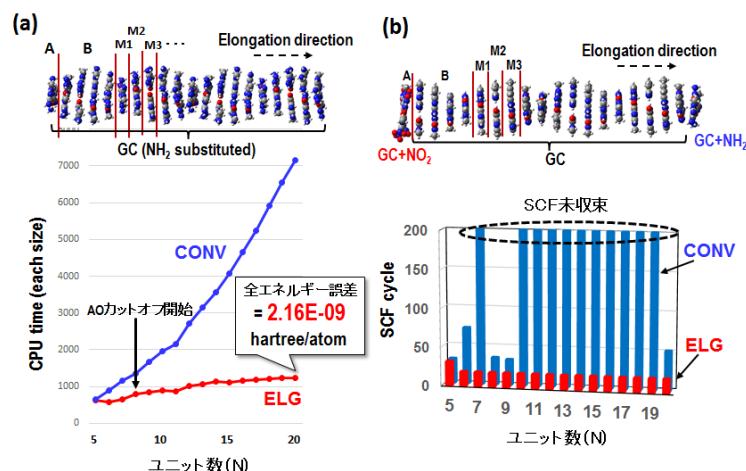


図2 Elongation(ELG)法と従来法(CONV)の比較: (a) 計算時間と計算精度、(b) SCF 収束性

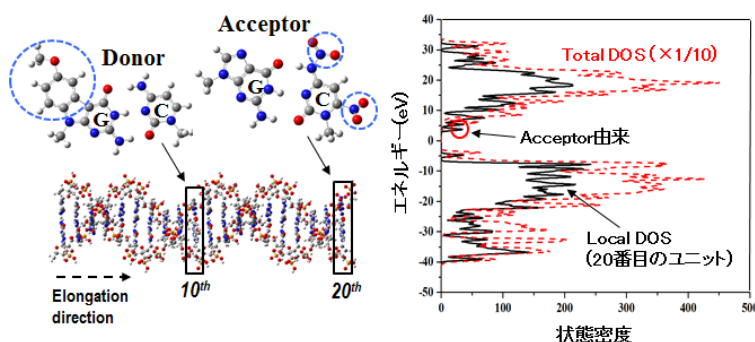


図3 Elongation 法による局所状態密度解析

- [1] (a) E. Uhlmann and A. Peyman, *Chem. Rev.*, **1990**, 90, 543; (b) K. Tanaka, A. Tengeiji, T. Kato, N. Toyama and M. Shionoya, *Science*, **2003**, 299, 1212; (c) G. H. Clever, C. Kaul and T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 6226. [2] (a) A. Imamura, Y. Aoki and K. Maekawa, *J. Chem. Phys.*, **1991**, 95, 5419; (b) Y. Aoki and F. L. Gu, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2012**, 14, 7640. [3] (a) A. Imamura, H. Sugiyama, Y. Orimoto, and Y. Aoki, *Int. J. Quantum Chem.*, **1999**, 74, 761; (b) L. Jiang, Y. Orimoto, and Y. Aoki, *J. Chem. Theory Comput.*, **2013**, 9, 4035.

水溶液中の溶質粒子の親水性・疎水性に関する理論的研究

(金沢大・理工) ○川口一朋、齋藤大明、長尾秀実

Theoretical study of hydrophilicity/hydrophobicity of solute particles in a water solvent

(Inst. Sci. Eng., Kanazawa Univ.) ○Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito and Hidemi Nagao

【序】水溶液中のタンパク質間に働く相互作用は、タンパク質の内部構造および複合体構造の安定化に重要である。しかし、タンパク質の表面には親水性領域、疎水性領域がそれぞれ存在しているため、タンパク質間相互作用は複雑なものとなる。大規模なタンパク質複合体の構造安定性を議論するためには、粗視化モデルを用いたシミュレーションが必要となる。しかし、Go-like モデルなどのようなタンパク質の粗視化モデルにおいては、原子レベルの構造情報が失われており、タンパク質間の相互作用を十分に取り入れることが難しい。そのため、アミノ酸残基レベルでの相互作用ポテンシャルの構築が必須である。

我々はこれまでに、水溶液中のタンパク質と基質分子間に働く有効相互作用を、全原子分子動力学 (MD) シミュレーションと熱力学的積分法を用いた自由エネルギー計算により求め、タンパク質と基質の間に実効的な引力が働くことを明らかにしてきた [1]。また、球状粒子間に働く有効相互作用の粒子サイズ依存性について議論してきた。そこで本研究では、水溶液中の球状分子間に働く有効相互作用を説明するための単純なモデルを構築する。またアミノ酸側鎖アナログに対する有効相互作用を求め、側鎖間の有効相互作用を考慮した粗視化モデルの構築を目指す。

【方法】これまで求めてきた球状粒子間の有効相互作用を、Asakura-Oosawa 理論による枯渇ポテンシャルおよび溶媒との相互作用を考慮したポテンシャルと比較する。粒子間距離を r とし、溶質分子と溶媒分子の直径の和を l 、浸透圧を p_0 とすると、枯渇ポテンシャル $\Phi_{AO}(r)$ は

$\Phi_{AO} = -(r-l)^2(r+2l)p_0/12$ とかける [2]。また、溶質分子の接近によって生じる溶質-溶媒間

のポテンシャルエネルギー損失 $\Phi_1(r)$ を $\Phi_1(r) = \varepsilon_{LS} p_0 \Delta v_1 / k_B T$ と表す。ここで、 ε_{LS} は溶質-溶媒間の会合エネルギー、 Δv_1 を溶質二粒子の接近によって生じる第一溶媒和層の体積変化、 T を温度、 k_B をボルツマン定数とする。

本研究では、水溶液中の溶質分子間に働く有効相互作用を明らかにするために、球状粒子および、アミノ酸側鎖アナログに対して水溶液中での分子動力学シミュレーションを実行する。アミノ酸側鎖アナログとしてメタン（アラニン側鎖アナログ）、メタノール（セリン側鎖アナログ）およびプロパン（バリン側鎖アナログ）を用いた。溶媒分子に対しては TIP3P モデルを用いた。これらの系に対して、300 K、1 atm の NPT アンサンブルによる MD シミュレーションを実行した。温度制御には Nose-Hoover chain を、圧力制御には Andersen の方法を用いた。MD の時間刻みを 2.0 fs とし、長距離静電相互作用の計算には Particle Mesh Ewald を用いた。溶質粒子間に働く有効相互作用を明らかにするために、熱力学的積分法を用いて溶質粒子間距離 r の関数としてギブス自由エネルギーを計算した。まず、溶質粒子間に働く平均力を距離 r の関数として求めるために、 r の刻み幅を 0.1 nm とし、各点で r を拘束した MD を実行した。平衡化後の 1.0 ns のトラジェクトリから平均力を算出した。この結果から、熱力学的積分法によりギブス自由エネルギーを求めた。

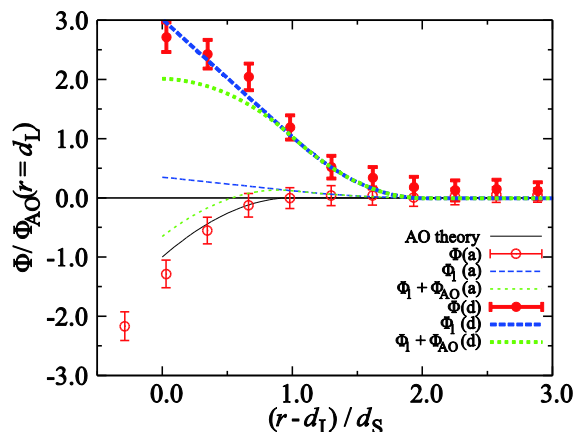


図 1: 溶質粒子間距離 r に対する自由エネルギープロファイル。

【結果と考察】図 1 に MD の結果から得られた球状粒子間の有効相互作用と $\Phi_{AO}(r)$ および $\Phi_1(r)$ を比較したものを示す。疎水性粒子（○）の場合、有効相互作用は枯渇ポテンシャルに近い振る舞いをし、親水性粒子（●）の場合は $\Phi_1(r)$ に近い振る舞いをすることが示された。メタン分子（アラニン側鎖アナログ）間の有効相互作用および、同サイズの球状粒子間の有効相互作用を図 2 に示す。平均力、自由エネルギーともに球状粒子と同様の振る舞いを示しており、アラニン側鎖は球状粒子としてモデル化できることがわかる。

【参考文献】

- [1] K. Kawaguchi, H. Saito, S. Okazaki, H. Nagao, Chem. Phys. Lett., 588 (2013) 226.
- [2] S. Asakura, F. Oosawa, J. Chem. Phys., 22 (1954) 1255.

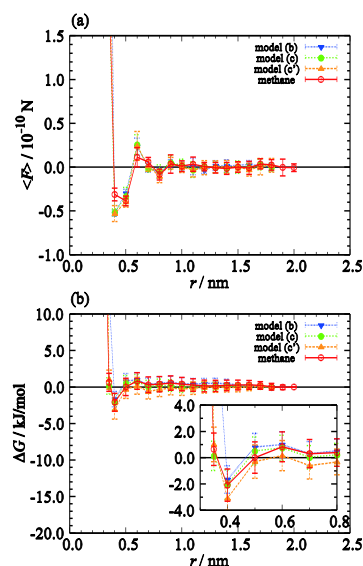


図 2: メタンおよび同サイズの球状粒子間働く平均力（上）と自由エネルギー変化（下）。