

高分子ゲル電気泳動

東京大学 物性研 我妻 竜三、高山 一¹

序

DNA ゲル電気泳動法は DNA を長さによって分別するクロマトグラフ技術の一種である。当初、定常電場を用いて荷電 DNA をゲル中で泳動させていたが、種々の非定常電場法が開発され、今日では長鎖 DNA (20kbp-数 Mbp) の分別が可能となっている [1, 2]。しかしながら、これらの手法に対する物性基礎論的な解釈は定常電場法についてさえまだ確立していない。現在我々は、定常電場ゲル電気泳動における DNA1 分子の運動のメカニズムを統計物理学の見地から調べている。静止摩擦力がゼロの系ではあるが、運動形態に対応して複雑な動摩擦力を受けている系とみることができる。DNA の運動の主な要因がその形態エントロピーの変化にあることを強く示唆する、最近の我々のシミュレーション結果について以下に報告する。

ブラウニアン動力学 (BD) 法によるシミュレーション

我々が用いた BD 法では、まず、長鎖 DNA を以下のようなバネ・ビーズ模型で記述する。各ビーズは半径 $1/2$ の球で電荷 q をもち、次のような力を受ける。

1. 隣接ビーズ間の張力：非線形性が強い極限として、隣接ビーズ間の距離 l が $l \leq \sqrt{2}$ ではゼロ、 $l > \sqrt{2}$ では無限大とする ($l \leq \sqrt{2}$ を保つ束縛力)。
2. 排除体積による力：任意のビーズ対間の距離 l' を $l' \geq 1$ に保つ束縛力で、具体的には、ビーズを剛体球とし、二つのビーズの (非) 弾性散乱を解析する。
3. 媒質からの粘性力、および、これに対応するランダム力 (白色ノイズ)。
4. 電場による力。

なお、ゲル (障害物) は半径 $1/2$ の球が連なった直鎖からなる、空間に固定された 3 次元のジャングルジムで表し、高分子鎖に及ぼす力は上記の力 2 と同じように取り扱う。

以上の力のもとで運動する高分子鎖に対するランジェバン方程式を解くのであるが、従来の BD 法と比べて、我々の解法には次の点で新たな工夫が凝らされている。従来の BD 法 [3] では、力 2 は無視され (ファントム鎖)、力 1 については制約 $l \leq \sqrt{2}$ の代わりに l 一定の制約を課し、これを満たすように運動方程式を差分で解くときの時間ピッチ Δt を随時調節していたが、我々は、 Δt を一定に止め、撃力としての力 3 と力 4 が $t = 0$ で働いたとして、 $0 < t < \Delta t$ 間に働く力 1 と力

¹ E-mail: takayama@issp.u-tokyo.ac.jp

2を含めた運動を過制動条件で解いた。さらに、この際に生じた剛体球散乱および制約 $l \leq \sqrt{2}$ と同じ効果 (1 ピッチ後のビーズの位置が同じ) を引き起こす ($t = 0$ に撃力として働く) 線形有効張力を全て計算した。後者の時間・空間平均が、実は、形態エントロピー起因の弾性力と解釈されることが以下で示される。

DNA の伸び縮み運動

定常電場ゲル電気泳動法で通常用いられる $1\text{V}/\text{cm}$ 程度の電場の下では、DNA 長 M がある程度大きくなると、その移動度は M に依らなくなり、 M による DNA の分別ができなくなる。このような電場と M の領域では、DNA が障害物にトラップされて引き延ばされ、その後トラップをはずれてコイル状に縮むという、伸び縮み運動が見られる [4]。我々の BD 法シミュレーションでも同様の伸び縮み運動が容易に再現される。図 1 は鎖形態の電場方向の射影をスナップショットとして、一定の時間間隔をおいて見たものであり、また、図 2 は鎖の慣性テンソルの主値 (長軸) $R_l(t)$ と重心速度 v_G の時間発展であり、いずれも鎖の伸び縮み運動が一目で見て取れる。

なお、本図を含め以下に示される結果は、間隔 17 のジャングルジム内を進む、 $M = 240$ の鎖について得られたものである。

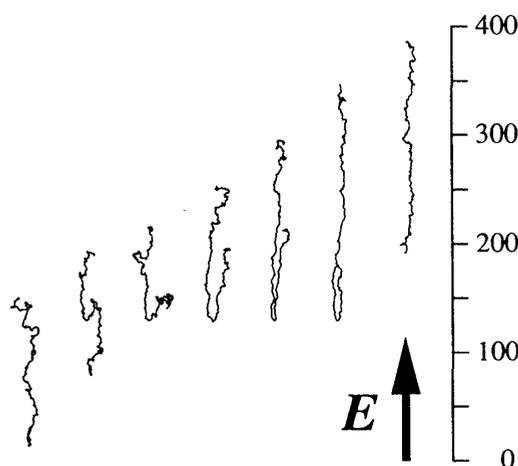


図 1: 電場方向のスナップショット

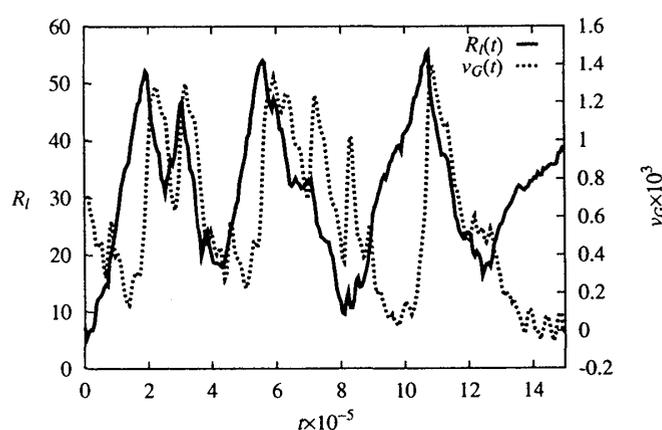


図 2: R_l, v_x の (擬周期的) 時間発展

伸び縮み運動の統計的な振舞いを明らかにするため、まず空間の粗視化として、10 個ずつのビーズに関して平均したものを一つの部分鎖とし、鎖を $M/10$ 個の部分鎖の連なりとしてデータを解析した。次に粗視化された鎖の $R_l(t)$ のそれぞれのピークについて、そのピーク時間 t_{\max} を時間の原点に揃えて、約 200 個のピークに対する平均を行った。そのようにして得られた、各部分鎖の t_{\max} における重心座標 X_G からの相対位置を図 3 に示した。鎖後ろ側の部分鎖が、早い時刻では先頭部と同じ向きに運動しているが (U 字状形態の形成)、しばらくするとより長く伸びた方の腕に引かれて運動の向きが逆転し、トラップを抜けた後 I 字状形態をとり、早い速度で先頭部に追い付く (コイル状形態の形成)。興味深いことは、鎖後ろ側がこのような大きな形態変化をしている間も、先頭近傍の部分鎖はほぼ一定速度で進行している点である。

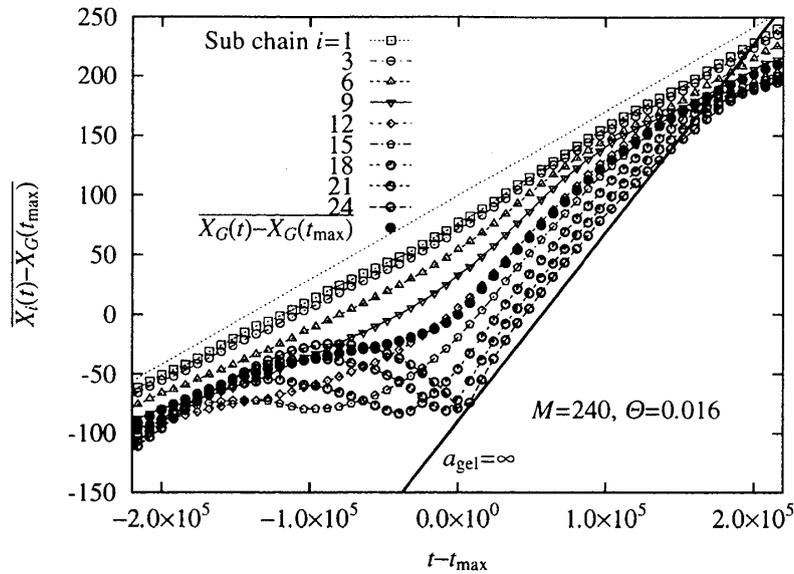


図 3: 部分鎖の座標 X_i の時間変化。添字 i は部分鎖を先頭から順に番号つけたもの。

1 本の高分子鎖の形態エントロピーに起因する弾性力

鎖の形態変化を表示する別法として、各時刻 t の部分鎖の座標 $X_i(t)$ を i に対してプロットしたもので、その時間発展を図 4 に示した。 $t = 0$ の図は鎖がトラップを抜け出す直前のもので、 $X_i(t)$ の差渡しは平衡コイル状態 ($t = 1.44 \times 10^5$ の状態がほぼ対応する) のその 4 倍強であり、これが前述の I 字形態をさす。また、図 1 の U 字形態は、図 4 の表示では V 字形態とよべる。先に述べた (部分鎖間の) 有効張力 $\langle T_i \rangle$ の時間発展を示したのが図 5 である。一目で見取れるのは、図 4 で鎖が障害物にトラップされて V 字形態をとるのに対応して、 $\langle T_i \rangle$ が Λ 字状になっており、一様に帯電した弾性紐が障害物に引っかかりながらも電場で引っ張られる運動を連想させる。実際、図 6 に模式的に示した帯電した弾性バネビーズ模型を、時刻 $t = 0$ で障害物に位置するビーズを指定して解くと、ほぼ定量的にも図 4, 5 と一致する X_i と $\langle T_i \rangle$ が得られる。

図 6 の単純化された 1 次元模型は、Masubuchi ら [5] が連続空間で定式化した模型を離散化したものになっているが、彼らが強い非線形性を伴う弾性力を導入したのに対して、我々の模型ではフック則に従う線形弾性バネで現象が十分よく記述される。もう一つ、細かいようで重要な違いは、電場方向に運動する先頭のビーズには内側のビーズに対するものより倍程度大きい粘性係数を与え、かつ、電場方向に向かうビーズ間の追い越しを禁止したことである。これによって、図 3 で見られたと同様に、鎖全体が伸び縮み運動をしているにも拘らず、先頭ビーズがほぼ定速で運動する現象が再現される。

3 次元の BD 模型に戻ると、先頭部分鎖は、ゲル中で電場方向の進路を探っていく際にゲルにぶつかり、ゲルから電場と逆向きの力を受けるが、その大きさは、前の部分鎖にフォローして進む内側の部分鎖が受けるよりも大きい。この事情が先頭部の大きな粘性係数で反映されているものと考えられる。さらに付言すると、先頭部分鎖がその内側の部分鎖から受ける張力 $\langle T_1 \rangle$ もまた、伸び縮み運動の間ほぼ一定であり、その大きさは、障害物のない空間をコイル状のまま電場方向

に運動する場合の $\langle T_i \rangle$ に数値精度の範囲で一致することが確かめられた。これは、鎖の真中がトラップされない限り、トラップによって生じた鎖内の余分の張力が先頭部分に到達していないと解釈される。

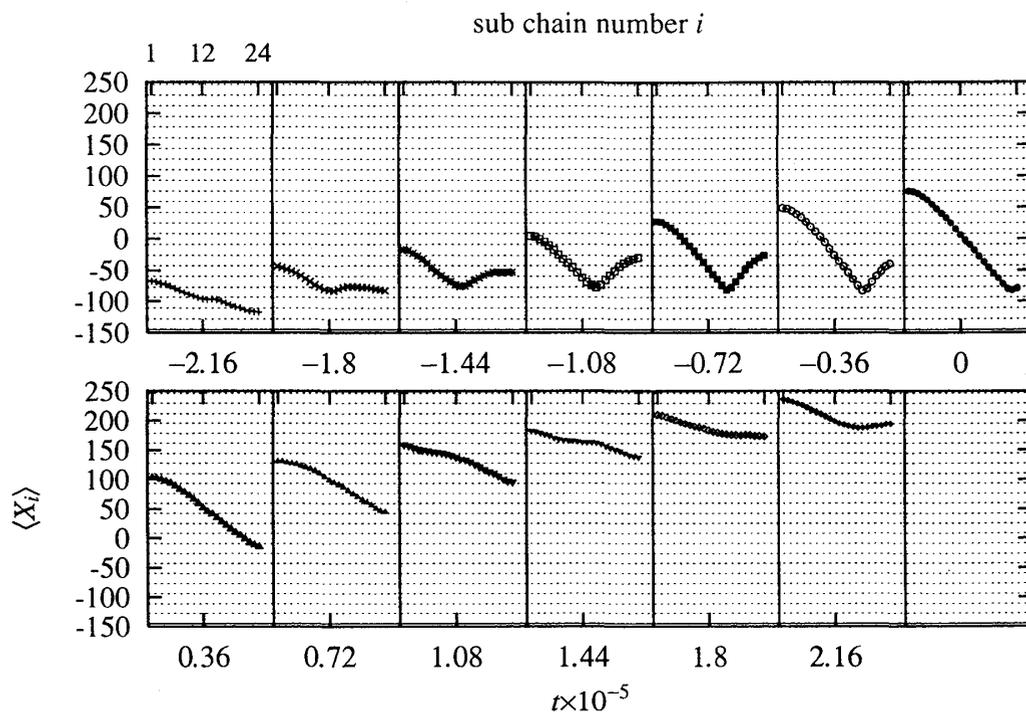


図 4: 鎖の形態変化

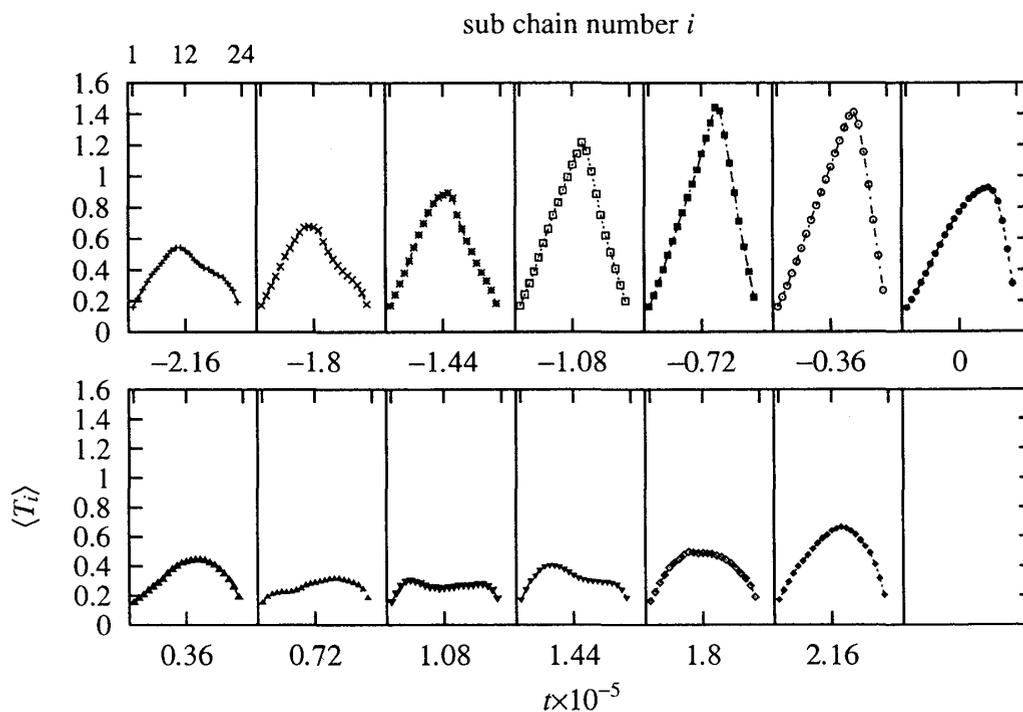


図 5: 部分差間の有効張力

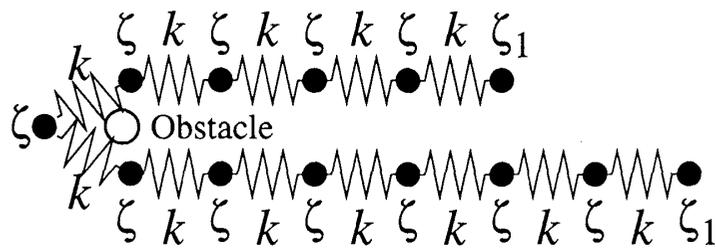


図 6: 単純化された 1 次元「ばねビーズモデル」

結び

障害物のある 3 次元空間を運動する高分子鎖に対して、力学的に素性がはっきりしている、前述の力 1-4 を考慮してランジェバン方程式を解き、結果を空間的に粗視化し、また、多数の運動について平均化してみることににより、形態エントロピー起因の「ゴム弾性」描像が 1 本の高分子鎖にも成り立つことを示した。従来、形態エントロピー起因の(非線形)弾性力とランダム力を基本とするモデルがよく調べられてきたが、この場合のエントロピー力とランダム力との関係は十分注意する必要があると思える。さらに、前節で述べたように、先頭部分鎖が常にほぼ等速で進むことについても、鎖の先頭部分と障害物にトラップされる部分の形態的な特徴が重要であり、この考察に従えば、鎖に伸び縮み運動が現われる場合においても、先頭部の速度(=全体の平均泳動速度)は、先頭部周辺だけで局所的に決まることになり、定常電場ゲル電気泳動では M の異なる高分子鎖が分別できないことを説明する。実際、 $M = 80, 160, 240, 320$ の高分子鎖に対する我々の BD シミュレーションにおいて M によらない移動度が検証されている。

参考文献

- [1] B. Norden, C. Elvingston, M. Jonsson, and B. Åkerman, *Quart. Rev. Biophys.* **24** (1991), 103.
- [2] B.H. Zimm and S.D. Levene, *Quart. Rev. Biophys.* **25** (1992), 171.
- [3] J.M. Deutsch, *Science* **240** (1988), 922.
- [4] H. Oana, Y. Masubuchi, M. Matsumoto, M. Doi, Y. Matsuzawa and K. Yoshikawa, *Macromolecules* **27** (1994), 6061.
- [5] Y. Masubuchi, H. Oana, T. Akiyama, M. Matsumoto and M. Doi, *J. Phys. Soc. Jpn.* **64** (1995) 1412.