

氏 名	さい とう たく や 齋 藤 拓 也
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3110 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 物 理 学 ・ 宇 宙 物 理 学 専 攻
学位論文題目	Study on DNA compaction in the presence of small ions (低分子イオン存在下における DNA 凝縮転移に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 助教授 瀬 戸 秀 紀 教 授 太 田 隆 夫 教 授 山 本 潤

論 文 内 容 の 要 旨

本学位論文は3部4章からなっており、DNA 荷電高分子鎖の凝縮転移に伴う低分子イオンの振る舞いについての研究を主題としている。第1部では研究の動機ならびに本分野における過去の研究についての紹介を行っている。第2部では、DNA 荷電高分子鎖の凝縮に伴う低分子イオン、全体としての振る舞いについての研究の結果を報告している。最後に第3部では、全体の総括について述べている。以下、各章の要旨を述べる。

第1部は第1章、第2章よりなり、第1章では研究の動機について述べている。従来の多価カチオン誘起による荷電高分子鎖の凝縮転移に関する理論的研究は、凝縮剤である多価カチオン間の相関に焦点を絞ったものであった。しかしながら、現実の生体内、及び、凝縮転移を再現する実験系においては、直接的に凝縮に関与しない一価塩などが比較的多量に存在している。このようなクーロン多体系において、一部のイオン種だけに注目する従来の理論的な取り扱いには本質的な問題があると考えられる。現象の正確な理解のためには、低分子イオン種全体について、その振る舞いを調べなければならない。第2章は、過去の研究、基礎的な知見についてであり、多価カチオン、中性高分子誘起による凝縮転移、コアヒストンなどの系における折り畳み転移に関する実験・モデル化に関する学問の到達点を概説している。

第2部は第3章と第4章よりなる。第3章では、共イオン（DNA にとっての低分子アニオン）の効果について報告している。この章は、塩濃度依存性の理論的考察、共イオン価数依存性についての実験・理論的考察という構成となっている。まず、塩濃度依存性について理論的考察が述べられている。多価カチオン・中性高分子の添加は DNA の凝縮を誘起するが、一価塩濃度依存性は凝縮の阻害・促進と正反対を示す。これは凝縮に伴う低分子イオンの並進エントロピー変化を考慮することにより説明できるとの理論的考察がなされている。更に、多価カチオン系においては、多価カチオンと共イオンのイオン対を考慮したモデルが提案されており、共イオン濃度の増加による凝縮の阻害効果についても議論がされている。この研究について、*Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* において公表予定である。次に、多価カチオン・中性高分子存在下での共イオン価数の効果に関する結果について報告がなされている。多価カチオン・中性高分子存在下において、一価カチオン濃度の増加は凝縮を阻害・促進のそれぞれ正反対の効果を持つものの、共イオン価数に関する効果は同じ傾向であり、相図上でのコイル状態がより安定な領域が広がることが実験的に示されている。これら転移点の変化は、中性高分子、多価カチオン系においては、それぞれ、Debye-Huckel 近似におけるイオン雰囲気、多価カチオンと共イオン間のイオン対を考慮することがその要因となっていると結論づけている。第4章において、多価カチオン存在下における温度依存性に関する研究成果が報告されている。凝縮状態は高温側で安定、コイル状態は低温側で安定になることを、蛍光顕微鏡による単分子観測により示した。この現象は、凝縮転移に伴い、カチオン間・アニオン間にイオン交換が起こることによるものと結論されており、2状態近似をもとにしたモデルが提案され数値計算を行った結果が示されている。本章の内容は、*Europhysics Letter* に公表されている。

第4部は第5章よりなり、全体の総括について述べている。これまでの研究成果についてまとめ、DNA 荷電高分子鎖の

凝縮転移に伴い、系に存在する低分子イオンが全体としてどのように振る舞うのかといったことを総体的に論じている。

論文審査の結果の要旨

本論文は、荷電高分子である DNA の凝縮転移を取り上げ、その機構を実験的・理論的に解明しようと試みたものである。コロイド系に代表されるようなメソスケールの荷電系において、Poisson-Boltzmann 方程式は理論的研究においてこれまで中心的役割を果たしてきた。コロイド凝集系を説明する場合よく用いられる DLVO 理論はこの描像に立脚している。この枠組みによると、塩を添加することによってイオン強度が増大し、静電反発が小さくなるために全相互作用は引力的になるとされている。しかしながら、多価カチオン添加により凝縮した DNA が一価塩の添加により脱凝縮するというよく知られた現象を、この枠組みでは説明し得ない。なぜなら、更なる塩の添加はイオン種によらず相加的にイオン強度を増大させその枠組みでは引力的になるからである。このように、一価カチオン等は DNA 荷電高分子鎖を直接凝縮させないが、DNA のような相関の強いクーロン多体系の凝縮転移において Poisson-Boltzmann 方程式に帰着されない大きな寄与を持っている。実際の DNA 凝縮転移の実験系のみならず、生体内は一価カチオンや低分子アニオンが多数存在する有塩系であり、生命現象を考える上でもそれらの影響は大きい。従って、DNA 凝縮転移における低分子イオンの効果について明らかにした本論文は、クーロン多体系である DNA の系についての学問的な理解を深めるだけでなく、生命現象を理解する上でも意義は大きい。

本論文における第一部は、多価カチオン添加により誘起される DNA 凝縮転移の温度依存性の実験結果を示し、そのメカニズムについて述べている。まず最初に、蛍光顕微鏡による単分子観測の実験結果を示し、高温側で凝縮状態が安定になるという結果を述べている。従来の理論のほとんどは多価カチオン間の相関のみに着目し、同種高分子間に働く引力について研究が進められてきたが、そのような枠組みでは低温側で凝縮状態が安定となるはずで、本実験結果はこの予測に反したものになっている。すなわち、今回の温度依存性に関する結果より、従来の理論が DNA の凝縮転移を説明できないことは明らかである。そこで本論文では、そのメカニズムとして凝縮に伴いイオン交換が生じ、これが系全体のエントロピーを増大させる原因であるとした。このときのイオン交換とは、多価カチオンと一価カチオン間、ポリアニオンである DNA と一価アニオン間で交換が生じるとするもので、凝縮状態を安定化させているエントロピー的な得だけではなく、コイル状態を安定化させているエンタルピー的な得をも説明し得るものである。このようなイオン交換のメカニズムは、DNA と同様に荷電高分子である蛋白質の折り畳み転移の機構の解明につながる可能性がある。

第二部においては、直接的に凝縮を誘起しないと考えられる共イオン（低分子アニオン）の DNA 凝縮転移に関する実験結果と理論的研究について述べている。まず、中性高分子・多価カチオンによる DNA の凝縮転移が共イオンの価数を変化させた時にどのように変化するかについて実験結果が示されている。それによると、どちらの凝縮剤においても共イオン価数の上昇とともにコイル状態が安定になるとの結果が得られている。すなわち、これまでほとんど無視されてきた共イオンは、単に様な background になるわけではなく、凝縮転移点の挙動に大きな影響を及ぼすことを実験的に示したことになる。続いて本論文では、この共イオンの効果について、多価カチオンと共イオン間で形成されたブエルム対の寄与を取り入れて DNA 凝縮転移のメカニズムを提案した。ここで導入したブエルム対とは、低分子イオン間の実効半径からブエルム長程度の範囲で静電エネルギー的に形成されたイオン対のことを意味し、実験結果で得られた高価数の共イオンの阻害効果は、高価数の共イオンと多価カチオン間のブエルム対の方が静電エネルギー的な得が大きいためとしている。これまで荷電高分子のイオン分布を説明するモデルとして最も一般的であった Poisson-Boltzmann 方程式的描像において、このようなブエルム対は含まれていない。本論文において、Poisson-Boltzmann 方程式的平均場近似理論である対イオン凝縮理論を拡張したモデルを構築し、共イオンの価数変化に伴う転移点の濃度変化を説明できたことは大きな意義がある。このメカニズムは共イオン価数依存性のみならず、温度・塩濃度依存性をも統一的に説明し得るものであり、本論文の中で最も大きな成果である。生物学的には ATP は代表的な低分子アニオンであり、その加水分解によって、エネルギーを得ていることを考えれば、低分子アニオンが DNA の凝縮転移と密接に関係しているという事実は、生命現象における DNA の凝縮転移と ATP の相関を考える上で今後に向けて重要な示唆をしていると言えるであろう。

以上に述べた点から総合的に判断し、本学位申請論文は優れたものとなっており、学位取得に値するものであると言える。

また物理学をはじめとする基礎的学問に関する学識も優れていると判定した。以上のことより，博士（理学）の学位論文として十分学問的価値を有すると判断し，合格と認めた。