

1 分子DNAの凝縮転移：張力応答の凝縮剤濃度依存性

東京大学大学院理学系研究科物理学専攻 村山 能宏, 佐野 雅己

DNAや蛋白質などの生体高分子は、熱的に揺らいだ環境の中でその構造を変化させ分子レベルで機能を発揮する。溶液中の生体分子を1分子レベルで測定することは、生体分子間相互作用を定量的に理解し、少数分子による生体内化学反応機構を明らかにする上で重要となる。溶液中のDNAは、多価陽イオン濃度が臨界値に達することで、広がったコイル状態から凝縮状態へと変化することが知られている。DNAの凝縮転移は、ウィルスや細胞内でのDNAの折れ畳みとの関係からも広く注目され、現在までに多くの実験、理論的研究が行われてきた[1]。従来の実験の多くが多分子系での測定であったのに対し、我々は1分子計測の手法を用いて凝縮転移下におけるDNAの力学応答について調べてきた[2]。ここでは、凝縮剤濃度に依存した1分子DNAの力学応答について報告する[3]。

全長 $5.3\mu\text{m}$ (15.7kbp) のDNA鎖の両端に $2\text{-}3\mu\text{m}$ のポリスチレンビーズを結合させ、各ビーズを光ピンセットで捕捉しDNAを伸張させその時の張力を測定した。凝縮剤として3価のポリアミンであるスperlミジン (SPD) を用いた。試料セル内の溶液を既知濃度の SPD 溶液に交換し、溶液交換前後で張力応答を測定した。SPD 濃度 $N=200\mu\text{M}$ ではDNAは非凝縮状態にあり、伸張、緩和の両過程とともにウォームライク鎖 (WormLike Chain) の振る舞いを示す。一方、SPD 濃度 $N=500\mu\text{M} \sim 100\text{mM}$ では分子内凝縮が生じ張力応答はWLCの応答と大きく異なる。図1にSPD 濃度 $N=500\mu\text{M} \sim 100\text{mM}$ における伸び-張力曲線を示す。 $N=500\mu\text{M}$ では伸張、緩和の両過程で $1\text{-}2\text{pN}$ のプラトーが観測された。また $N=1 \sim 100\text{mM}$ においては、伸張過程において張力の増加と急激な減少を繰り返す stick-release パターンが観測され、緩和過程では $0.5\text{-}2\text{pN}$

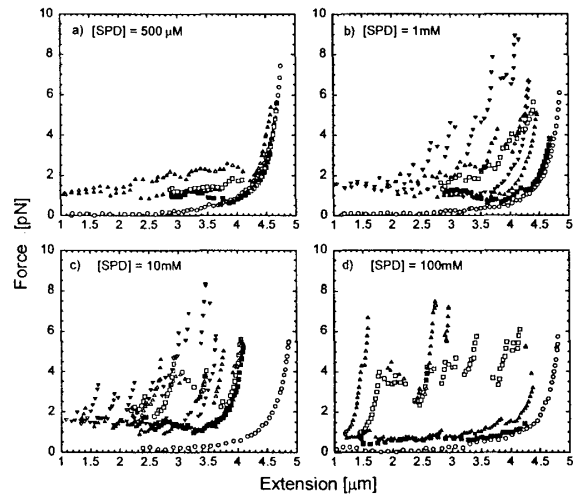


図 1: 各 SPD 濃度における伸び-張力曲線。 $N=500\mu\text{M}$ (a), 1mM (b), 10mM (c), 100mM (d). ○: $N=0\text{mM}$ (溶液交換前), ■: 溶液交換後 1 回目の緩和過程, □: 1 回目の伸張過程, ▲: 2 回目の緩和, △: 2 回目の伸張, ▼: 3 回目の緩和, ▽: 3 回目の伸張。

のプラトーが観測された。張力のプラトー特性は、DNAの両端に力が加えられることで分子内に凝縮、非凝縮状態が共存し、双安定状態が保たれていることを示している。一方、stick-release パターンについてはこのような単純な描像では解釈できない。Stick-release パターンを示す時の張力のピーク間距離を求めそのヒストグラムを得ると、ピーク間距離におよそ 300nm の特徴的長さが存在することが分かる (図2)。この長さはDNAの凝縮時に形成されるトロイド構造の一巻き分の長さに相当する。Stick-release パターンは、ある特徴的な大きさを持った凝縮構造が安定化し、この構造単位で凝縮が解かれている可能性を示唆する。

さらなる高濃度条件下 ($N=200\text{mM}$) では、

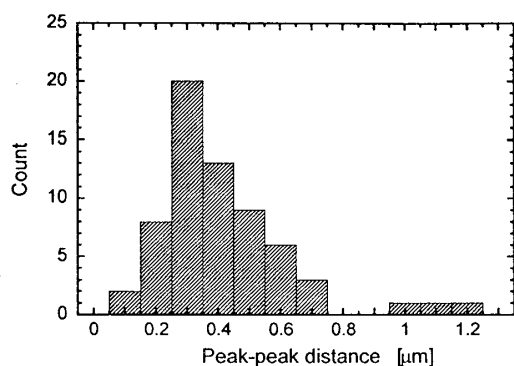


図 2: ピーク間距離のヒストグラム.

溶液交換中において凝縮状態からの再解離現象を1分子DNAの力学応答として観測することに成功した(図3a). 再解離した後のDNAは, 凝縮前と同様に伸張-緩和の両過程においてWLCの応答を示す(図3b).

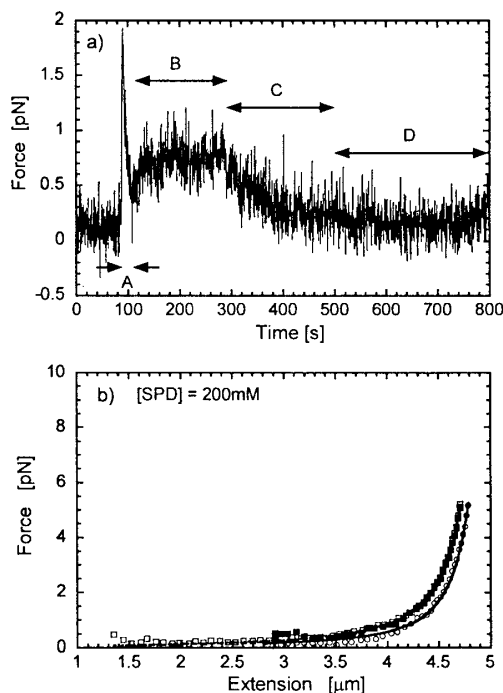


図 3: a) 200mM SPD 溶液交換中の張力の時間変化. b) 再解離したDNAの張力応答.

多価イオンによるマクロイオンの遮蔽[4]を考慮した理論では, DNAの中性化の割合に応じて凝縮の程度に違いが生じ, 多価イオン濃度の上昇にともないDNAの正味の電荷

が反転しDNAが過剰に正に帯電することで, 凝縮DNAの再解離が生ずることが示唆されている[5]. 本測定結果から得られた凝縮にともなうエネルギー $0.06k_B T/bp$ は, 理論から得られる値 $0.09 k_B T/bp$ とほぼ一致する. また, 凝縮時におけるプラトーの大きさは N に依存しており, $N=1 \sim 10\text{mM}$ の間で最大値をとる(図4). この結果は, N に依存してDNAの中性化の割合が変化し凝縮の程度に違いが生じたものと考えられ, 最大値を示す N の値はDNAが完全に中性化される多価イオン濃度と解釈される.

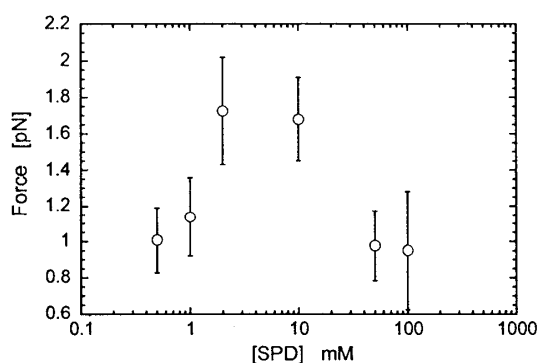


図 4: プラトーの大きさの SPD 濃度依存性.

参考文献

- [1] V. A. Bloomfield, *Biopolymers* **44**, 269 (1997).
- [2] Y. Murayama, M. Sano, *J. Phys. Soc. Jpn.* **70**, 345 (2001).
- [3] Y. Murayama, Y. Sakamaki, and M. Sano, in preprint.
- [4] B. I. Shklovskii, *Phys. Rev. E* **60**, 5802 (1999).
- [5] T. T. Nguyen, I. Rouzina, and B. I. Shklovskii, *J. Chem. Phys.* **112**, 2562 (2000).