

「分子複合系の構築と機能」  
平成11年度採択研究代表者

吉川 研一

(京都大学大学院理学研究科 教授)

## 「自己生成する高分子ナノ秩序体：高次構造制御と機能発現」

### 1. 研究実施の概要

生体は核酸や蛋白質等の高分子や数多くの低分子化合物・イオンからなる、高度に複雑な自律的システムと見なすことが出来る。なかでも生体高分子の高次構造が幅広く種々の生体機能と関わっていることがますます明らかになってきている。DNAに関連する、我々のこれまでの研究から、個々のDNA分子が凝縮状態とコイル状態間で不連続な折り畳み相転移(1次相転移)を示すことが明らかにされてきた。さらに、DNAの単一分子鎖の折り畳み構造には、ドーナツや棒状などの多様な秩序が存在することを実験・理論両面から明らかにしてきている。そして、このような高次構造のスイッチング現象は遺伝子の転写や複製の制御とも深く関わっているものと予想される。

本研究はこのようなDNA分子の高次構造のスイッチングとそれによる秩序構造の生成の研究を他の天然・合成高分子系に応用し、"単一分子鎖によるナノ秩序体の自己生成"といった分野を新たに切り拓くことを目的とする。具体的には、DNAやタンパク質のような機能性生体高分子や精密合成された人工高分子について人為的・合目的的に高次構造を制御し、新しいナノ秩序体を作り出す方法論の確立、さらに新たな機能発現を指向した高次構造の創出へと展開させる。本研究で得られた成果から、高分子科学等への学術上の寄与だけでなく、新機能性材料の開発等への多大な貢献が期待できる。

### 2. 研究実施内容

研究開始後、数カ月ではあったが、平成11年度にはこれからの研究の飛躍につながる成果が得られた。以下には、そのうちの主要な結果を要約する。

#### (1) DNA単分子鎖の折り畳み相転移の熱力学

我々の研究グループでは、蛍光顕微鏡を用いた単分子観測によりDNA折り畳み相転移を研究してきている。そこでは従来の連続的に起きると考えられてきたコイル?グロビュ?ル転移の研究と異なる現象が次第に明らかになってきた(折り畳み相転移)。その要点は、次の3点にまとめられる。

- (a) DNA単分子鎖は、折り畳み状態（凝縮状態）とコイル状態（脱凝縮状態）の間で体積比 $10^4 \sim 10^5$ 倍にも及ぶ不連続な相転移を起こす（1次相転移）。
- (b) 折り畳み相転移点近傍では2状態が有限の幅で共存を示す。
- (c) 従来考えられてきた連続転移の描像は、集団観測に基づいたものであることを考慮すれば、以上のことから説明できる。

本研究では、これまで不明確であったDNA単分子鎖の折り畳み相転移に関する熱力学的描像を確立することを目指した。その結果、以下の2点が明らかとなった。

- (a) 折り畳み状態とコイル状態が共存する領域において、2相分布の温度効果の測定を行った。ポリエチレングリコール（PEG）中では、温度上昇と共に折り畳み状態からコイル状態に遷移した。これに対し、3価のカチオン存在下ではコイル状態から折り畳み状態へと遷移し、全く逆の温度依存性を示すことを確認した（図1）。また、これらの温度依存性から折り畳み相転移に伴うエントロピー変化  $\Delta S$  を実測した。
- (b) エントロピー変化の観点から、統計力学的な考察を行い、実測値と比較・検討を行った。その結果、対イオンの並進エントロピー変化が折り畳み相転移を引き起こす重要な因子であることが明らかになった（図2）。本研究成果は、ナノ秩序体形成を制御する上で極めて重要な知見である。

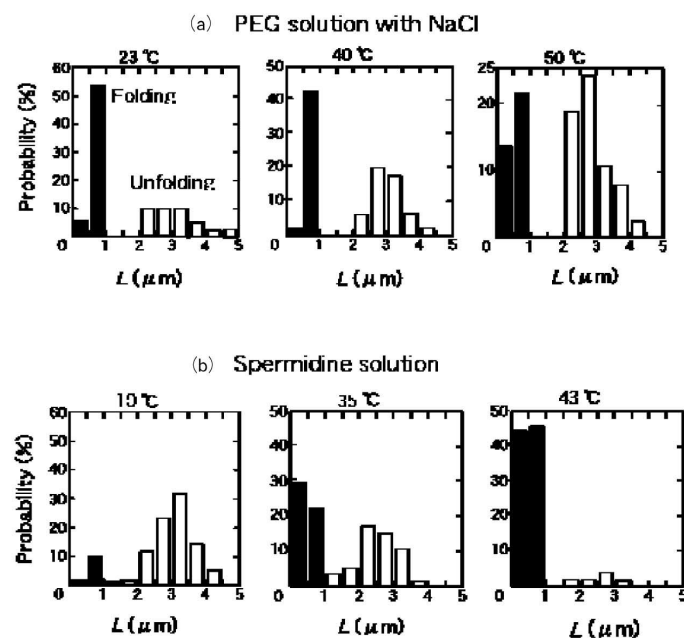


図1 DNA単分子鎖の折り畳み相転移の温度依存性  
 (a)ポリエチレングリコール溶液 (PEG)  
 (b)スperlミジン溶液 (Spermidine)

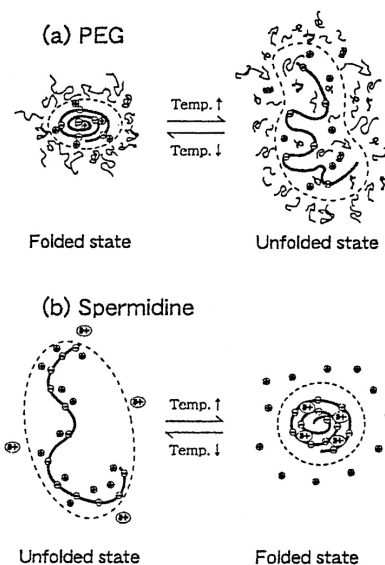


図2 DNA単分子鎖の折り畳み相転移の描像  
 (a)ポリエチレングリコール溶液 (PEG)  
 (b)スperlミジン溶液 (Spermidine)

(2) 巨大DNA単分子の協同転移と相転移

蛍光顕微鏡による単分子観察法を用いて、側鎖にポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)(PNIPAAm)をグラフトさせた巨大DNAの温度変化による高次構造変化を調べ、さらに、この結果と通常の2本鎖DNAが示す不連続転移との比較検討をおこなった。3価のポリカチオンであるスperlミジンを添加した場合のDNA鎖の凝縮は、単一分子レベルでは明らかに不連続的であるが、系のアンサンブル平均で見た場合は約30℃の広い温度幅を持った連続転移に見えることが、これまで報告されてきた。今回のPNIPAAm-DNA複合体の単分子観察では、溶液温度の上昇に伴い、34℃近傍で膨潤したコイル状態から凝縮状態へと、急峻かつ連続的に転移することが明らかになった。また、この系のアンサンブル平均からは、ポリカチオンによる非グラフトDNA鎖の凝縮の時よりも狭い温度幅で協同的に転移することが明かとなった(図3)。本研究は、同種の高分子(DNA)がグラフト化により、単一分子鎖レベルでの不連続な転移から連続的な転移に変わり、アンサンブルでは巾の広い転移からシャープな転移へ変わることを示したものとして、その原因的意義は大きい。

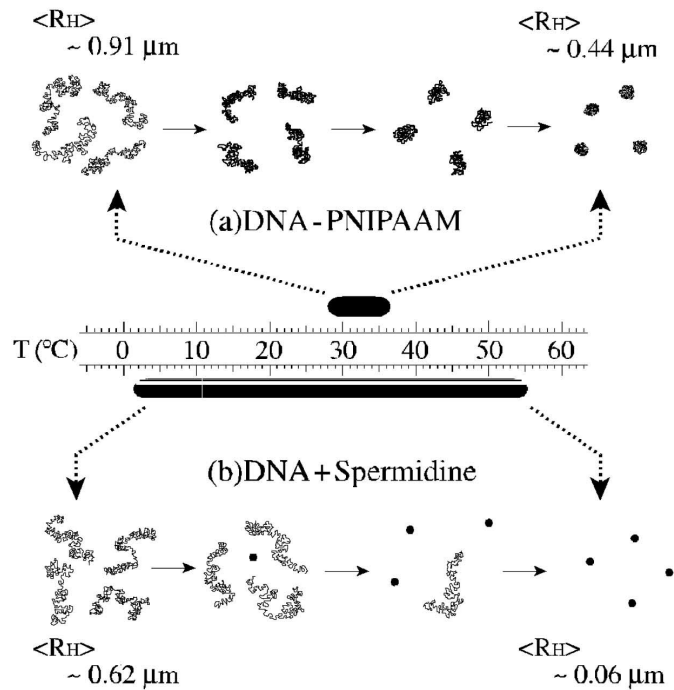


図3 連続的な協同転移と不連続転移の模式図

### 3. 主な研究成果の発表 (論文発表)

眞山博幸、岩滝敏男、吉川研一

"Thermodynamics in the Folding phase-transition of single T4DNA molecules in poly(ethylene glycol) solution"

• Chemical Physics Letters ( 9 December 1999 )

S. V. Mikhailenko、吉川研一、他5名

"Interplay between Folding/Unfolding and Helix/Coil Transitions in Giant DNA"

• Journal of the American Chemical Society ( 27 December 1999 )

眞山博幸、吉川研一

"Thermodynamics in Folding Transition of DNA"

• MACROMOLECULAR SYMPOSIA ( 17 January 2000 )

岩瀧敏男、吉川研一、木戸秋悟、梅野大輔、木地正美、前田瑞夫

"Cooperativity vs. Phase Transition in a Giant Single DNA Molecule"

• Journal of the American Chemical Society ( 21 January 2000 )

小平將裕、中田聡、早島祐子

"Mode selection of a camphor boat in a dual-circle canal"

• Chemical Physics Letter (16 February 2000)

野口博司、吉川研一

"Folding path in a Semiflexible homopolymer chain: A brownian dynamics simulation"

• Journal of Chemical Physics ( 21 February 2000 )

吉川研一、吉川祐子、野村慎一郎

"Controlling the folding/imfolding transition of DNA-histone H1 complexes by direct optical manipulation"

The Journal of the American Chemical Society (18 March 2000)

吉川研一、吉川祐子、神戸俊夫

"In Vitro Packing of Mammalian DNA Induced by Spermidine"

• The Journal of Physical Chemistry B (28 March 2000)

吉川研一 ( 京都大学大学院理学研究科 )、秋田谷龍男 ( CREST )

"非線形非平衡系としての生命"

「数理科学 Vol.441 MARCH 2000」