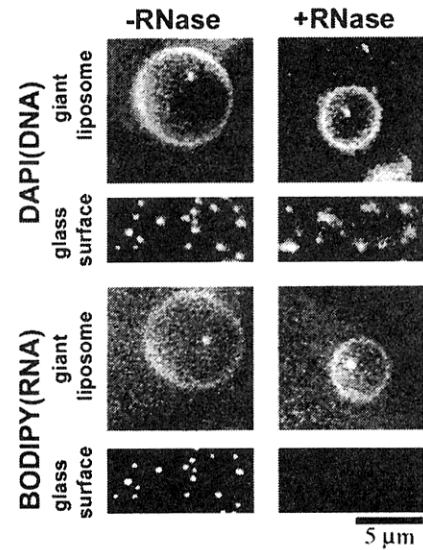


○野村 M. 慎一郎^{ab}、湊元 幹太^{ac}、中谷 陽一^d、吉川 研一^{ab}
^aCREST、^b京大院理、^c名大院、^dUniversité Louis Pasteur, France

われわれは、生細胞の内部に形成される環境の特異性に着目し、水溶液中で自発的に形成される細胞サイズのリポソーム(直径~10 μ m)を用いて人工細胞モデルの構築を試みている。これまでに、長鎖のDNA分子やタンパク質によって構造制御したDNA分子を封入した細胞サイズリポソームの形成に成功してきている。今回は、静置水和法によって形成された細胞サイズのリポソームの内部で、T7 ファージDNAの転写反応を行わせた実験の結果について発表する。DNAおよび転写産物のRNA分子を、色素を用いて可視化し蛍光顕微鏡による直接観察を行った。リポソーム外部にribonucleaseを加えても転写反応は阻害されず、リポソームの脂質膜がribonucleaseの攻撃から転写反応系を保護するバリアとして振舞うことが示された(図)。今後、タンパク質の発現系等をリポソームに組み込み、直接観察する実験系を構築してゆくことで、反応場としての細胞サイズ環境の役割、特に生化学反応およびその進行におよぼす影響を(バルク溶液中で行う実験に比べ)より詳細に理解することが可能になるものと期待される。

Ref: K. Tsumoto *et al.*, *Langmuir*, in press.



図：DNA 転写反応の蛍光顕微鏡像。リポソーム内部の RNA を示す蛍光が ribonuclease 添加後も保護されている。

蛍光・原子間力顕微鏡による巨大二重鎖 DNA の階層的コンフォメーション解析： 二次元自己排除鎖のスケーリング

○木戸秋 悟*・義永 那津人・吉川 研一
 CREST、京大院理 (*現所属：九大院医)

【緒言】 100kpbs 程度以上の二重らせん DNA は、数百 Kuhn セグメント(約 300bps)を有する巨大な屈曲性高分子である。そのような巨大 DNA は、蛍光顕微鏡によってその溶液中での形態を直接観察できるため、屈曲性高分子電解質鎖の溶液物性を系統的に調べる際の良いモデル系として扱える。本研究では、良溶媒中における巨大 DNA のランダムコイル状態の微視的形態に見られる階層的特徴を、蛍光・原子間力顕微鏡法により解析した。

【実験】 T4 ファージ DNA (166kpbs; 全長 57 μ m) を超希薄濃度 (0.1 μ g/ml) で 10mM Tris-HCl バッファーに分散させ、蛍光色素 YOYO で標識して蛍光顕微鏡観察を行い、単一鎖の (1) 溶液中での形態、(2) マイカ表面への吸着過程、(3) 吸着後の形態、をそれぞれ観察した。その後、蛍光観察によって特定したマイカ表面吸着後の T4DNA 単一分子に対して、原子間力顕微鏡による観察を行った。

【結果・考察】 T4DNA 単一分子は溶液中で 4~6 μ m 程度のサイズのランダムコイル状態をとりつつ、マイカ表面に吸着した (Fig.a)。その吸着後の T4 DNA 一本の AFM 像に対して、鎖上で任意の始点を取り、そのから離れた別の位置との間での末端間距離 (R) と鎖長 (L) の関係を調べたところ、鎖長に依存した次のような 3 段階のスケーリング挙動が見られることがわかった。(1) $L < 100\text{nm}$: $R \sim L^1$, (2) $100\text{nm} < L < 5\mu\text{m}$: $R \sim L^{1/2}$, (3) $L > 5\mu\text{m}$: $R \sim L^{3/4}$ 。このようなスケーリング挙動は、巨大な高分子鎖の吸着構造に顕著な階層性が存在していることを示すものである。排除体積効果を考慮した二次元の自己排除鎖の理論に基づいて、それらの 3 段階のスケーリング挙動が顕在化する原因を議論する。

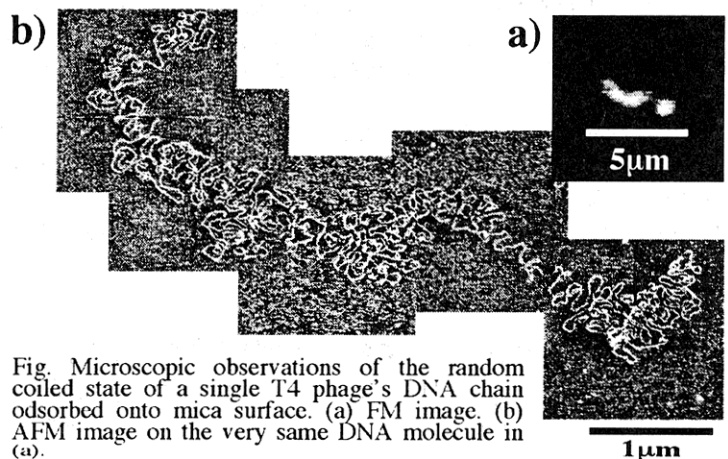


Fig. Microscopic observations of the random coiled state of a single T4 phage's DNA chain adsorbed onto mica surface. (a) FM image. (b) AFM image on the very same DNA molecule in (a).