

非平衡条件下で発動する DNA 分子の折りたたみ／解きほぐし振動

野村 M. 慎一郎 (京大・院・理), 眞山 博幸 (京大・CREST 研究員)

e-mail: shin-1@chem.scphys.kyoto-u.ac.jp

mayama@chem.scphys.kyoto-u.ac.jp

0. 抄録

ON/OFF 型のスイッチング挙動を示す分子機械のモデルとして、荷電高分子である長鎖 DNA 単一分子の温度変化による一次相転移 (折りたたみ／解きほぐし転移) 挙動に着目し、温度による非平衡開放系の条件を設計することで DNA 分子の凝縮と脱凝縮が周期的に繰り返されるとい運動が実現されることを明らかにした。

1. はじめに

地球上の生物が織り成す生命現象においては、空間的構造のみならず、時間軸上に展開される動的構造、すなわちダイナミクスが本質的に重要であろう。生物の最小単位である生細胞では、その機能をつかさどる分子機械のダイナミクスを次のような特質をもつ場でもって展開している。

- 溶液中で、慣性がではなく粘性に支配される、熱ゆらぎの非常に大きな環境であること
- 核酸やタンパク質などの荷電高分子が、低分子やイオンおよび水分子と協同的・自発的に時空間の構造を生み出し、機械として運動や仕事を行なうこと
- エネルギーの非平衡状態の下で自律・自己保存作用を行なうこと (平衡状態は死に相当する)

以上のような細胞中の環境にできるだけ近い条件下での“分子機械の動作原理”の解明は、生命現象の理解には不可欠である。本稿では筆者らが同問題に挑戦すべく最近行った研究の概要を示す。

2. 基本概念

高分子の相転移現象に由来する非線形特性に基づいた分子機械モデルの基本概念を以下に示す。溶液中の高分子電解質 (両性イオンを含む) は、対イオンの効果を考慮に入れると、その折りたたみ転移が ON/OFF 的に起こる、つまり

双安定な自由エネルギープロファイルをもつことが期待される。このプロファイルをオーダーパラメータ α (たとえば密度の関数) を用いて記述すると、その対称性を考慮して4次式で表される(1)。同様に、 α の時間変化は(2)のようになるとしてよい。

$$F = \frac{1}{4}\alpha^4 - \frac{1}{2}\alpha^2 + \tau\alpha \quad (1)$$

$$\frac{d\alpha}{dt} \equiv -k \frac{\partial F}{\partial \alpha} = -k(\alpha^3 - \alpha + \tau) \quad (2)$$

ここで、非平衡条件下ゆえに注入・散逸されるエネルギーに依存して τ (温度や化学ポテンシャルに対応する状態変数。ここでは DNA が感じる環境温度、 $(\tau \equiv (T - T_c)/T_c, T_c$: 臨界温度) が変化するならば、高分子鎖はこれにともない転移をおこす。たとえば τ の時間変化が(3)式のような性質をもつと、高分子鎖は非線形系に特有の現象であるリミットサイクル振動運動をおこすことができる。

$$\frac{d\tau}{dt} = \beta\alpha \quad (\beta: \text{正の定数}) \quad (3)$$

以上の概念は、荷電高分子鎖について一般的に成り立つものと期待される。

3. 実験と結果

荷電高分子鎖として T4 ファージ DNA (166kbp) を用い、単一 DNA 分子鎖の凝縮状態とコイル状態との間にある不連続転移 (折りたたみ転移) の臨界領域近傍の条件を利用した。PEG(Poly(EthyleneGlycol)) 溶液中において、長鎖 DNA 分子は温度をパラメータとして不連続な折りたたみ転移を起こすこと (低温で凝縮状態、高温では膨潤したコイル状態)²⁾ および、凝縮した DNA 分子は光ピンセットによって捕捉・搬送可能であること³⁾ が申請者の属する研究グループによって明らかにされている。我々の選んだ実験系では、光ピンセットとして用いるレーザーによる溶媒の光エネルギー吸収を利用し、水分子の OH 伸縮振動の倍音領域を赤外レーザー (cw Nd:YAG laser, 1064nm) でたたくことで、焦点付近に局所的な温度勾配による非平衡場を形成させた。この場において、PEG 溶液中で光ピンセットで捕捉された凝縮状態の DNA は、高温にさらされた結果としてコイル状態へと膨潤し、これによって低温溶液に触れた DNA が凝縮、再び捕捉されて高温にさらされる、という現象が周期的に生じることが蛍光顕微

鏡によりリアルタイムで直接観察された。(Fig 1)。

また、溶媒の温度を介してDNAに与えられるエネルギーがレーザーの出力に依存するため、レーザーの出力に応じて振動の周波数が変化することが予想されていたが、実際に特徴的な周波数の存在が確認された (Fig 2)。

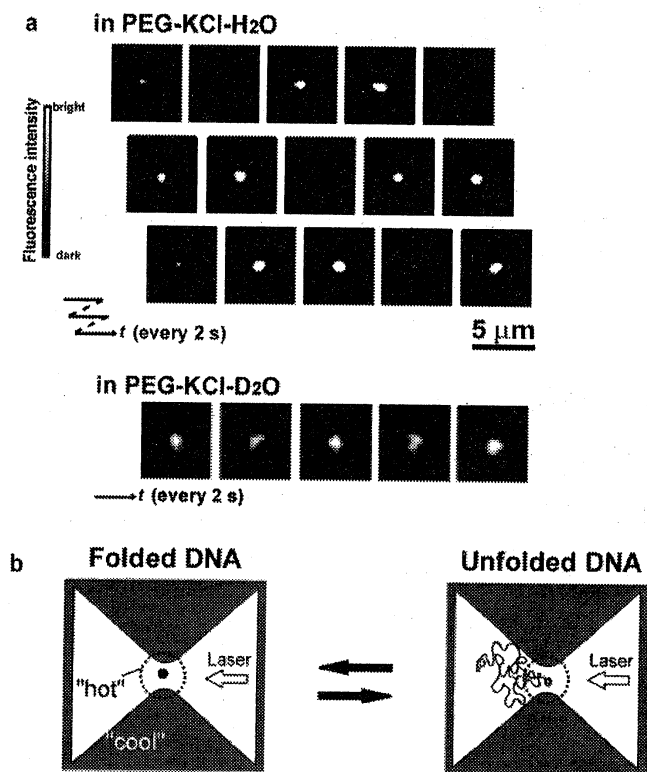


Fig. 1 Rhythmic folding/unfolding transition between the folded and unfolded states in single T4DNA molecule. (a) Time series of fluorescence image of a T4DNA molecule under the illumination of a focused CW Nd:YAG laser (1064 nm). (b) Schematic representation of rhythmic conformational change.

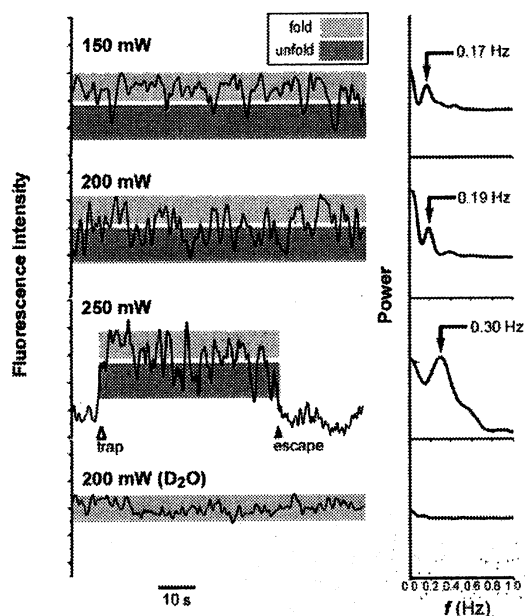


Fig. 2 Time traces of the fluorescence intensity in the focused region (left) and their Fourier transformation (right), where f is frequency.

4. まとめ

以上の結果より、一次相転移を示す荷電高分子鎖（ここでは DNA 分子）を、エネルギーの注入・散逸が存在する非平衡開放系の環境にさらすことで、固有のモードをもった振動運動がとりだされることが示された。生体内で ON/OFF 型転移を示す分子機械は電荷を持つ紐状の分子（高分子鎖）として存在することから、この結果は分子機械の動作原理を解明する上できわめて重要な知見である。

(1) K. Yoshikawa, H. Noguchi, *Chem. Phys. Lett.* **303**, 10(1999).

(2) Y. Matsuzawa et al., *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 11581(1999).

(3) H. Mayama, T. Iwataki and K. Yoshikawa, *Chme.Phys. Lett.* **318**, 113(2000).