

「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・イオンから成る高度に複雑な自律的分子複合システムと見なすことが出来る。生体内では生体高分子の高次構造と機能が密接に結びつきあいつつ、生体高分子を中心に無数の化学反応が有機的に結びついたネットワークが形成されており、その結果、自ら境界条件を作り替えながら時空間秩序が創出・展開されている。生体高分子の一つであるDNAの高次構造に関連して、これまで我々はDNA分子が単分子レベルでランダムコイル状態と凝縮状態の間で不連続な折り畳み相転移（一次相転移）を示すこと、折り畳み構造にはドーナツや棒状などの多様な秩序があることが実験・理論の両面で明らかにしてきた。さらに我々は折り畳み相転移と機能発現および化学反応ネットワークとの関連に注目している。

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、さらにDNAを中心とする高分子複合系を構築し、時空間秩序の創出・発展のメカニズムの解明することを目的とする。これまでの研究期間を通じ、ランダムコイル状態 - 凝縮状態間で一次相転移を示すDNA（堅い高分子鎖）の高次構造の制御を溶液組成や温度によって任意に変化させる方法論の確立（単一高分子鎖の高次構造の制御）、DNAの高次構造変化の様式の制御（一次相転移・緩慢転移を任意に選択する技術）、光による非平衡場上での単一高分子鎖の高次構造制御（非平衡場における周期的な高次構造変化）、巨大二重らせんDNA高次構造の階層性、フラーレンをベースとした π - π 相互作用によるナノ秩序体の形成、凝縮剤のカイラリティ - に基づくDNA高次構造制御等の研究課題について、世界に先駆けた成果が得られてきている。

今後は、高次構造制御の研究をすすめると共に、時間発展する自己秩序システムの構築に向け、研究を推進してゆく予定である。

2. 研究実施内容

今年度も興味深い研究成果が多数得られてきているが、以下に主要な研究成果を

報告したい。

2 - 1 光による非平衡場上の単一高分子鎖の高次構造制御

当チームは将来の技術開発に直結する、単一高分子鎖の高次構造・機能発現制御の確立を目指し、研究を行ってきている。これまでの我々は、溶液中においてDNA単分子鎖（堅い単一高分子鎖）が、広がった状態（ランダムコイル状態）と凝縮状態の二状態間で不連続な高次構造変化を示すこと（折り畳み相転移、図1参照）を明らかにしてきており、溶液組成・温度の変化による高次構造制御法を確立してきている。今年度、光エネルギーによる非平衡場において、DNA単分子鎖の高次構造制御に成功したので[1]、以下に報告する。

溶液組成のデザインにより、温度上昇と共にDNA高次構造を凝縮状態からランダムコイル状態に変化させることができる[2]。一方、光ピンセット（収束cw Nd : YAGレーザー（波長1064nm））の光エネルギーにより、水溶液中に局所的に温度の高い領域を創り出せること、同時に凝縮状態のDNAを容易に捕そくすることができることに着目した。そして、水溶液中で適当なレーザー出力条件（150～250mW）において非平衡場（局所加熱）を構築し、凝縮状態のDNAが3～6秒の周期で伸びる現象（高分子鎖の非線形振動）を観測した（図2参照）。

今回得られた研究成果を通じ、DNAの遺伝子発現の制御といった、高次構造と機能発現が密接に結びついた機能性高分子の物性（高次構造・機能発現）の制御を μm スケールの局所場で行うことが可能となる。



図1 折り畳み相転移における温度効果（模式図）[2]

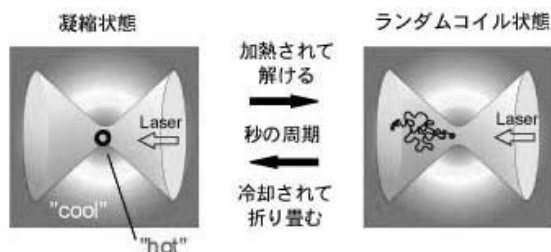


図2 光ピンセットによる周期的な高次構造変化（模式図）[1]

参考文献

- 1 . H. Mayama et al., Chem. Phys. Lett., 330, 361 (2000)
- 2 . H. Mayama et al., Chem. Phys. Lett., 318, 113 (2000)

2 - 2 巨大二重らせんDNAの階層的コンフォーメーション解析

単一の高分子鎖の折り畳み-解きほぐし構造間転移を応用した、高分子ナノ秩序体の高次構造の設計指針の基礎を確立するためには、その転移特性とメカニズムの研究に加え、高分子鎖自身のミクロなコンフォーメーション特性をより詳細に理解することが重要であるが、詳細な研究はなされていない。本研究では、巨大な屈曲性荷電高分子である二重らせんDNA(T4DNA、全長約56 μm)をモデルポリマーとして取り上げ、良溶媒中における荷電高分子鎖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することを試みた。

T4DNA単一分子は溶液中で4~6 μm 程度のサイズのランダムコイル状態をとりつつ、mica表面に吸着し、我々はその蛍光顕微鏡像(Fig. a)を得たのち、DNAのAFM像(Fig. b)を得た。解析では、二重らせんに沿った座標をとり、ある

一点からの座標上の移動距離 s に対する二点間ベクトル $r(s)$ 、セグメント密度 $d(l)=s/4 \int_0^l r(s) ds$ の分布を求めた。その結果、(1)鎖の広がりスケーリング指数 $(r(s) \sim s^\nu)$ および(2)セグメント密度 $(d(s) \sim l^\beta)$ の分布について、初めて次の知見が得られた:持続長一単位(0.5 μm)程度以下および数百単位(10 μm)程度以上の両領域では明確なスケーリング則が確認されたが、その中間領域(持続長数十単位)ではスケーリングからのずれが確認された。また、その中間領域に相当する250~500nm程度の粗視化スケールでは、DNA単一分子内のセグメント密度分布に、特徴的な不均一性が見い出された。この結果は、十分に長い高分子鎖では、持続長レベルより大きなスケールのコンフォーメーション階層において、(A)スケーリングに適合する階層と、(B)セグメント密度の特徴的な不均一分布が顕在化し、スケーリングからずれる階層の階層が内在していることを示している。本研究成果は、ランダムコイル状態の単一機能高分子鎖の微細な高次構造を予測し、機能を発現をさせる上で極めて重要な知見である。

2 - 3 ポリアミンのキラリティーに基づくDNAの高次構造制御

DNAの折り畳み相転移がポリアミンなどの非特異的な相互作用をする多数の分子が介在することによって引き起こされることが、これまでの我々の研究に

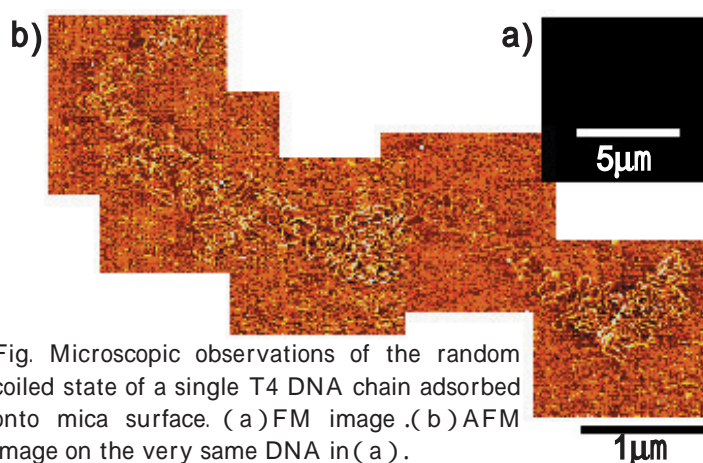


Fig. Microscopic observations of the random coiled state of a single T4 DNA chain adsorbed onto mica surface. (a)FM image .(b)AFM image on the very same DNA in(a).

よって明らかになってきている。さらに非特異的な弱い相互作用はカイラリティーを導入することにより、転移挙動や折り畳み構造が大きく変化するものと期待できる。キラルなポリアミンを合成し、DNAの折り畳み相転移に及ぼす影響に関して基本的な成果が得られてきている。

3 . 主な研究成果の発表 (論文発表)

H. Mayama, T. Iwataki and K. Yoshikawa, "Thermodynamics in the Folding Phase-Transition of Single T4 DNA Molecules in Poly(ethylene glycol) Solution, *Chem. Phys. Lett.*, 318, 113-117(2000)

M. Okamura and Y. Yoshikawa, "Rhythm in a Saline Oscillator", *Phys. Rev. E*, 61, 2445-2452(2000)

S. Nakata, T. Nakamura, K. Kato, Y. Kato and K. Yoshikawa, "Discrimination and Quantification of Flammable Gases with a SnO₂ Sniffing Sensor", *Analyst*, 125, 517-522(2000)

Y. Matsuzawa, Y. Koyama, K. Hirano, T. Kanbe, S. Katsura, A. Mizuno and K. Yoshikawa, "Visualization and Optical Trapping of an Individual Submicrometer-Sized Assembly in Aqueous Solution : Aminated Polyethylene Glycol (PEG-A) Complexed with Palmitic Acid and DNA in Poly(ethylene glycol)(PEG) Solution", *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 2200-2205(2000)

E. Y. Kramarenko, A. Khokhlov and K. Yoshikawa, "A Three-State Model for Counterions in a Dilute Solution of Weakly Charged Polyelectrolytes", *Macromol. Theory Simul.*, 9, 249-256(2000)

K. Agladze, A. Toth, T. Ichino and K. Yoshikawa, "Propagation of Chemical Waves at the Boundary of Excitable and Inhibitory Fields", *J. Phys. Chem. A*, 104, 6677-6680(2000)

H. Noguchi and K. Yoshikawa, "Folding Path in a Semiflexible Homopolymer Chain : A Brownian Dynamics Simulation", *J. Chem. Phys.*, 113, 854-862(2000)

Y. S. Velichko, K. Yoshikawa and A. R. Khokhlov, "Surface-Induced DNA Superhelicity", *Biomacromolecules*, 1, 459-465(2000)

T. Iwataki, K. Yoshikawa, S. Kidoaki, D. Umeno, M. Kiji and M. Maeda, "Cooperativity vs. Phase Transition in a Giant Single DNA Molecule", *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 9891-9896(2000)

Y. Yoshikawa, S. M. Nomura, T. Kanbe and K. Yoshikawa, "Controlling the Folding/Unfolding Transition of the DNA-Histone H1 Complex by Direct Optical Manipulation", *Chem. Phys. Lett.*, 330, 77-82(2000)

V. V. Vasilevskaya, A. R. Khokhlov and K. Yoshikawa, "Single Polyelectrolyte

Macromolecule in the Salt Solution : Effect of Escaped Counter Ions", *Macromol. Theory Simul.*, 9, 600-607 (2000)

H. Mayama, S. M. Nomura, H. Oana, and K. Yoshikawa, "Self-Oscillating Polymer Chain", *Chem. Phys. Lett.*, 330, 361-367 (2000)

S. V. Mikhailenko, V. G. Sergeev, A. A. Zinchenko, M. O. Gallyamov, I. V. Yaminsky and K. Yoshikawa, "Interplay Between Folding/Unfolding and Helix/Coil Transitions in Giant DNA", *Biomacromolecules*, 1, 597-603 (2000)

K. Kato, Y. Kato, K. Takamatsu, T. Udaka, T. Nakahara, Y. Matsuura and K. Yoshikawa, "Toward the Realization of an Intelligent Gas Sensing System Utilizing a Non-Linear Dynamic Response", *Sens. Act. B*, 71, 192-196 (2000)

V. A. Kabanov, V. G. Sergeev, O. A. Pyshkina, A. A. Zinchenko, A. B. Zezin, J. G. H. Joosten, J. Brackman, and K. Yoshikawa, "Interpolyelectrolyte Complexes Formed by DNA and Astramol Poly (propylene imine) Dendrimers", *Macromolecules*, 33, 9587-9593 (2000)

H. Mayama and K. Yoshikawa, "Thermodynamics in Folding Transition of DNA", *Macromol. Symp.*, 160, 55-60 (2000)

I. N. Motoike, K. Yoshikawa, Y. Iguchi and S. Nakata, "Real-Time Memory on an Excitable Field", *Phys. Rev. E*, 63, 036220- 1 - 036220- 4 (2001)

S. Murata, C. Seo, M. Kujime, and T. Sugimoto, "A Facile Method for Regioselective 6,7-Disubstitution of Pteridine", *Heterocycles*, 53, 1259-1262 (2000)

T. Sugimoto, K. Ikemoto, S. Murata, M. Tazawa, T. Nomura, Y. Hagino, H. Ichinose, T. Nagatsu, and A. Wada, "A Convenient Determination of Chiral Pteridines ; Application of Fluorescence Detected Circular Dichroism (FDCCD) to the Major Pteridine From *Dscherichia* Coil", *Heterocycles*, 55, in press (2000)

H. Inoue, H. Yamaguchi, T. Suzuki, T. Akasaka, and S. Murata, "A Novel and Practical Synthesis of Alkoxy carbonyl-Substituted Bis (Fulleroid)". *Synlett*, 1178-1180 (2000)

S. Murata, C. Suzuki, H. Inoue, Y. Andoh, Y. Hayashi, and T. Suzuki, "Selective Intramolecular Oxyselenenylation of Olefinic Alcohols and Carboxylic Acids by Using Organic Cyanoselenides in the Presence of Metal Triflates", *Heterocycles*, 52, 621-632 (2000)

I. Matsuda, Y. Hasegawa, M. Makino, and K. Itoh, "Iridium-Catalyzed Cross Aldol Coupling and a New Concept to Form an Ir-Si Species", *Tetrahedron, Lett.*, 41, 1405-1408 (2000)

I. Matsuda, Y. Hasegawa, M. Makino, and K. Itoh, "A Continuous Michael and Aldol Coupling of α,β -Enones Catalyzed by Iridium Complexes", *Tetrahedron, Lett.*, 41, 1409-1412 (2000)

T. Muraoka, I. Matsuda, and K. Itoh, "Regiodefined Apparent Hydroallylation Toward of α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds Attained by the Rhodium-Catalyzed One-Pot Procedure", *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 9552-9553 (2000)