3P105

多価陽イオンによる DNA の分子内凝縮

○村山 能宏、佐野 雅己（東大院・理・物理）

3 価、4 価の多価陽イオンは、溶液中において DNA の凝縮を引き起こすことが知られている。DNA－多価陽イオン相互作用は、正に荷電したタンパク質やポリアミンと DNA の相互作用を理解する上でも重要となる。我々は、2 スポットの光ピンセットを用いて分子内で凝縮した 1 分子 DNA の張力測定を行った。凝縮剤として 3 価のポリアミンであるスベルミジンを用い、試料セル内の溶液をスベルミジンを含む溶液に交換することで、分子内凝縮過程の張力変化及び凝縮前後の DNA の張力を測定した。その結果、凝縮過程には約 20 s 以内に生ずる早い張力変化と 100 s 程度の間に生ずる遅い張力変化が観測された。凝縮前のランダムコイル状態にある DNA の張力特性は、Worm Like Chain (WLC) モデルでよく近似されるが、凝縮後の DNA に対しては全長の約 85% 以下の伸びに対して張力が一定となる応答が見られる。これは DNA 分子内において凝縮・非凝縮の共存状態が生じていることを示しており、凝縮転移の一次相転移的性質を現している。共存状態とランダムコイル状態の張力曲線から、凝縮に伴うエネルギーとして単位塩基対あたり 0.1 kT/bp という値が得られた。T=23℃では、一度分子内凝縮が生じた DNA を WLC 的な応答を示す長さまで引き伸ばした後緩めていくと、再凝縮することなく緩まるといった、張力応答の履歴が観測された。しかしながら、温度を T=33℃まで上昇させた場合では、伸張・緩和のどちらの過程においても、凝縮・非凝縮の共存状態を示す張力一定の応答が観測された。また、張力応答に見られる履歴現象は凝縮剤濃度によっても変化する。本講演では、DNA の部分鎖間相互作用に関する理論と比較し、測定結果について考察する。

Y.Murayama and M.Sano : Intramolecular Collapsing of Single DNA Molecules Induced by Multivalent Cations

3P107

トレハロースの水和特性

○西尾 一史、岡嶋 孝治、弘津 俊輔（東工大・生命理工）

我々は以前、トレハロースの水和特性に関する知見を得るために、疎水性相互作用に対してトレハロースがどのような影響を与えるのかを調べた [1]。疎水性相互作用が強く働く系として、純水中で体積相転移を起こす N-イソプロピルアクリルアミド（NIPA）ゲルを用い、トレハロースを添加したときの膨潤度を測定した。トレハロースの添加により NIPA ゲルの相転移温度が低くなり、その効果をその他の二糖と比較すると、スクロース<マルトース<トレハロースであることが分かった。単一溶媒で近似した Flory-Huggins (FH) 理論による解析を行い、溶媒と NIPA との相互作用パラメータを求めたが、ゲルの内外で糖の濃度差が生じることわかり、単一溶媒での解析では問題があることが分かった。

そこで今回は、トレハロース-NIPA、トレハロース-水、NIPA-水間の 3 つの相互作用パラメータを区別して扱い、ゲルの内外でのトレハロース濃度の違いも考慮した FH 理論を適用することにより、トレハロース-NIPA 間の相互作用パラメータ、及び、接触エンタルピー、接触エントロピーを見積もった。マルトースとスクロースに対しても同様の熱力学量を見積もり比較を行った。

また、当日は、トレハロースと糖鎖間の水和層を介した相互作用を調べるために、化学架橋した多糖ゲルのトレハロース水溶液中における膨潤挙動を 3 成分系の FH 理論を用いて解析した結果についても報告する予定である。

[1] 西尾、岡嶋、弘津 生物物理第 38 回年会予稿集 Vol.40 S52 1G1115 (2000)

K.Nishio, T.Okajima and S.Hirotsu : Hydration Characteristics of Trehalose

3P106

ab initio 法による水溶液中におけるグルタミン酸の構造と電子状態の研究

○小田井 圭¹、杉本 徹²、久保 稔³、伊藤 悦朗³（¹ 湘北短大・電情、² 関東学院大・工、³ 北大院・理生物科学）

グルタミン酸 (Glu) は脳内の神経伝達物質であり、その受容体は一個の陽イオンに対する透過性をもつチャネルである。本研究の目的は、受容体の分子認識機構を分子レベルで理論的に解明することである。そのために、我々は代表的な神経伝達物質である Glu と γ -アミノ酪酸 (GABA) とを取り上げ、その電子状態について検討している。これら 2 つの分子の違いはカルボキシル基を 1 つ多く持つかどうかであるが、別々の受容体に結合し、正反対の作用 (興奮性と抑制性) を引き起こす。各受容体の分子認識には、個々の分子の大きさも大切であるが、伝達物質と結合部位にあるアミノ酸残基との電気的相互作用が最も重要なファクターであると考え、今回は、まず Glu の水溶液中での安定構造について報告する。

遊離グルタミン酸の分子モデルとしては、カルボキシル基は脱プロトン化し、アミノ基はプロトン化したものを採用した。約 60 種類の初期構造を用い、まず最初に半経験的分子軌道法 (MNDO-PM3 法) により最適化計算を行った。水溶液中における溶媒効果は COSMO 法 (ESP=78.3) を用いた。次に、得られたいくつかの Glu の最適化構造を *ab initio* 法 (Gaussian98) により、更に最適化計算した。基準振動解析計算も行い、最終的に基底状態の構造を求めた。なお、Gaussian による溶媒効果の計算は Onsager model reaction field calculation を使用した。

水溶液中における Glu の基底状態として 4 つの構造が見つかった。extended な構造が最安定であった。気相中における基底状態の構造は、rounded な構造 1 つのみであることと比較すると、Glu は水溶液中においてかなりフレキシブルな分子であることがわかる。本講演では、これら 4 つの Glu の電荷分布、ダイポールモーメント、静電ポテンシャル、静電気力などについて報告する。また、気相中における

Glu のこれらの物理量との比較をする
K. Odai, T. Sugimoto, M. Kubo and E. Ito : An *ab initio* study of structural and electronic states of glutamic acid in a vacuum and in aqueous solution

3P108

酵母のアルコール耐性発現におけるトレハロースの役割

○櫻井 実、山田 美子、浅川 直紀、井上 義夫（東工大院・生命理工）

酵母は、トレハロースを細胞内に多量に蓄積し、乾燥、凍結、熱、浸透圧、エタノールなどの物理化学的ストレスから細胞を保護している。その保護機能を解明するため、われわれは、以前凍結乾燥酵母サンプルを用いた実験より、トレハロース含量が 2-3 % に達すると、細胞構成物の結合水がこの糖により置換され、乾燥状態においても蛋白質や細胞膜は擬似水和状態になるため破壊から護られるという仮説を提唱した。今回は、このメカニズムが他のストレスの場合においても有効かどうかを調べるため、エタノールストレスについて以下の実験を行った。パン酵母 (*S. cerevisiae*) の野生株、中性トレハラーゼを破壊した変異株 ($\Delta ntl1$) に対し、培養時間を変化させることにより、様々なトレハロース含量をもったサンプルを調製した。これらを 10 % エタノール溶液に懸濁し、生存率の時間変化を調べた。生存率はコロニーカウント法により評価した。また、トレハロース含量はアンスロン法により評価し、細胞内の結合水量は熱天秤により求めた。

エタノール溶液への浸漬時間に伴っていずれのサンプルも生存率減少の傾向を示した。トレハロース含量 2.5 % 以上のものは、5 時間経過後も 60 % 以上の生存率を示したが、それ以下のサンプルでは急激に死滅した。TG 測定により結合水量を測定したところ、この閾値を境に結合水量が急激に減少することが判明した。これは凍結乾燥耐性の場合と同様、結合水がトレハロースにより置換されたことを示唆している。この可能性を裏付けるため、細胞のサイズ (直径) の測定値より細胞膜の表面積を、分子模型よりトレハロースの断面積を、また 2.5 % 含量のときのトレハロース分子数を見積もった。その結果、この程度の含量において細胞膜内側表面を覆うに十分な分子数に達していることが判明し、上述した水置換仮説の妥当性が示された。

M. Sakurai, M. Yamada, N. Asakawa, Y. Inoue : A Role for intracellular trehalose in the resistance of yeast cells to ethanol