2P105

単一 DNA 鎖の折り畳み構造：トーラスの形態変化

○武仲 能子（京大院・理・物理）

溶液中の長鎖 DNA 単分子は、溶媒環境や物性変化により、Coil 状態から Globule 状態へと転移し、球やトーラス（ドーナツ状）等の多様な形態をとる。DNA 単分子の折り畳み現象と構造安定性は、遺伝子活性の制御にも深く関わっていると予想され¹⁾、DNA 物性を記述するパラメータと構造との関係を探ることは興味深い。

最近、側鎖に糖が結合した中性高分子を T4DNA(全長 57 μ m) 単分子に加えると、DNA 単分子が図 a の様な構造をとることが分かった。添加した高分子は DNA 鎖を実効的に太くする。そこで本研究では、図 a を理論的に理解し、DNA 分子鎖の太さと形状との関係を調べる。DNA 分子鎖の曲げエネルギーを $F_b \sim \int \frac{2\pi b}{r} dr$ 、トーラスの表面エネルギーを $F_s \sim \int 2\pi r \sqrt{1 + (\frac{dr}{dr})^2} dr$ とした時、全長 L 一定の拘束条件の下で、全エネルギー $F = F_b + F_s$ を最小にするようなトーラスの形状と DNA 分子鎖の太さとの関係について数値計算を行った。簡単のため、トーラスの断面形状を仮定すると、定性的に図 a の形状が実現された。発表では、より一般的な断面形状について検討する予定である。

図 DNA折り畳み構造の様々な形状 (a)側鎖に糖が結合した中性高分子を添加した、T4DNA単分子の電子顕微鏡像。球の中心に穴が開いたような形状が見える。(名古屋文理短大 吉川祐子観察) (b)6nmのスケールミシンによって折り畳まれたT4DNA単分子。一般的なトロイドよりサイズの大きいジャンボトロイド²⁾。(c)0.6nmのスケールミシンによって折り畳まれたT4DNA単分子。一般的なサイズのトロイド²⁾。
1) 吉川研一 数理学 No. 486, 5 (2002)
2) Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, T. Kanbe Langmuir 15, 12, 4085 (1999)

Y. Takenaka : Self-Organized Ordered Structure of a Single DNA Chain: What does Decide the Morphology of Toroid?

2P107

蛍光相関分光法における DNA 鎖長と一分子蛍光強度の定量性との関係

○高木 卓也、田村 守、金城 政孝（北大・電子研・超分子分光）

蛍光相関分光法（Fluorescence Correlation Spectroscopy、以下 FCS）とは、共焦点光学系により作り出される微小領域において、溶液中を拡散している蛍光分子の動きをその蛍光強度の「ゆらぎ」を通して観察する手法である。この FCS により分子の大きさや形、数、また一分子当たりの蛍光強度（Counts per Molecule、以下 CPM）を求めることができる。しかし、FCS の測定領域（円柱型と仮定すると、半径約 0.4 μ m、高さ約 1 μ m）に匹敵するほど、あるいはそれ以上の大きさを持つ蛍光分子を測定対象とした場合、測定結果にどのような影響を及ぼすかは明らかにされていない。そこで本研究では、二重鎖 DNA の末端蛍光標識を片方、又は両方に行ったときに鎖長と拡散速度、CPM に注目して測定と解析を行った。実験は PCR（Polymerase Chain Reaction）法により末端に蛍光標識をした DNA を 5 種類合成し（500bp、1kb、2kb、4kb、6kb）、それぞれの鎖長において CPM の定量性を確認し、FCS において安定して測定できる分子の大きさを決定する予定である。また、二色の異なる蛍光分子が測定領域を通過する際の蛍光強度の同時性から、相互作用の検出に用いられている蛍光相互相関分光法（Fluorescence Cross Correlation Spectroscopy、以下 FCCS）により、同様の鎖長の DNA 両末端を異なる色素で標識したサンプルを測定し、FCS 測定結果との比較についても報告する。

T.Takagi, M.Tamura and M.Kinjo : DNA Measurements by Using Fluorescence Correlation Spectroscopy and Two-Color Fluorescence Cross Correlation Spectroscopy

2P106

DNA 変形における Roll と Twist の相互依存

○福留 清博（鹿児島大・医・保健）

ヌクレオゾーマル DNA のように、水溶液中の DNA が左巻き超らせんを形成するとき、既存の理論で（均質弾性棒や Twist-bend カップリングした異方的屈曲鎖として）扱う限り、実際とは逆に、らせんが巻き戻されるという矛盾を生じる。この問題を解決するために、粗視化した二重らせんモデルに基づいて DNA 変形を理論的に調べた。

非伸縮性鎖他の仮定下で、粗視化した DNA 二重らせんの連続モデルを構築し変形式を導出した。この式に基づいて、離散的なダイマーステップ変数 Roll と Twist の関係式を導出した。

多くの X 線単結晶解析から DNA の回転変形を表現する 3 つのダイマーステップ変数、Tilt、Roll、および Twist のうち、Roll と Twist との間に負の相関が知られているが、成因はこれまで不明であった。今回導出した関係式から、Roll と Twist とは近似的に比例し、実験事実（Roll と Twist の負の相関）を説明できる。一方、DNA 変形の際 Tilt は生じない。このような非等方的屈曲鎖としての性質だけでなく、例えば、ヌクレオゾーマル DNA に対して、従来言われてきた主溝に向かった bend（正の Roll）以外にも、副溝に向かった bend（負の Roll）が、興味深いことに overtwist を伴い、寄与できる可能性が示された。

ダイマーステップ変数 Roll と Twist と関連すべき巨視的な量、bending および twisting 持続長の関係についても新規な結果を報告する予定である。

K. Fukudome : Interdependence of Roll and Twist in DNA deformation

2P108

蛍光相関分光法による DNA を用いた微細構造物の解析

○紀伊 宏昭、田村 守、金城 政孝（北大・電子研・超分子分光分野）

DNA を用いたナノスケールの構造体は、線形の情報を特異的な空間配置に変換するために様々な分野において機能性材料として注目されている。これまでの構造体の解析は固相表面に結合させたり、侵襲的な方法によって行われているために、水溶液の自然の状態（均一系）での解析が求められている。今回我々は、この構造体を溶液中で解析するために、蛍光相関分光法（Fluorescence Correlation Spectroscopy : FCS）を用いた解析を行った。FCS はブラウン運動により微小領域を出入りする蛍光分子が発する蛍光強度の揺らぎを検出し、測定することによって、溶液中の単一分子レベルでの動きと数に関する情報を得る方法である。本研究では、DNA 構造物を標識する蛍光色素としてインターカレート試薬（YOYO-1）を用いたため、まず直鎖状の鎖長の異なる DNA を合成し、様々な濃度比でインターカレート試薬と反応させて FCS 測定を行い、何塩基に何個の割合でインターカレート試薬が DNA に結合しているかということや、測定領域に対して分子サイズの影響が出てくる塩基対の長さ等について基本的な解析を行った。次に、Holliday Junction を形成する、4 種類のオリゴヌクレオチドを用いて DNA の十字型構造物の構築を試みた。構造物の構築は、（1）Holliday Junction の 3' 末端に一本鎖 DNA の部分を作ることにより自己組織的に行わせる、（2）Holliday Junction のモノマーをライゲーションによって結合させるという方法で行った。これらの構造物をインターカレート試薬によって染色し FCS を用いて、蛍光強度の burst として構造物を検出し、同時に構造物の大きさや動き等に関する解析を行った。

H.Kii, M.Tamura, M.Kinjo : Analysis of DNA nano-structures by Fluorescence Correlation Spectroscopy