

論文内容の要旨

論文題目 Computational Studies on
Gel electrophoresis of DNA

(計算機シミュレーション
による DNA ゲル電気泳動
法の研究)

氏名 我妻 竜三

DNA ゲル電気泳動法は DNA を長さによって分別するクロマトグラフ技術の一種である。ゲル電気泳動の歴史の初期の頃は、定常電場を用いていたが、非定常電場法が開発されて、今日では、長鎖 DNA (20kbp-数 Mbp) の分別が可能となった。しかしながら、これらの手法に対する統計物理学的な解釈は定常電場法についてさえ確立していない。本研究は、定常電場ゲル電気泳動における DNA 1 分子の運動のメカニズムを統計物理学の見地から明らかにすることを目的とする。

短い DNA ($\lesssim 20\text{kbp}$) の分離のメカニズムに対しては Ogston らによって sieving 理論が提唱されている。この理論は、DNA が糸拘束の形態を保ったまま、ゲル繊維のネットワークの中をランダムに駆けめぐり結果得られる平均の移動度を予測する。一方、長鎖 DNA に対しては、慣性半径がゲルの平均の網目間隔よりも十分大きく、また柔軟であることをふまえて、ゲル電気泳動に対するレプテーション理論が提唱された。この理論は、DNA がゲルの繊維で制約された仮想的な管の中を、拡散運動しながら電場方向に泳動す

ると見做す。ところが、分子動力学法による計算機シミュレーションを用いた研究によって、思わぬ運動、即ち DNA が伸び縮みを繰り返す運動、があることが予言された。最近蛍光顕微鏡法によって DNA 1 分子の運動がリアルタイムで観察できるようになったこともあり、実験においても予言を裏付けるように、定常電場ゲル電気泳動において DNA が伸縮運動を準周期的に繰り返す運動が見い出された。

このような運動の核心部分は高分子鎖の形態の持つエントロピーが重要な働きをしていると考え、我々は先ず、高分子の格子模型の一つであるボンド揺らぎ模型によるモンテカルロ法シミュレーションによってこの問題の解明に取り組んだ。同模型では、高分子鎖は、同じ格子点を同時に 2 つ以上占拠できない条件（排除体積効果）を課せられたビーズと、長さや方向を変えることができるボンドで構成される。この模型を用いると、ボンド同士が擦り抜けることが回避されるので（自己回避鎖）、分子動力学法などに比べ絡み合いのある高分子系の計算機シミュレーションを効率良く実行できる。しかしこの方法を定常電場ゲル電気泳動に適用すると、鎖が障害物（ゲル）に架かって極端に引き延ばされた配位を容易に抜け出すことができなくなる困難に直面する。そこで、我々は先ず本論文第 1 章で、2 次元ボンド揺らぎ模型に対して、たるんだセグメント (s-monomer) が、その前後の引き延ばされた部分の任意の場所に遷移することのできる準局所的試行を導入した（拡張したボンド揺らぎ法）。この遷移を平衡状態において詳細釣合を満たすように定め、これを定常電場ゲル電気泳動に適用したところ、この困難を克服するとともに、実験で観察されている伸び縮み運動を再現することができた。さらに、平衡状態における運動についても計算に必要な実時間が従来の方法に比べて数倍程度短縮されることがわかった。

次に第 2 章では、この新しいアルゴリズムを用いて、定常電場ゲル電気泳動における DNA の運動を、準周期的挙動との関連性から調べた。慣性主軸長軸の半径 $R_l(t)$ の時間発展をみると、鎖の伸び縮み運動に対応した三角形のピークが次から次へ現れる。そこで、 $R_l(t)$ の自己相関関数 C_{RR} を測定したところ、排除体積のある実在鎖では実験で観察されている減衰振動が再現されなかったが、自己回避条件を無視したファントム鎖では減衰振動が見られた。この理由を探るため、 $R_l(t)$ のピークの幅（鎖が一つの障害物にトラップされてからこれを抜けるまでの時間）とピーク間隔（次の障害物にトラップされるまでの時間）を測定したところ、実在鎖では後者が前者より著しく大きな幅を持つことが確認された。2 次元空間では自己回避条件が極めて強い制約になっていることを示す結果であり、実際に、第 3 章において 3 次元空間における拡張したボンド揺らぎ法を構築し、実在

鎖のシミュレーションを行なったところ、自己相関関数の減衰振動を伴った実験と良く符合する伸縮運動を検証することができた。このように、詳細釣合を満たす確率遷移を高分子鎖モデルに採り入れるだけで、実験における現実の伸び縮み運動を再現することができるのは最も興味深いところである。この結果を踏まえると、実験的に観測される伸縮運動は、Deutsch らが唱えたようにエントロピーが全く関与しない過程として起こっているのはむしろ稀であり、実際には、エントロピーに起因する実効的な力学が支配していると考えられる。

高分子鎖の持つ形態エントロピーは電場の力が弱い極限で最も強くその性質を発揮することが予想される。第4章では、上記の2次元実在鎖を周期的に配置された障害物中で拡散運動させ、平衡のダイナミクスに対してエントロピー的な要素がどのように関わっているかを見るため、鎖の中心のセグメントの平均2乗変位 $\phi_{M/2}(t) = \langle (\mathbf{R}_{M/2}(t) - \mathbf{R}_{M/2}(0))^2 \rangle$ (M は鎖の長さ) を詳しく解析した。 $\phi_{M/2}(t)$ は次の4つの時間領域で特徴的な振舞いを示した。最初の時間領域では、自由空間における冪依存性 $\phi_{M/2}(t) \propto t^{0.6}$ を再現した。次に、2番目と3番目の時間領域でそれぞれ $\phi_{M/2}(t) \propto t^{3/8}$, $t^{3/4}$ の冪依存性、さらに最後に自由拡散領域 $\phi_{M/2}(t) \propto t^1$ を観測した。第2と第3領域の冪依存性は我々が初めて見出したもので、自己回避条件を満たす実在鎖によって形作られる管の中をブロップ (管に沿った方向に自己回避条件が遮蔽されるある長さを持った部分鎖) が拡散するレプテーションを仮定してスケーリングによって求めた指数と一致することを検証した。

次に、第5章では、モンテカルロ法の確率によるダイナミクスによって高分子鎖の運動を理解しようという上述の立場を更に掘下げ、運動方程式から出発する分子動力学法によって定常電場ゲル電気泳動のダイナミクスを考察した。この目的のため、我々は3次元連続空間上の、自己回避条件を満たす実在高分子鎖を表すビーズ鎖モデルを考え、これに対する Langevin 方程式の解を効率良く得ることのできるブラウン動力学法 (BD) アルゴリズムを新たに開発した。この方法による BD シミュレーションを行なったところ、先ず以下のことが見いだされた。即ち、我々のシミュレーションの平衡状態で観測される s-bead (たるんだ部分を代表する) の平均間隔 (約6ビーズ分に相当する) を DNA の持続長 (約60nm) であると読み替えることにより、BD シミュレーションの鎖の移動度の電場依存性が実験における DNA のそれをほぼ定量的に再現する。また、 $M = 160, 240$ において C_{RR} の減衰振動がはっきりと現れる。

このように、長い鎖 $M \gtrsim 100$ (ゲルの間隔 $a = 17$) において支配的になる準周期的な伸び

縮み運動の起因を詳しく調べるため、鎖を平衡の s-bead 間隔程度のブロック (10 ビーズ = 1 部分鎖) に分割し、伸縮過程における形態の平均の時間変化 $\overline{X_i(t - t_{\max}) - X_G(t_{\max})}$ 、(t_{\max} : ピーク時間、 X_G : 重心の位置) を先ず調べたところ、順に、V 字、I 字、及び Contracted (縮んだ) の形態の時間発展を得た。また、先頭部分がほぼ一定速度で泳動することが示された。この V-I-Contracted 運動は Masubuchi らによって調べられた綱引き模型、即ち非線形弾性紐が支点 (障害物 = ゲル) を境にしてそれぞれ逆符号に帯電し、引っ張り合う模型、の運動と符合するので決定論的であるように見える。

我々は、V-I-Contracted 運動の本質をより明確にするため、バネビーズ模型 (バネはフック則に従い、更に、鎖端ビーズに過剰の粘性係数を与え、先頭の追い越しを許さない条件が課されている) に対して、同様の綱引き運動を考察した。その結果、先頭が一定速度で泳動する特徴を含め、BD シミュレーションにおける鎖の形態変化 (V-I-Contracted) を定性的に良く説明することができた。

次に、BD 鎖の部分鎖間の有効張力 (= 任意ビーズ間排除体積 + 隣接ビーズ間束縛力) $\bar{T}_i^{(\text{eff})}(t - t_{\max})$ の時間変化を調べたところこれも上記の単純な線形バネビーズ鎖の張力変化とほぼ定量的に一致することが示された。一方、先頭部分鎖がその内側から受ける有効張力は常に一定で、その値は障害物 (ゲル) の入らない時に観測される任意の隣接部分鎖間の有効張力 \bar{T}^∞ と一致し、鎖のトラップによって生じた余剰の張力は先頭付近にほとんど達していない。従って、先頭付近の部分鎖は、電場の力と熱揺動力に応じて自由に動き回れる一方、障害物に対する反発力も強く受け、実効的に粘性係数の増大した一定速度の泳動をすると理解することができる。これらのことから、ゲル電気泳動における DNA 1 分子の運動は形態エントロピーからもたらされる 'ゴム弾性' 及び先頭付近の遅い運動が反映された高分子鎖特有の運動と考えられる。

第 6 章で我々は、このブラウン動力学法によって、拡張したボンド揺らぎ法のミクロな立場からの基礎づけを行なった。モンテカルロ法の s-monomer の移動距離のヒストグラムとブラウン動力学法の s-bead の移動距離のヒストグラムの比較を行なった結果、s-monomer の運動は s-bead の運動を定性的に良く再現していることが示された。