

名古屋大学修士論文

塩濃度によるヌクレオソーム模倣系の相互作用の変化

2019 年 3 月

名古屋大学大学院工学研究科物質科学専攻

夏目 享治

塩濃度によるヌクレオソーム模倣系の相互作用の変化

レオロジー物理工学研究グループ 夏目 享治

真核生物の細胞内では、DNA はヌクレオソームと呼ばれる構造をとって存在する。ヌクレオソーム間の相互作用の大きさは負電荷を持つヌクレオソームコアと正電荷を持つヒストンテールとヌクレオソーム周りの溶媒の塩濃度によって決まる[1]。Mangenot らは塩濃度がヌクレオソーム間の相互作用に与える影響を実験的に調べた。低塩濃度領域では、引力相互作用の大きさが塩濃度の増加につれて大きくなった。反対に高塩濃度領域では、引力相互作用の大きさが塩濃度の増加に対し小さくなった[2]。

本研究では、ヌクレオソーム間の相互作用が塩濃度の増加に対して非単調な挙動を示す理由を、実験、シミュレーション、理論を用いて解析した。実験では、ヌクレオソームを形成する DNA とヒストンを用いて、塩濃度に対し、DNA とヒストンの複合体の大きさがどのように変化するか検証した。シミュレーションでは、2 つのヌクレオソームを模倣した単純なモデルを考え、塩濃度に対して、ヌクレオソーム間の相互作用の大きさを、MC シミュレーションを用いて計算した。理論では、2つのヌクレオソームの相互作用に関わる、重要な部分を抽出しモデルを立て相互作用の大きさを計算した。以下ではシミュレーションについて詳しく述べる。

図 1 がシミュレーションモデルである。ヌクレオソームコアは負電荷を持つコロイド球とし、ヒストンテールはコロイド表面上にグラフトされた高分子電解質とした。ヌクレオソームはヒストンテールがヌクレオソームコア上に低密度で存在するので、1つのテールにのみ着目した。パラメータはヌクレオソームを模倣するように設定した。ポテンシャルエネルギーをコロイドの表面間距離 a の関数として計算した。ポテンシャルエネルギーは静電相互作用と排除体積効果、高分子電解質の弾性を考慮して求めた。相互作用の大きさとして第二ビリアル係数 A_2 を塩濃度に対して計算した。

図 2 がシミュレーション結果である。低塩濃度領域では A_2 は塩濃度の増加につれ小さくなった。この減少はコロイド粒子間の静電相互作用が塩によって遮蔽されたからと考えられる。塩濃度がある臨界塩濃度を超えると、塩濃度の増加につれ A_2 が大きくなった。この増加は塩によって系のほとんどの静電相互作用が遮蔽されるためと考えられる。よって、ヌクレオソーム間の相互作用が塩濃度に対して、非単調な値をとるには静電相互作用のみが重要であることが明らかになった。

本研究によって、ヌクレオソーム間の相互作用の大きさは塩濃度の増加に対して非単調に変化することが実験的に示唆された。また、この非単調現象は、ヌクレオソームコア間の静電反発エネルギーの大きさとヌクレオソームコアとヒストンテール間の静電引力エネルギーの大きさが重要であることが理論的にわかった。

参考文献

- [1] C. Zheng, J. J. Hayes. *Biopolymer* **2003**, 68, 539-546
- [2] S. Mangenot, E. Rapaud, C. Tribet, L. Belloni, F. Livolant. *Eur. Phys. J. E* **2002**, 7, 135-141.

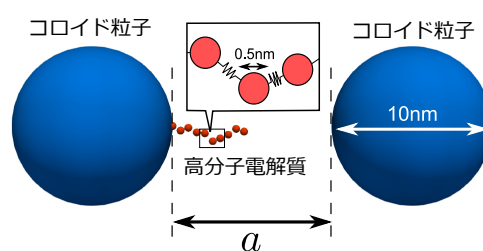


図 1 シミュレーションモデル

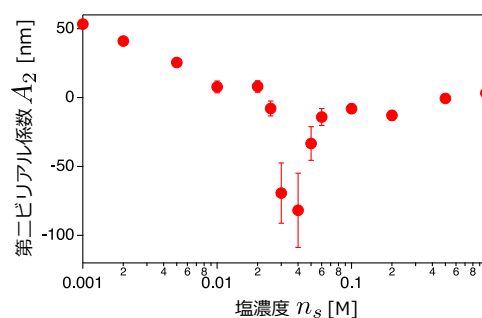


図 2 塩濃度に対するビリアル係数

目次

第 1 章	序論	1
1.1	はじめに	1
1.1.1	ヌクレオソームの構造	1
1.1.2	ヌクレオソームの凝集、非凝集	2
1.1.3	ヌクレオソーム間の相互作用	3
1.1.4	ヌクレオソーム間の第二ビリアル係数	3
1.2	目的	4
1.3	本論文の概要	4
第 2 章	実験	6
2.1	序言	6
2.2	実験方法	6
2.2.1	試料	6
2.2.2	溶液の調整	7
2.2.3	蛍光顕微鏡による直接観察	8
2.2.4	DLS(動的光散乱法)による測定	10
2.3	結果	10
2.3.1	蛍光顕微鏡による直接観察の結果	10
2.3.2	動的光散乱測定の結果	11
2.4	考察	12
2.4.1	DNA とヒストンの複合体の大きさとヌクレオソーム間の相互作用の関係	12
2.4.2	蛍光顕微鏡による直接観察と動的光散乱測定の結果の違い	13
2.5	結論	13
第 3 章	理論	14
3.1	序言	14
3.2	ヌクレオソームのモデル化	14
3.3	単体のヌクレオソーム模倣系に関する理論	15
3.3.1	理論モデル	15
3.3.2	自由エネルギー	17
3.3.3	結果	25
3.4	2つのヌクレオソーム模倣系に関する理論	28
3.4.1	理論モデル	28

3.4.2	自由エネルギー	30
3.4.3	第二ビリアル係数の計算	38
3.4.4	結果	38
3.5	考察	43
3.5.1	コロイド表面間の静電反発相互作用とコロイド表面-高分子間の静電引力相互作用が非単調性を説明	43
3.5.2	理論と先行研究の結果の比較	44
3.6	結論	45
第 4 章	シミュレーション	46
4.1	序言	46
4.2	Monte Carlo 法について	46
4.3	モデル	47
4.3.1	コロイドと高分子電解質の表し方	47
4.3.2	ポテンシャルと第二ビリアル係数の計算	48
4.4	結果	49
4.4.1	高分子電解質の硬さの影響	51
4.5	考察	52
4.5.1	理論とシミュレーションの結果の比較	52
4.5.2	高分子電解質の硬さの影響	56
4.5.3	シミュレーションと実験の結果の比較	57
4.5.4	シミュレーションと先行研究の結果の比較	58
4.6	結論	58
第 5 章	結言	59
付録		60
謝辞		61
参考文献		62

第 1 章

序論

1.1 はじめに

1.1.1 ヌクレオソームの構造

真核生物の染色体はクロマチンと呼ばれる構造が折りたたまってできている (図 1.1) [1]。さらにこのクロマチン構造はヌクレオソームという構造が凝集したものである [2]。ヌクレオソームはヒストンタンパク質に DNA が巻きついた構造を持つ。ヒトの細胞の DNA は伸ばすと 2m 近く [3] になるが、核膜の直径は $5\mu\text{m}$ 程度 [4] なので DNA は伸びたままの状態では核内に収めることができない。DNA を小さく折りたたむ役割をしているのがヌクレオソームである。

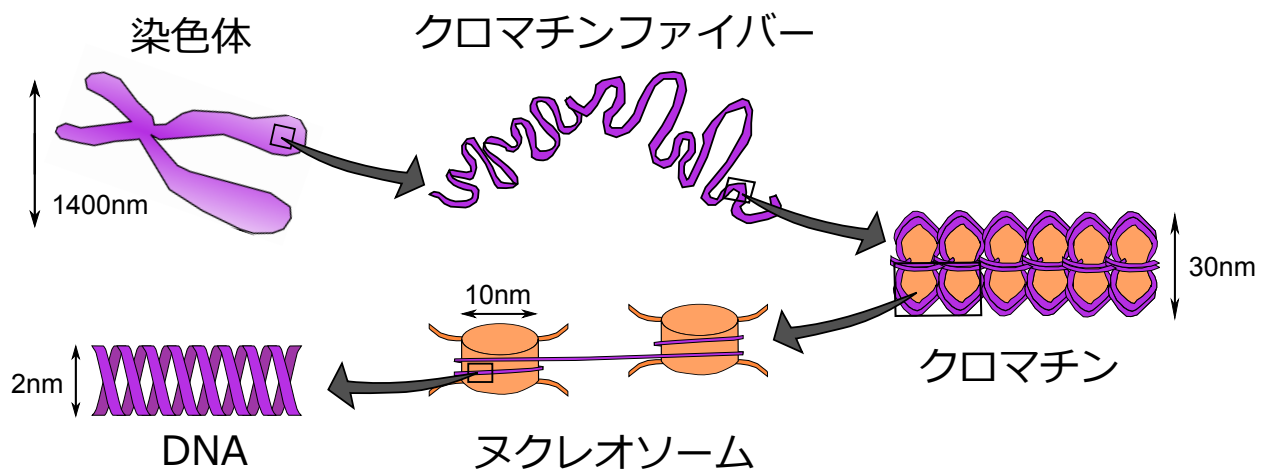


図 1.1 真核生物の染色体の構造

ヌクレオソームは図 1.2 のようにヒストンタンパク質に約 146 塩基対の DNA が 1.65 回転巻きついた構造を取っている [5]。この構造はヒストンの持つ正電荷と DNA の持つ負電荷により安定している。ヒストンに DNA が巻きついた部分をヌクレオソームコアと呼ぶ。ヒストンに巻きつく DNA 断片は約 146 塩基対分あり、ヌクレオソームコアは全体として約 236 個の負電荷を持つ [6]。ヒストンにはしっぽのようなヒストンテールと呼ばれる部分が 8 本存在し、それぞれが約 10 個の正電荷を持つ [7]。

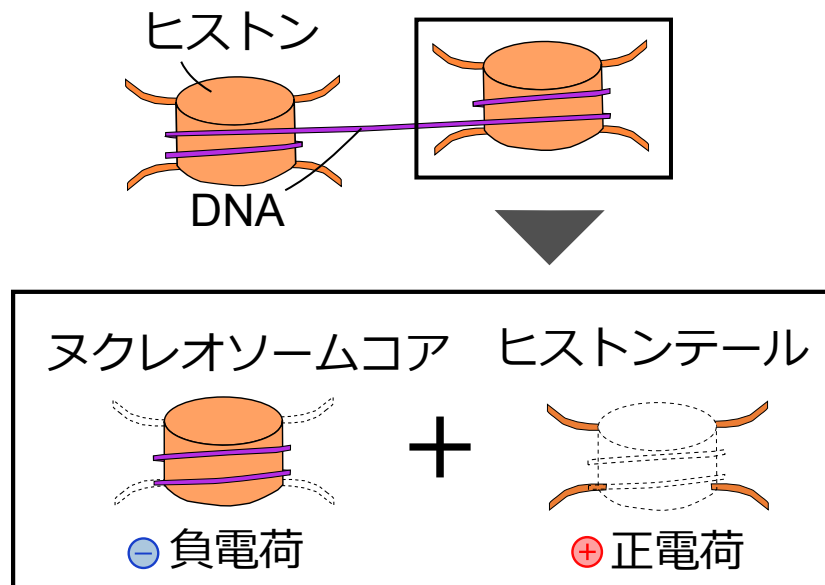


図 1.2 ヌクレオソームの構造

1.1.2 ヌクレオソームの凝集、非凝集



図 1.3 セントラルドグマ

図 1.3 ように、DNA をテンプレートとして、対となる塩基配列情報を持つ RNA を合成する過程を転写、RNA からタンパク質 (ポリペプチド鎖) を生成する過程を翻訳といい、この一連の流れをセントラルドグマと呼ぶ [8]。ここでは真核生物の転写に着目する。転写は、プロモーターと呼ばれる DNA の領域に RNA ポリメラーゼというタンパク質が結合することで行なわれる [9]。図 1.4 の右図のように、ヌクレオソーム構造が凝集していると、RNA ポリメラーゼはヒストンに妨げられ DNA に結合することができないので、転写は起こりにくい。一方、図 1.4 の左図のようにヌクレオソーム構造が凝集していない状態では、RNA ポリメラーゼは DNA に結合することができ、転写が起こりやすくなる [10]。よって転写の起こる頻度はヌクレオソームが凝集しているか、凝集していないかによる。

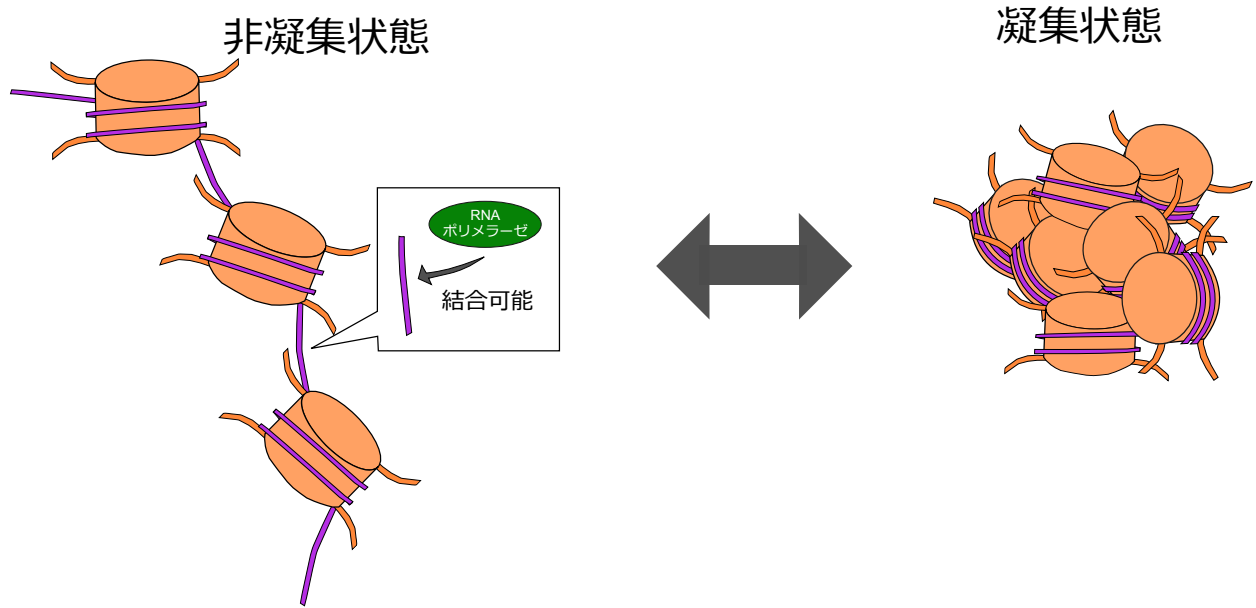


図 1.4 ヌクレオソームの凝集、非凝集状態を表した模式図

1.1.3 ヌクレオソーム間の相互作用

ヌクレオソーム間の相互作用の大きさはヌクレオソームコアの負電荷とヒストンテールの正電荷、ヌクレオソーム周りの溶媒の塩濃度に影響する。生理塩濃度でクロマチンは凝集し、低塩濃度では非凝集状態になることが知られている [11]。また、クロマチンの凝集が、放射線から DNA を守る役割があることが近年報告された [12]。ヌクレオソーム周りの溶媒中の塩濃度が低くヌクレオソームが非凝集状態になると、DNA が放射線の影響を受けてしまう。一方、ヌクレオソーム周りの溶媒中に塩が存在しヌクレオソームが凝集状態になると、DNA が放射線から守られる。

1.1.4 ヌクレオソーム間の第二ビリアル係数

気体の状態方程式は以下のような式 (1.1) で表される。

$$\frac{\Pi}{k_B T} = \frac{N}{V} \left(1 + \frac{N A_2}{V} + \frac{N^2 A_3}{V^2} + \dots \right) \quad (1.1)$$

ここで、 Π は浸透圧、 N は原子数、 V は体積、 k_B はボルツマン定数、 T は絶対温度ある。 A_2 、 A_3 はそれぞれ第二ビリアル係数、第三ビリアル係数と呼ばれる。第二ビリアル係数 A_2 はの 2 体間相互作用の大きさを示す値である。第二ビリアル係数 A_2 の値が正だと物体の 2 体間相互作用は反発、負だと引力を示す。また、第二ビリアル係数 A_2 は式 (1.2) のように、分子間の相互作用ポテンシャルによって計算できることが知られている [13]。

$$A_2 = \int \left(1 - e^{-\frac{U(\mathbf{r})}{k_B T}} \right) d\mathbf{r} \quad (1.2)$$

ここで、 $U(\mathbf{r})$ は分子間の相互作用ポテンシャルである。Mangenot ら [14] は、ヒストンに 155 塩基対分の DNA が巻き付いたヌクレオソームコアパーティクル (NCP) を溶液中に分散し、浸透圧測定から塩濃度に対するヌクレオソーム間の第二ビリアル係数を計測した。図 1.5 にあるように、ヌクレオソーム間

の第二ビリアル係数の値は塩濃度の増加に対し非単調に変化することが示された。低塩濃度領域では、塩濃度が高くなるにつれ、ヌクレオソーム間の第二ビリアル係数の値は小さくなった。ある塩濃度 n_s^* を超えると、塩濃度が高くなるにつれ、ヌクレオソームの第二ビリアル係数は大きくなった。それに対して、ヌクレオソームを形成していない DNA を溶液中に分散させ、各塩濃度で DNA 間の第二ビリアル係数の大きさを測定すると、塩濃度が高くなるにつれ DNA 間の第二ビリアル係数は単調に小さくなっていくことがわかった。この結果から、ヌクレオソーム間の相互作用の大きさは塩濃度の増加に対して、非単調に変化することを示唆された。

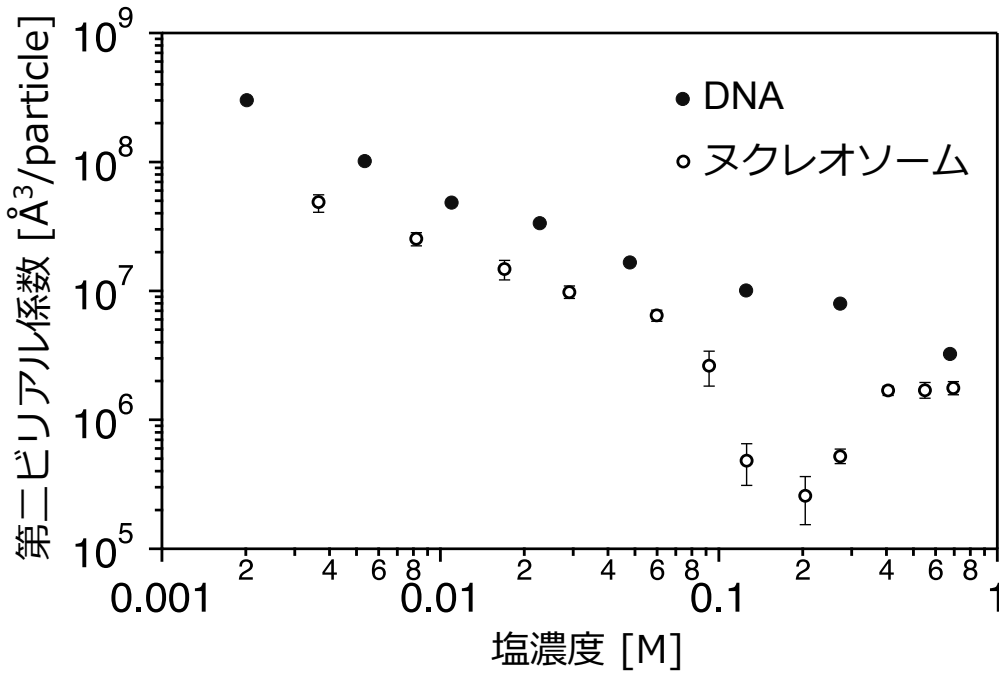


図 1.5 Mangelot ら [14] の実験による塩濃度に対する第二ビリアル係数の結果。横軸が塩濃度、縦軸が第二ビリアル係数の大きさを示す。黒丸が DNA の第二ビリアル係数の値、白丸がヌクレオソームの第二ビリアル係数の値を示す。

1.2 目的

本研究の目的は 2 つある。1 つ目はヌクレオソーム間の相互作用の大きさが実際に塩濃度に対して非単調に変化するのか実験的に確かめることである。2 つ目はヌクレオソーム間の相互作用の大きさが塩濃度の増加に対し非単調に変化する現象が、ヌクレオソームに関わるどの物理的パラメータによって決まるのか理論的に解明することである。

1.3 本論文の概要

本論文は全 5 章で構成されている。以下にその概要を述べる。

第 1 章では、本論文の題目にあるヌクレオソームについての説明と、本研究の目的について述べた。

第 2 章では、ヌクレオソームを形成する DNA とヒストンを用いて、DNA とヒストンの複合体の大き

さが塩濃度に対してどのように変化するのか実験的に調べた。

第3章では、ヌクレオソームを模倣したモデルを立て、ヌクレオソーム間の第二ビリアル係数の大きさを理論的に計算することを目的とした。まず、立てたモデルが正しいか確かめるために、単体のヌクレオソームに着目した。単体のヌクレオソーム系で、理論モデルの正当性を確かめた後、2つのヌクレオソームに着目し、理論モデルを構築した。2つのヌクレオソームを単純化した理論モデルを使用して、塩濃度に対して2つのモデルヌクレオソーム間の第二ビリアル係数の大きさを計算した。また、ヌクレオソームを形成するどのパラメータによってヌクレオソーム間の相互作用の大きさが決まるのか議論した。

第4章では、シミュレーションを用いてヌクレオソーム間の相互作用の大きさを計算した。理論の結果とシミュレーションの結果を比較することで、第3章の理論で使用した近似の妥当性を評価した。

5章では、本研究のまとめを述べた。

第2章

実験

2.1 序言

本章では、ヌクレオソームを形成する DNA とヒストンを混合することで複合体を作り、塩濃度が複合体サイズに与える影響を調べた。実験方法には、蛍光顕微鏡による直接観察と動的光散乱測定を用いた。蛍光顕微鏡による直接観察では、塩濃度に対して、DNA とヒストンの複合体の長軸長の大きさを測定した。動的光散乱測定では、塩濃度に対し DNA とヒストンの複合体の直径の大きさを測定した。

2.2 実験方法

2.2.1 試料

試料には以下のものを使用した。

- T4GT7 DNA
分子量 : 1.076×10^8 (165.6kbp)
入手先 : ニッポンジーン
- Histone from calf thymus
分子量 : 20,000
内容物 : ヒストン H1,H2A,H2B,H3,H4 の混合溶液
入手先 : Sigma Aldrich
- トリズマ塩酸塩溶液 (Tris-HCl)
pH : 7.4
用途 : 緩衝液
入手先 : Sigma Aldrich
- 4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール (DAPI)
分子量 : 350.25
用途 : DNA の染色
入手先 : ナカライテスク
- 2-メルカプトエタノール
用途 : 褪色防止剤
入手先 : ナカライテスク

- NaCl
分子量 : 58.44
入手先 : ナカライテスク
- 滅菌水
入手先 : ナカライテスク

以下、Histone from calf thymus は Histone、4',6'-ジアミジノ-2-フェニルインドールは DAPI、トリズマ塩酸塩溶液は Tris-HCl と略する。

2.2.2 溶液の調整

溶液の調整は表 2.1 のようにして行った。尚、DNA とヒストンに関しては Tris-HCl 10mM で薄め、それ以外の試料は滅菌水で薄めた。混合する試料の順番は、表の上から書かれた試料の順番と同じである。混合した溶液は冷暗所で 3 時間保管した。NaCl の最終濃度 n_s は $2\mu\text{M}$, $20\mu\text{M}$, $200\mu\text{M}$, 2mM , 20mM とした。

表 2.1 DNA とヒストン 5nM と金属イオン混合溶液の調整

試料 (溶液)	最終濃度
Tris-HCl	10mM
NaCl	n_s
Histone	5nM
DNA	$0.1\mu\text{Mbp}$
DAPI	$0.1\mu\text{M}$
2-メルカプトエタノール	4%(v/v)
計	$200\mu\text{l}$

それぞれの試料の濃度設定の理由を以下に示す。

- DNA
溶液調整後の溶液の体積は $200\mu\text{l}$ であり、この場合の DNA の重なり濃度を算出すると約 10mMbp であった。よって DNA 濃度 $0.1\mu\text{Mbp}$ は重なり濃度の約 10^{-5} 倍であり、溶液は希薄溶液とみなせる。
- DAPI
DAPI は DNA 塩基対のアミノ酸 AT 領域に結合する。つまり、DNA の 1 塩基対 (bp) に対し一つの分子が結合する。DNA の塩基対濃度に対し、10 倍までの量の DAPI では DNA の構造がほとんど変わらないとされている [15]。本研究では DNA の塩基対濃度と DAPI の濃度が 1:1 となるようにした。
- Tris-HCl
今回は pH7.4 のものを使用した。pH7.4 は細胞内 pH としてよく用いられ、濃度は先行研究 [16] と等しくした。
- 2-メルカプトエタノール
2-メルカプトエタノールは褪色防止剤として使用され、濃度は先行研究 [17, 18] を参考とした。

2.2.3 蛍光顕微鏡による直接観察

DNA とヒストンの複合体の大きさを測定するために蛍光顕微鏡 (OLYMPUS IX71) を用いた。短い波長の光を吸収し、長い波長の蛍光を発する物を蛍光物質という。蛍光物質は特定波長の光 (励起光) を吸収することで励起し、励起状態から元の状態に戻る際に蛍光としてエネルギーを放出する特性を持つ。本実験では DAPI が蛍光物質に当たる。蛍光顕微鏡は蛍光物質に励起光を照射して発生する蛍光を画像として観察、記録する顕微鏡である。蛍光顕微鏡は目的の分子のみを蛍光で光らせて観察することができることに利点がある [19]。

プレパラートの作製

カバーガラス (24 × 36mm) にパンチで穴 (直径 6mm) を空けた両面テープ (厚さ 0.15mm) を貼った。次にパンチで開けた穴に観察する溶液を 0.5 μ l ほど垂らし、カバーガラス (18 × 18mm) を被せ密閉した。これにより観察する溶液の蒸発をある程度防ぐことが可能になる。

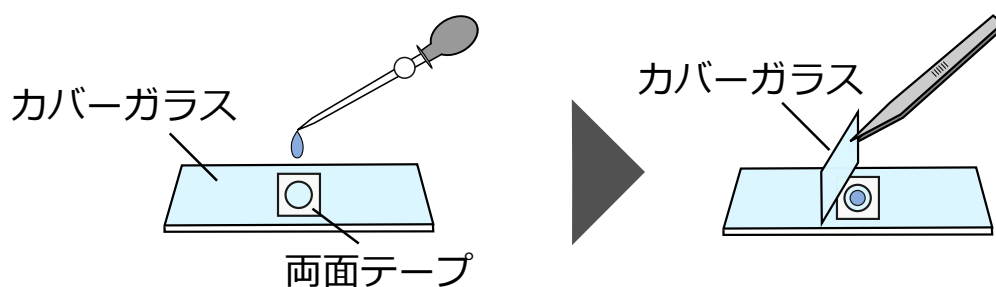


図 2.1 プレパラートの作製手順の模式図

蛍光顕微鏡の原理

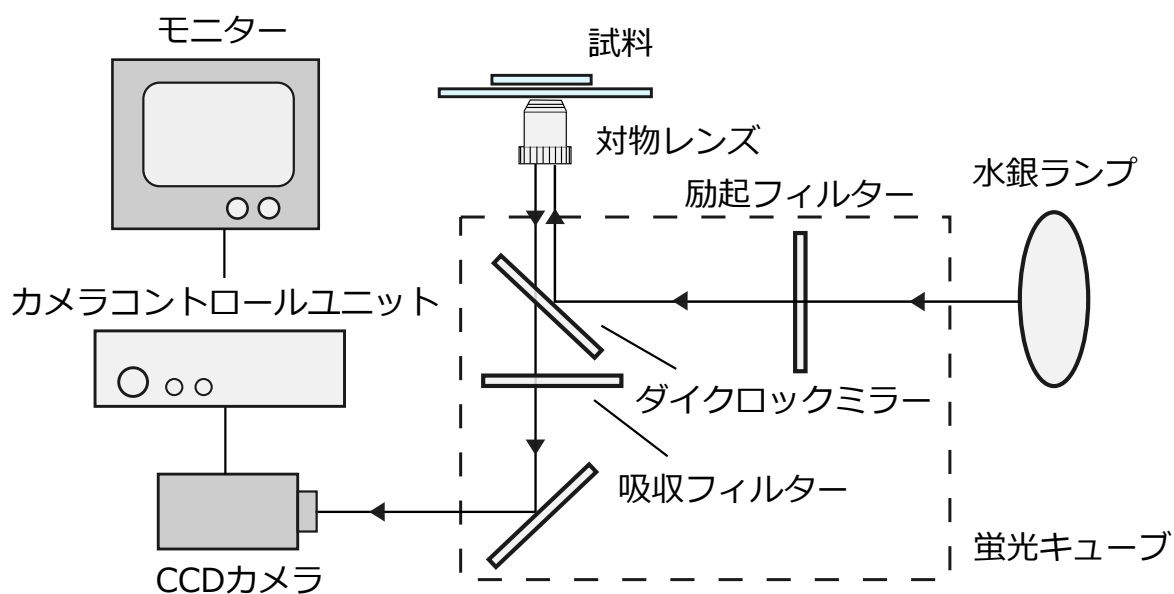


図 2.2 蛍光顕微鏡の模式図

図 2.2 に本実験で使用した装置の概要を示した。蛍光キューブに入射した光は励起フィルターによって特定の波長帯に絞られ、ダイクロックミラーによって反射され対物レンズ側にある試料に照射される。照射された試料の蛍光はダイクロックミラーを透過して CCD カメラ (浜松ホトニクス, C7190-43) によって観察が可能となる。蛍光キューブ内の各器具の機能と使用した型番を以下に示した。

- 励起フィルター: ランプからの幅広い波長帯の光束から、蛍光色素に最適な励起波長帯の光 (励起光) だけを透過する。型番 BP-330-385 を使用した。
- ダイクロックミラー: 所定の波長を境にして、短波長側を反射し、長波長側を透過する。励起光を反射して対物レンズ側に送り、透過光を接眼レンズ側に送る。型番 DM400 を使用した。
- 吸収フィルター: ダイクロックミラーから漏れ出た励起光を完全に遮断し、蛍光だけを透過する。型番 BA420 を使用した。
- 迷光吸収機構: 蛍光キューブ内の迷光を吸収し、不要な自家蛍光の発生を防ぐ役割がある。

蛍光顕微鏡観察の流れ

水銀ランプ光源, CCD カメラ (浜松ホトニクス, C7190-43), パソコンを立ち上げる。水銀ランプ光源が安定するまで 5 分ほど待ち、試料をステージ上にセットしシャッターを開ける。対物レンズ ($\times 100$) にイマージョンオイルを垂らし試料と対物レンズを接触させる。対物レンズと観察する試料を離しながらピントを合わせる。観察している様子は CCD カメラで録画し、カメラ制御ソフトウェア AquaCosmos で保存した。

画像解析

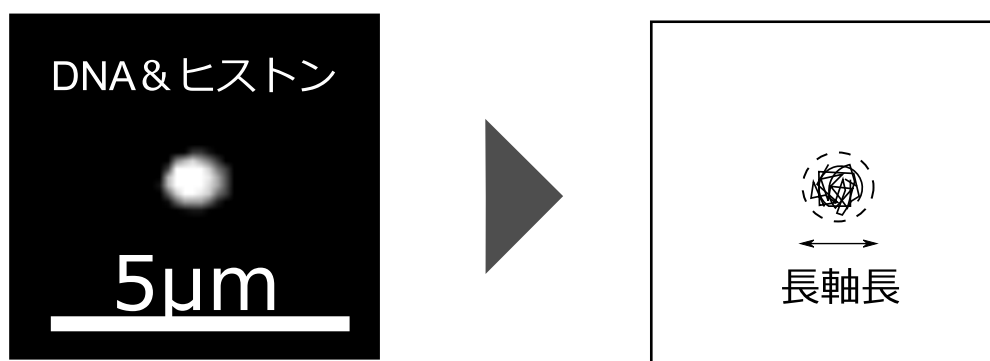


図 2.3 画像解析の方法。左が DNA とヒストンの複合体の蛍光画像である。蛍光画像の長軸長の大きさを計測した。

蛍光顕微鏡によって得られた画像は、画像解析ソフト「image J」によって解析した。ノイズを消去するために以下の作業を行った。

- ① Subtract background(Rolling ball radius 10.0 pixels)
- ② Filter → Median (radius of dyration 2.0 pixles)
- ③ Thershold

図 2.3 のように、DNA の形態画像の最も距離が長い部分を長軸長として算出した。長軸長は、50 個の DNA 粒子に対してアンサンブル平均を取った値とした。

2.2.4 DLS(動的光散乱法) による測定

DNA とヒストンの複合体の大きさを動的光散乱 (DLS) を用いて調べた。DLS は溶液中の粒子のサイズ、サイズ分布、粒子の形などを計測するのに有益な方法である [20]。本実験では DLS を用いて DNA とヒストンの複合体の粒径を計測した。装置には Zetasizer μV (Malvern) を使用した。

DLS の原理

小さな粒子は溶液中でブラウン運動する。動的光散乱法では粒子に照射した光の散乱光の波長や強度の揺らぎから、粒子の持つ性質を検出することが可能である [21]。ブラウン運動によって、粒子はランダムに動くので、粒子に当たった光の波長は短くも長くもなる。また、光が当たっている領域内の粒子の数も変動するので、光の散乱強度は時間によって変化する。動的光散乱法の利点として、試料を傷めない、測定時間が短い、測定可能な粒子の大きさの範囲が広い ($1\text{nm} \sim 5\mu\text{m}$) ことなどが挙げられる。

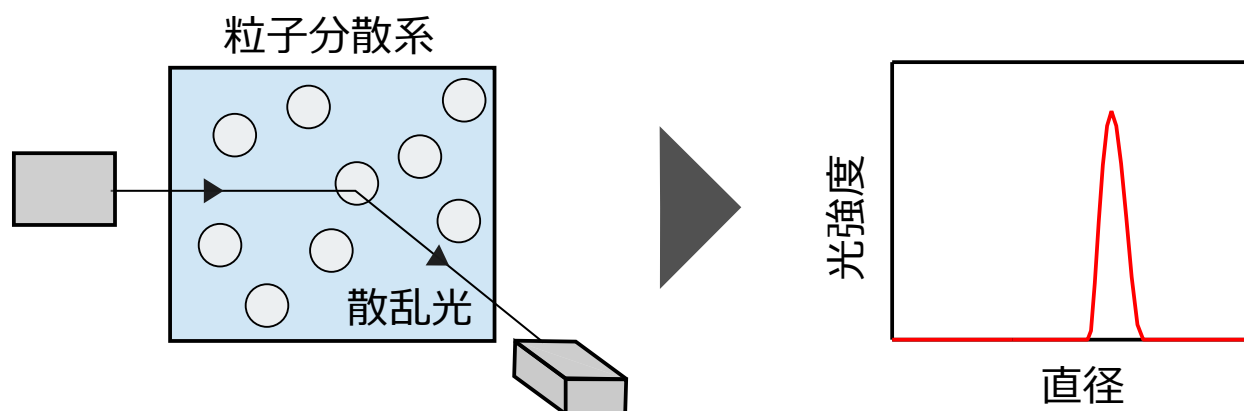


図 2.4 DLS の模式図

動的光散乱測定の流れ

Zetasizer μV を立ち上げる。レーザーが安定するまで 30 分以上待機。PC 内にある解析ソフト「Zetasizer」を立ち上げる。2.2.2 節で用意した溶液を $2\mu\text{L}$ セル (SARSTEDT) に入れ、装置に設置する。測定時の温度を室温に設定し、測定開始。測定は各試料ごとに 15 回行い、試料の直径を出した。

2.3 結果

2.3.1 蛍光顕微鏡による直接観察の結果

蛍光顕微鏡による直接観察の結果を図 2.5 に示した。塩濃度 n_s が $20\mu\text{M}$ より低いとき、塩濃度 n_s が高くなるにつれ、DNA とヒストンの複合体の長軸長の値が小さくなった。塩濃度 n_s が $20\mu\text{M}$ を超えると、塩濃度 n_s が高くなるにつれ DNA とヒストンの複合体の長軸長の値は大きくなった。

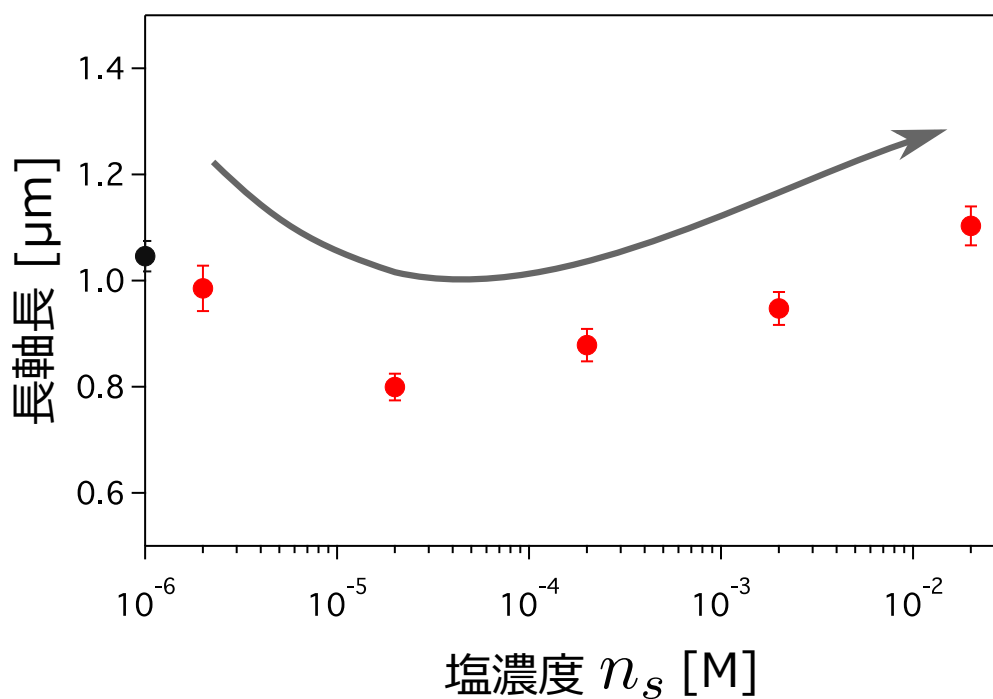


図 2.5 直接観察で得られた DNA とヒストン複合体の長軸長の塩濃度に対する変化。黒いシンボルが無塩での DNA とヒストンの複合体の長軸長の値を表す。赤いシンボルが各塩濃度 n_s での DNA とヒストンの複合体の長軸長の値を表す。エラーバーは標準誤差を表す。

2.3.2 動的光散乱測定の結果

動的光散乱測定の結果を図 2.5 に示した。塩濃度 n_s が $20\mu\text{M}$ より低いとき、塩濃度 n_s が高くなるにつれ、DNA とヒストンの複合体の直径の大きさは小さくなった。塩濃度 n_s が $20\mu\text{M}$ を超えると、塩濃度 n_s が高くなるにつれ DNA とヒストンの複合体の直径の大きさは大きくなった。蛍光顕微鏡による直接観察の結果を定性的に一致する結果が得られた。

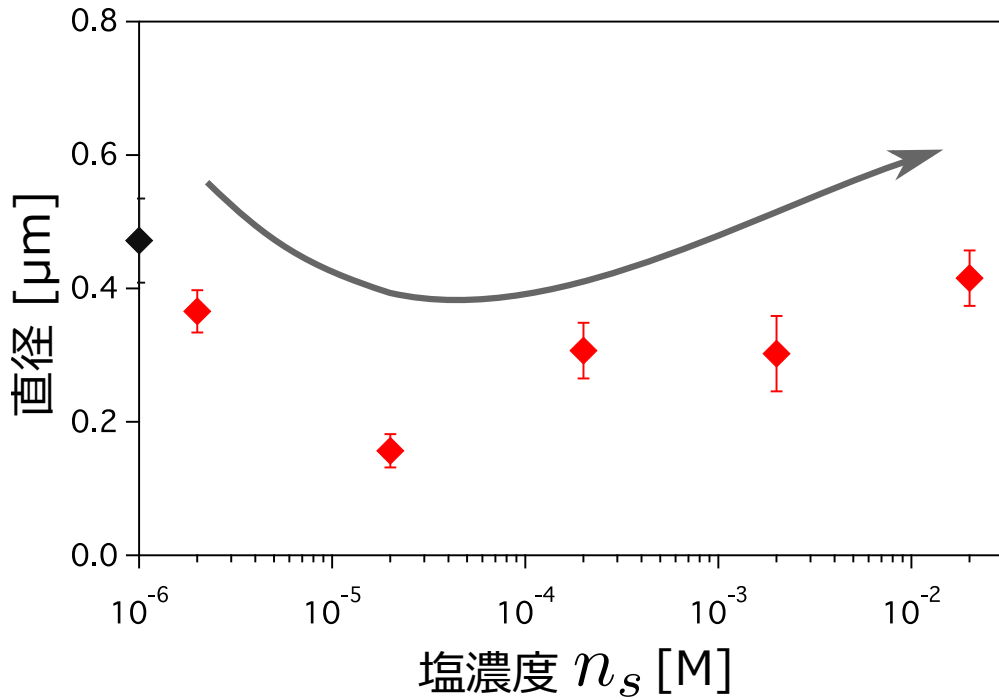


図 2.6 DLS で得られた DNA とヒストンの複合体の直径の塩濃度に対する変化。黒いシンボルが無塩での DNA とヒストンの複合体の直径の大きさを表す。赤いシンボルが各塩濃度 n_s での DNA とヒストンの複合体の直径の大きさを表す。エラーバーは標準誤差を表す。

2.4 考察

2.4.1 DNA とヒストンの複合体の大きさとヌクレオソーム間の相互作用の関係

蛍光顕微鏡による直接観察による結果と動的光散乱測定による結果は似た振る舞いを示した。低塩濃度領域では塩濃度が増えるにつれ、複合体の大きさが小さくなった。高塩濃度領域では、塩濃度が増えるにつれ、複合体の大きさが大きくなった。ここでは、図 2.7 のように DNA 1 分子に対しヒストンが複数巻き付かれたヌクレオソーム構造をとっていると仮定し、DNA とヒストンの複合体の大きさとヌクレオソーム間の相互作用の関係を考察する。低塩濃度領域 ($n_s = 0 \sim 2.0 \times 10^{-5} \text{M}$) で DNA とヒストンの複合体の大きさは塩濃度の増加とともに小さくなった。DNA で結ばれている隣合うヌクレオソームの引力相互作用が大きければ、DNA とヒストンの複合体の大きさは小さくなるはずである。よって DNA とヒストンの複合体の大きさの減少は、塩濃度の増加によってヌクレオソーム間の引力相互作用の大きさが大きくなったからではないかと考えられる。反対に高塩濃度領域 ($n_s = 2.0 \times 10^{-5} \text{M} \sim$) で塩濃度の増加とともに複合体の大きさが大きくなったのは、塩によってヌクレオソーム間の引力相互作用が小さくなったからではないかと考えられる。

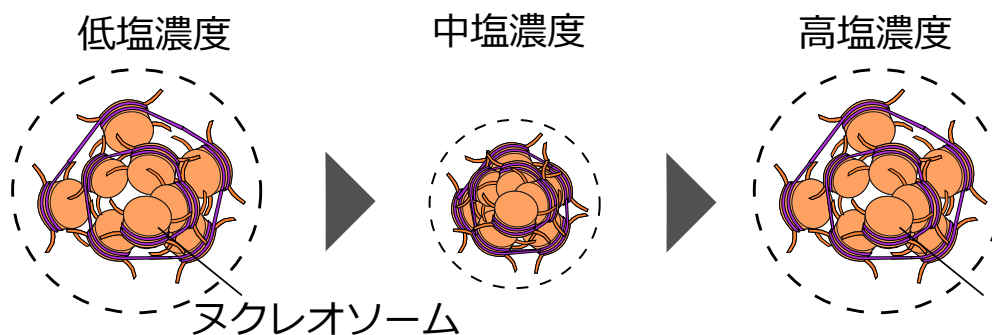


図 2.7 各塩濃度領域における DNA とヒストンの複合体の模式図

2.4.2 蛍光顕微鏡による直接観察と動的光散乱測定の結果の違い

蛍光顕微鏡による直接観察の結果、長軸長が DLS の結果の直径より大きくなったことに関して考察する。蛍光顕微鏡による直接観察では、図 2.3 の右図のように蛍光体のぼやけの効果があるので、実際の DNA ヒストンの複合体より大きくなったのではないかと考えられる。

2.5 結論

本実験では、DNA とヒストンの複合体の大きさを蛍光顕微鏡と、動的光散乱を用いて測定した。結果、塩濃度の増加に対し、DNA とヒストンの複合体の大きさは、非単調に変化した。この結果から、ヌクレオソーム間の複合体の相互作用の大きさは塩濃度の増加に対し非単調に変化することが示唆された。

第 3 章

理論

3.1 序言

本章では、ヌクレオソームを単純化したモデルを立て、ヌクレオソーム間の相互作用を理論的に計算した。また、ヌクレオソーム間の相互作用が、関連するどの物理的パラメータによって決まるのか調べた。3.2 節では、ヌクレオソームのモデル化について説明した。3.3 節では、1 つのヌクレオソーム模倣系に着目し、理論モデルの正当性を確かめた。3.4 節では、3.3 節で使用した理論モデルを応用し、2 つのヌクレオソームを模倣した理論モデルでヌクレオソーム間の相互作用を計算した。また、ヌクレオソームを形成する、どの物理パラメータがヌクレオソーム間の相互作用の大きさを決めるのか議論した。

3.2 ヌクレオソームのモデル化

ヌクレオソーム間の相互作用を理論的に計算するために、まずヌクレオソームを単純化したモデルを立てた。1.1.3 節で説明したように、ヌクレオソーム間の相互作用は、ヌクレオソームコアの負電荷とヒストンテールの正電荷によって決まる。図 3.1 のようにヌクレオソームコアを負電荷を持つ球状のコロイド粒子、ヒストンテールを正電荷を持つ高分子電解質と置き換えた。高分子電解質の片末端はコロイド表面上にグラフトされており、グラフト密度は低いとした。これ以降、ヌクレオソームコアをコロイド粒子、ヒストンテールを高分子電解質と呼ぶ。

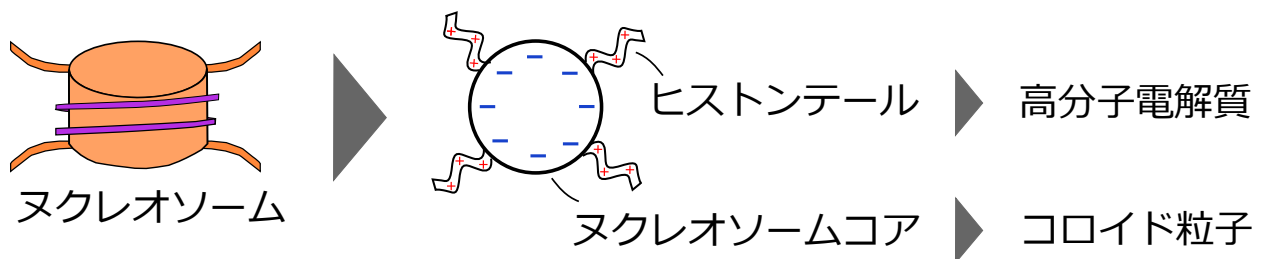


図 3.1 ヌクレオソームを単純化したモデル

3.3 単体のヌクレオソーム模倣系に関する理論

ヌクレオソーム間の相互作用を計算する前に、ヌクレオソームを模倣したモデルの正当性を確かめた。ここでは、単体のヌクレオソームに着目した。Mangenot ら [22] のヌクレオソームを対象とした X 線散乱測定によると、ヒストンテールの広がり塩濃度が増加するとともに大きくなる。また、我々のシミュレーションの結果 (付録図 5.1 参照) においても、ヒストンテールを模倣した高分子電解質の広がり塩濃度の増加とともに大きくなった。本節では、我々のヌクレオソーム模倣系において、塩濃度の増加とともに高分子電解質の広がりが大きくなるか確かめた。

3.3.1 理論モデル

まず正電荷を持つ高分子電解質が低密度でグラフトされた負電荷を持つコロイド粒子一つに焦点を当てる。高分子電解質の片末端がコロイド粒子表面にグラフトされている領域付近に着目した。図 3.2 のように高分子電解質が負電荷を持つ表面にグラフトされているとし、高分子電解質グラフト面から垂直な方向の平均末端間距離を L とした。高分子電解質は低密度でグラフトされているとしたので、高分子電解質 1 本にのみ着目した。コロイド粒子表面は簡単のため、曲率を考えず平面とした。コロイド粒子表面に垂直な方向を x 軸として、高分子電解質がグラフトされた表面を $x = 0$ となる座標系とした。また、高分子電解質、コロイド粒子表面、対イオンの電荷は y, z 方向に一様に分布すると仮定した。系の静電ポテンシャルを $\psi(r)$ とおき、Poisson Boltzmann 方程式を用いて求めた。Poisson Boltzmann 方程式はコロイドの静電相互作用を計算するのによく使用される [23]。図 3.2 右の系の自由エネルギーを求め、自由エネルギーの最小化から、各塩濃度 n_s に対する高分子電解質の広がり大きさ L を求めた。実効的な高分子電解質の電荷密度を n_p 、実効的なコロイド表面の電荷密度を σ_1 、高分子電解質のグラフト面と平行な方向の平均末端間距離を b とした。今回使用するパラメータと値を表 3.1 に、パラメータの説明を図 3.3 にまとめた。

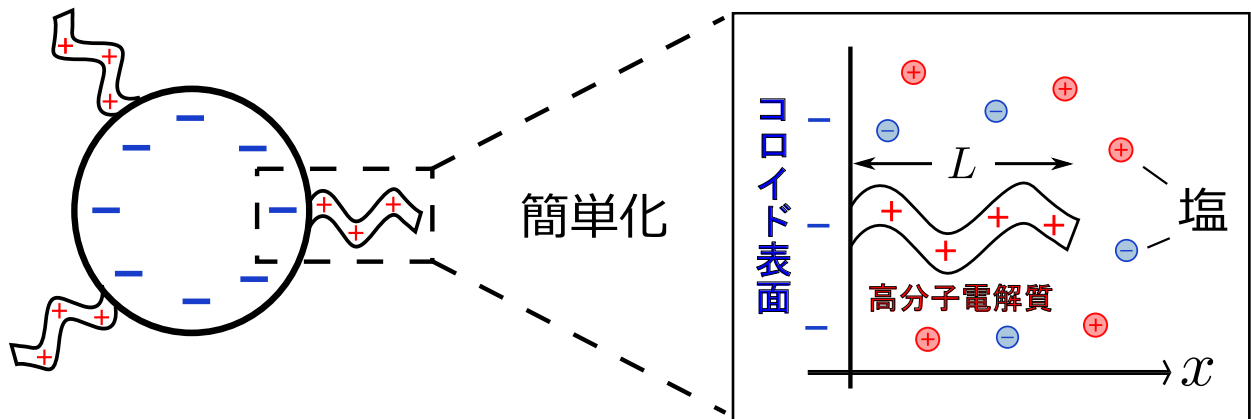


図 3.2 高分子電解質の片末端がグラフトされたコロイド粒子を簡単化した模式図。

表 3.1 今回の計算で使用するパラメータと値

	パラメータ	値
n_+	正電荷を持つ対イオンの数密度 [$1/\text{m}^3$]	
n_-	負電荷を持つ対イオンの数密度 [$1/\text{m}^3$]	
n_s	塩濃度 [M]	
ε	水の誘電率 [F/m]	$80 \times 8.854 \times 10^{-12}$
q	素電荷 [C]	1.602×10^{-19}
k_B	ボルツマン定数 [J/K]	1.38×10^{-23}
T	温度 [K]	298
σ	コロイド粒子表面の電荷密度 [$1/\text{m}^2$]	7.50×10^{17}
σ_1	実効的なコロイド粒子表面の電荷密度 [$1/\text{m}^2$]	
n_p	実効的な高分子電解質の電荷密度 [$1/\text{m}^3$]	
N	高分子電解質の電荷数 [個]	10
b	高分子電解質のグラフト面と平行な方向の平均末端間距離 [m]	2.21×10^{-9}
k	高分子電解質のばね定数 [N/m]	6.95×10^{-2}
l	高分子電解質の自然長 [m]	2.21×10^{-9}

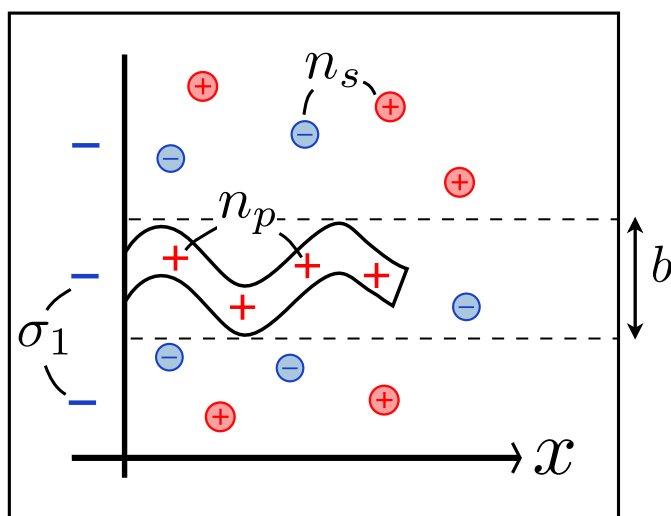


図 3.3 理論で扱う系とパラメータの説明図。

パラメータの値の設定理由を以下に示した。

- コロイド粒子表面の電荷密度 σ

ヌクレオソームコアを一様な球と仮定すると、ヌクレオソームコアの負電荷数は 236 個であり、半径の大きさは約 5nm[24] であるため、コロイド粒子表面の電荷密度 σ は、

$$\frac{236}{4\pi \times 5^2} = 7.5 \times 10^{17} \text{ [1/m}^2\text{]}$$

と計算した。

- 高分子電解質の電荷数 N

ヒストンテールの正電荷数に近い値 [7] にした。

- 高分子電解質のパラメータ b と l

高分子電解質のセグメント数 N_{seg} が 10、それぞれのセグメント長 a_{seg} が 0.70nm であるとする。

高分子電解質を Gauss 鎖とみなすと平均末端間距離 R は

$$R = \sqrt{N_{\text{seg}} a_{\text{seg}}} = 2.21 \text{ [nm]}$$

と求められる [25]。 b と l はこの値と同じにした。

3.3.2 自由エネルギー

図 3.3 の点線で囲んだ領域の自由エネルギー F を、対イオンの並進運動エネルギー F_{entropy} 、静電エネルギー F_{electric} 、高分子の弾性エネルギー F_{elastic} を考慮して求めた。尚、高分子電解質、コロイド粒子表面、対イオンの電荷は x 方向にのみ変化し、 y, z 方向には一様であると仮定した。また、高分子電解質の電荷は $0 \leq x \leq L$ で x 方向に一様に分布し、 $L < x$ では存在しないとした。 μ は化学ポテンシャルである。

$$\begin{aligned} F = & F_{\text{entropy}} + F_{\text{electric}} + F_{\text{elastic}} \\ & + \mu \int dV n_+(\mathbf{r}) + \mu \int dV n_-(\mathbf{r}) \end{aligned} \quad (3.1)$$

ここで、 $\int dV$ は $\mathbf{r}$ に対する積分を表し、積分範囲は x 軸方向に $[0, \infty]$ 、 y, z 方向に $[0, b]$ である。対イオンの並進運動エネルギー F_{entropy} は

$$\begin{aligned} F_{\text{entropy}} = & \int dV k_B T \left[n_+(\mathbf{r}) \log n_+(\mathbf{r}) - n_+(\mathbf{r}) \right] \\ & + \int dV k_B T \left[n_-(\mathbf{r}) \log n_-(\mathbf{r}) - n_-(\mathbf{r}) \right] \end{aligned} \quad (3.2)$$

である。静電エネルギー F_{electric} は

$$\begin{aligned}
F_{\text{electric}} = & \frac{1}{2} \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}) n_+(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}) n_-(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{1}{2} \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_-(\mathbf{r}) n_-(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dS' \frac{n_+(\mathbf{r}) \sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dS' \frac{n_-(\mathbf{r}) \sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}) n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_-(\mathbf{r}) n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{1}{2} \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dS \int dS' \frac{\sigma_1(\mathbf{r}) \sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{1}{2} \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_p(\mathbf{r}) n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_p(\mathbf{r}) \sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}
\end{aligned} \tag{3.3}$$

であり、 $\int dV'$ は $\mathbf{r}'$ に対する積分を表し、積分範囲は x 軸方向に $[0, \infty]$ 、 y, z 方向に $[0, b]$ である。 $\int dS$ は $\mathbf{r}$ に対する面積積分を表し、積分範囲は y, z 方向に $[0, b]$ である。 $\int dS'$ は $\mathbf{r}'$ に対する面積積分を表し、積分範囲は y, z 方向に $[0, b]$ である。また、高分子の弾性エネルギー F_{elastic} は、

$$F_{\text{elastic}} = \frac{1}{2} k(L - l)^2 \tag{3.4}$$

である。ここで、 k は高分子電解質の弾性、 l は高分子電解質の自然長である。(3.1) 式を $n_+(\mathbf{r})$ に関して汎関数微分すると、

$$\begin{aligned}
\delta F(n_+(\mathbf{r})) &= \int dV k_B T \delta n_+(\mathbf{r}) \log n_+(\mathbf{r}) \\
&+ \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \int dV' \frac{n_-(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \int dS' \frac{\sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&+ \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \int dV' \frac{n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&+ \mu \int dV \delta n_+(\mathbf{r})
\end{aligned} \tag{3.5}$$

となる。ここで、静電ポテンシャル $\psi(\mathbf{r})$ は、

$$\begin{aligned}
\psi(\mathbf{r}) &= \frac{q}{4\pi\epsilon} \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q}{4\pi\epsilon} \int dV' \frac{n_-(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q}{4\pi\epsilon} \int dS' \frac{\sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q}{4\pi\epsilon} \int dV' \frac{n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}
\end{aligned} \tag{3.6}$$

である。(3.6) 式を (3.5) 式に適用すると、

$$\begin{aligned}
\delta F(n_+(\mathbf{r})) &= \int dV k_B T \delta n_+(\mathbf{r}) \log n_+(\mathbf{r}) \\
&+ \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) q \psi(\mathbf{r}) \\
&+ \mu \int dV \delta n_+(\mathbf{r})
\end{aligned} \tag{3.7}$$

となる。 $\delta F(n_+(\mathbf{r})) = 0$ になるべきなので、

$$\int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \left[k_B T \log n_+(\mathbf{r}) + q\psi(\mathbf{r}) + \mu \right] = 0 \quad (3.8)$$

を満たす必要がある。よって、 $n_+(\mathbf{r})$ は

$$n_+(\mathbf{r}) = \exp\left(-\frac{q\psi(\mathbf{r})}{k_B T} - \frac{\mu}{k_B T}\right) \quad (3.9)$$

となる。同様に $n_-(\mathbf{r})$ に関して汎関数微分すると、

$$\begin{aligned} \delta F(n_-(\mathbf{r})) &= \int dV k_B T \delta n_-(\mathbf{r}) \log n_-(\mathbf{r}) \\ &\quad + \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_-(\mathbf{r}) \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\ &\quad - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_-(\mathbf{r}) \int dV' \frac{n_-(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\ &\quad - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_-(\mathbf{r}) \int dS' \frac{\sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\ &\quad + \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_-(\mathbf{r}) \int dV' \frac{n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\ &\quad + \mu \int dV \delta n_-(\mathbf{r}) \end{aligned} \quad (3.10)$$

となる。(3.6) 式を (3.10) 式に適用すると、

$$\begin{aligned} \delta F(n_-(\mathbf{r})) &= \int dV k_B T \delta n_-(\mathbf{r}) \log n_-(\mathbf{r}) \\ &\quad - \int dV \delta n_-(\mathbf{r}) q\psi(\mathbf{r}) \\ &\quad + \mu \int dV \delta n_-(\mathbf{r}) \end{aligned} \quad (3.11)$$

となり、 $\delta F(n_-(\mathbf{r})) = 0$ を満たす必要があるので、 $n_-(\mathbf{r})$ は

$$\int dV \delta n_-(\mathbf{r}) \left[k_B T \log n_-(\mathbf{r}) + q\psi(\mathbf{r}) + \mu \right] = 0 \quad (3.12)$$

$$n_-(\mathbf{r}) = \exp\left(\frac{q\psi(\mathbf{r})}{k_B T} - \frac{\mu}{k_B T}\right) \quad (3.13)$$

となる。(3.1) 式を (3.6) 式の $\psi(\mathbf{r})$ で置き換えると、

$$\begin{aligned}
 F = & \int dV k_B T \left[n_+(\mathbf{r}) \log n_+(\mathbf{r}) - n_+(\mathbf{r}) \right] \\
 & + \int dV k_B T \left[n_-(\mathbf{r}) \log n_-(\mathbf{r}) - n_-(\mathbf{r}) \right] \\
 & + \frac{1}{2} \int dV q n_+(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
 & - \frac{1}{2} \int dV q n_-(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
 & - \frac{1}{2} \int dS q \sigma_1(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
 & + \frac{1}{2} \int dV q n_p(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
 & + \mu \int dV n_+(\mathbf{r}) \\
 & + \mu \int dV n_-(\mathbf{r}) \\
 & + \frac{1}{2} k (L - l)^2
 \end{aligned} \tag{3.14}$$

となる。ここでポアソン方程式は

$$\begin{cases} \nabla^2 \psi(\mathbf{r}) = -\frac{\rho(\mathbf{r})}{\varepsilon} \\ \rho(\mathbf{r}) = q \{ n_+(\mathbf{r}) - n_-(\mathbf{r}) + n_p(\mathbf{r}) \} \end{cases} \tag{3.15}$$

であり、(3.14) 式に適用すると、

$$\begin{aligned}
F = & \int dV k_B T \left[n_+(\mathbf{r}) \log n_+(\mathbf{r}) - n_+(\mathbf{r}) \right] \\
& + \int dV k_B T \left[n_-(\mathbf{r}) \log n_-(\mathbf{r}) - n_-(\mathbf{r}) \right] \\
& - \frac{1}{2} \varepsilon \int dV \nabla^2 \psi(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
& - \frac{1}{2} \int dV q \sigma_1(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
& + \mu \int dV n_+(\mathbf{r}) \\
& + \mu \int dV n_-(\mathbf{r}) \\
& + \frac{1}{2} k (L - l)^2
\end{aligned} \tag{3.16}$$

となる。また、(3.9), (3.13) 式を用いると、

$$\begin{aligned}
F = & - \int dV n_+(\mathbf{r}) q \psi(\mathbf{r}) \\
& + \int dV n_-(\mathbf{r}) q \psi(\mathbf{r}) \\
& - \int dV k_B T \left[n_+(\mathbf{r}) - n_-(\mathbf{r}) \right] \\
& - \frac{1}{2} \varepsilon \int dV \nabla^2 \psi(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
& - \frac{1}{2} \int dV q \sigma_1(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
& + \frac{1}{2} k (L - l)^2
\end{aligned} \tag{3.17}$$

となる。ここで、対イオンの分布がボルツマン分布に従うとすると、

$$n_+(\mathbf{r}) - n_-(\mathbf{r}) = n_s \left\{ \exp\left(-\frac{q\psi(\mathbf{r})}{k_B T}\right) - \exp\left(\frac{q\psi(\mathbf{r})}{k_B T}\right) \right\} \tag{3.18}$$

であり、 $k_B T \gg q\psi(\mathbf{r})$ より、

$$n_+(\mathbf{r}) - n_-(\mathbf{r}) = -2n_s \cosh(\beta q\psi(\mathbf{r})) \quad (3.19)$$

となる。よって (3.17) 式は

$$\begin{aligned} F = & \frac{1}{2}\varepsilon \int dV \nabla^2 \psi(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & - 2k_B T \int dV n_s \cosh(\beta q\psi(\mathbf{r})) \\ & + \int dV q n_p(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & - \frac{1}{2} \int dV q \sigma_1(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & + \frac{1}{2} k (L - l)^2 \end{aligned} \quad (3.20)$$

となる。ここでグリーンの第一公式

$$\int dV \nabla^2 \psi(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) = \oint_S (\psi(\mathbf{r}) \nabla \psi(\mathbf{r})) \cdot d\mathbf{S} - \int dV (\nabla \psi(\mathbf{r}))^2 \quad (3.21)$$

を用いると (3.20) 式は、

$$\begin{aligned} F = & \frac{1}{2}\varepsilon \oint_S dS \psi(\mathbf{r}) (\mathbf{n} \cdot \nabla \psi(\mathbf{r})) \\ & - \frac{1}{2}\varepsilon \int dV (\nabla \psi(\mathbf{r}))^2 \\ & - 2k_B T \int dV n_s \cosh(\beta q\psi(\mathbf{r})) \\ & + \int dV q n_p(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & - \frac{1}{2} \int dV q \sigma_1(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & + \frac{1}{2} k (L - l)^2 \end{aligned} \quad (3.22)$$

となる。ここで $\mathbf{n}$ は法線ベクトルである。また、ガウスの法則

$$\mathbf{n} \cdot \nabla \psi(\mathbf{r}) = -\frac{q\sigma_1(\mathbf{r})}{\varepsilon} \quad (3.23)$$

を用いると (3.22) 式は、

$$\begin{aligned} F = & -\frac{1}{2}\varepsilon \int dV (\nabla \psi(\mathbf{r}))^2 \\ & - 2k_B T \int dV n_s \cosh(\beta q \psi(\mathbf{r})) \\ & + \int dV q n_p(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & - \int dV q \sigma_1(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & + \frac{1}{2} k (L - l)^2 \end{aligned} \quad (3.24)$$

となる。今回、高分子電解質、コロイド粒子表面、対イオンの電荷は y, z 方向に一様に分布すると仮定したので、

$$dV = b^2 dx \quad (3.25)$$

と書ける。よって (3.24) 式は、

$$\begin{aligned} F = & -\frac{1}{2}\varepsilon b^2 \int dx \left(\frac{d\psi(x)}{dx} \right)^2 \\ & - 2k_B T b^2 \int dx n_s \cosh(\beta q \psi(x)) \\ & + \int dx q n_p \psi(x) \\ & - \int dx q \sigma_1 \psi(x) \\ & + \frac{1}{2} k (L - l)^2 \end{aligned} \quad (3.26)$$

$\psi(x)$ は境界条件

$$\begin{cases} x = 0 \text{ での電場がコロイド表面の電荷によって決まる } -\frac{d\psi(x)}{dx} = -\frac{\sigma_1}{\varepsilon} \\ x = L \text{ で電位が滑らかにつながる } \lim_{x \rightarrow L+} \psi(x) = \lim_{x \rightarrow L-} \psi(x) \end{cases} \quad (3.27)$$

を用いて解くと、

$$\psi(x) = \begin{cases} \frac{qn_p}{\kappa^2 \varepsilon} \{1 - e^{-\kappa L} \cosh(\kappa x)\} - \frac{q\sigma}{\kappa \varepsilon} e^{-\kappa x} & (0 \leq x < L) \\ \frac{qn_p}{\kappa^2 \varepsilon} e^{-\kappa x} \sinh(\kappa L) + \frac{q\sigma}{\kappa \varepsilon} e^{-\kappa x} & (x \geq L) \end{cases}$$

ただし、 κ^{-1} はデバイ長である。デバイ長はカウンターイオンが電場を遮蔽する現象において、その遮蔽が有効になる長さスケール [26] で

$$\kappa^2 = \frac{2n_s q^2}{k_B T} \quad (3.28)$$

と表される。

(3.26) 式をこの静電ポテンシャル $\psi(x)$ を使って求めると、最終的な自由エネルギーは

$$\begin{aligned} F/kl^2 = & -\frac{1}{4} \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{b^2 n_p^2}{\kappa^3} \left(1 - e^{-2\kappa L} - 2\kappa L\right) \\ & - \frac{1}{2} \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{b^2 \sigma_1^2}{\kappa} \\ & + \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{b^2 n_p \sigma_1}{\kappa^2} \\ & + \frac{1}{2} k(L-l)^2 \end{aligned} \quad (3.29)$$

となる。尚、(3.29) 式の自由エネルギーは $x = \infty$ を基準として示した。自由エネルギー (3.29) 式を L に関して微分して、自由エネルギーの最小化から各塩濃度 n_s に対する L を求めた。

3.3.3 結果

高分子電解質が一様に縮む場合

まず、高分子電解質が全体として一様に伸び縮みする場合を考えた。このとき、 $n_p = \frac{N}{Lb^2}$ 、 $\sigma_1 = \sigma$ とすると、(3.29) 式は

$$\begin{aligned} F/kl^2 = & -\frac{1}{4} \frac{\tilde{b}}{\tilde{a}^3 \tilde{l}^2} \left(1 - e^{-2\tilde{a}\tilde{l}} - 2\tilde{a}\tilde{l}\right) \\ & - \frac{1}{2} \frac{\tilde{d}}{\tilde{a}} \\ & - \frac{\tilde{c}}{\tilde{a}^2 \tilde{l}} \left(e^{-\tilde{a}\tilde{l}} - 1\right) \\ & + \frac{1}{2} (\tilde{l} - 1)^2 \end{aligned} \quad (3.30)$$

となる。ここで、 $\tilde{a}$, $\tilde{b}$, $\tilde{c}$, $\tilde{d}$, $\tilde{l}$ はそれぞれ以下で定義され、塩濃度、高分子電解質の分子内静電反発、コロイド表面と高分子電解質の静電引力、コロイド表面間の静電反発、高分子電解質の広がりの大きさを表す規格化パラメータである。

$$\tilde{a} = \kappa l \quad (3.31)$$

$$\tilde{b} = \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{N^2}{b^2} \frac{1}{kl} \quad (3.32)$$

$$\tilde{c} = \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{\sigma N}{1} \frac{1}{kl} \quad (3.33)$$

$$\tilde{d} = \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{\sigma^2 b^2}{1} \frac{1}{kl} \quad (3.34)$$

$$\tilde{l} = \frac{L}{l} \quad (3.35)$$

である。(3.30) 式の自由エネルギーを L に関して最小化することで、各塩濃度 n_s に対する L を求めた。結果を図 3.4 示した。塩濃度 n_s が高くなるにつれ、高分子電解質の長さ L は小さくなった。この結果は Mangelot らの X 線散乱測定の結果 [22] と、我々が行ったシミュレーションの結果 (付録図 5.1 参照) と定性的に一致しなかった。

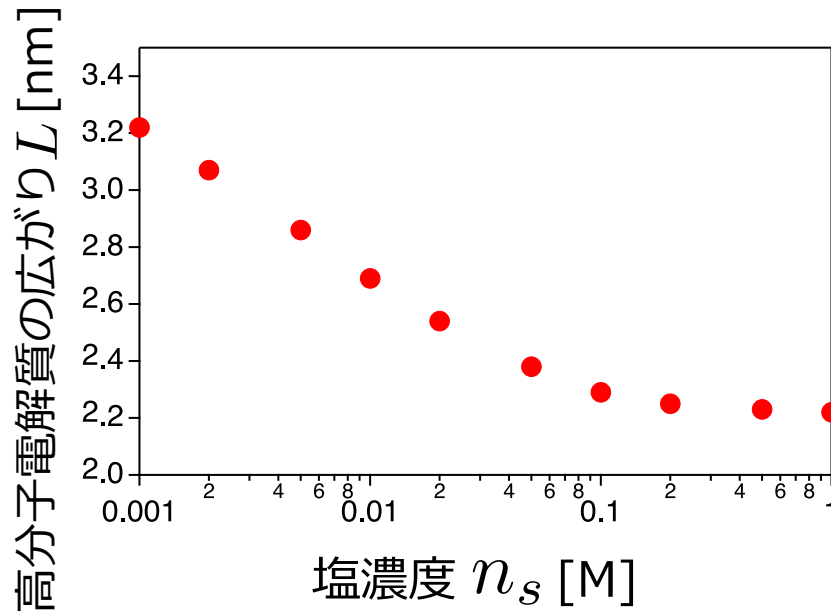


図 3.4 塩濃度 n_s に対する高分子電解質の広がりの大きさ L

高分子電解質が一様に縮まない場合

図 3.4 は、高分子電解質が一様に縮むと仮定した場合に得られた結果であるが、第 3 章シミュレーションの結果から、高分子電解質が伸びている部分と縮んでいる部分に分かれ、不均一に伸び縮みすることが重要ではないかと推測された。そこで、高分子電解質が縮んでコロイド表面に付着している部分と、伸びている部分が存在するとして図 3.5 のようなモデルを考えた。図 3.5 の左は、高分子電解質とコロイド表面の静電相互作用がないときの高分子電解質の様子を模式化したものであるが、このときの高分子電解質の長さを l とした。図 3.5 の右のように高分子電解質とコロイド表面の静電相互作用があるとき、高分子電解質がコロイド表面に付着した部分の長さを l_s とすると、伸びている部分の長さは $l - l_s$ となる。

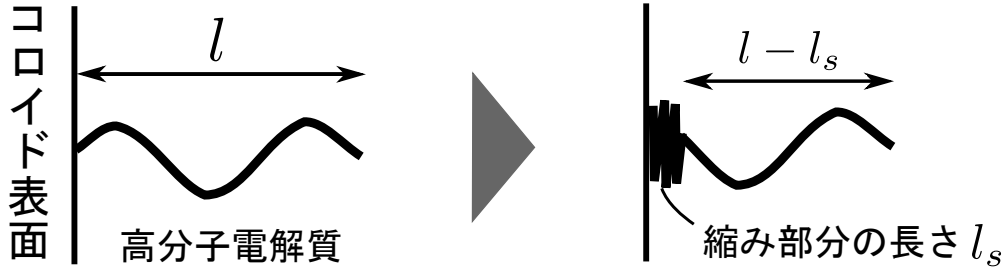


図 3.5 l_s の説明図。左が静電相互作用がないときの高分子電解質を表し、右が静電相互作用があるときの高分子電解質を表す。高分子電解質の自然長を l 、コロイドの表面電荷によってコロイド表面に付着した高分子電解質の部分の長さを l_s 、付着していない部分の長さを $l - l_s$ とした。

また、高分子電解質がコロイド表面に付着したことにより、高分子電解質とコロイド表面の電荷が中性化されるとすると、

$$n_p = \frac{N}{lb^2} \left(1 - \frac{l_s}{l}\right) \quad (3.36)$$

$$\sigma_1 = \sigma - \frac{N}{lb^2} l_s \quad (3.37)$$

となる。さらに、コロイド表面に付着した高分子電解質の弾性エネルギーは L に依存しないと仮定すると、高分子電解質の弾性項は、

$$\frac{1}{2}k(L-l)^2 \rightarrow \frac{1}{2}k\{L-(l-l_s)\}^2 + \frac{1}{2}kl_s^2 \quad (3.38)$$

と変わる。よって (3.29) 式の自由エネルギーは、

$$\begin{aligned} F/kL^2 = & -\frac{1}{4} \frac{\tilde{b}}{\tilde{a}^3} (1-\tilde{s})^2 \left(1 - e^{-2\tilde{a}\tilde{l}} - 2\tilde{a}\tilde{l}\right) \\ & - \frac{\tilde{c}}{\tilde{a}^2} \{(e^{-\tilde{a}\tilde{l}} - 1)(1-\tilde{s}) - \tilde{a}\tilde{s}\} \\ & - \frac{1}{2} \frac{\tilde{b}}{\tilde{a}^2} \{2\tilde{s}(1-\tilde{s})(e^{-\tilde{a}\tilde{l}} - 1) - \tilde{a}\tilde{s}^2\} \\ & - \frac{1}{2} \frac{\tilde{d}}{\tilde{a}} \\ & + \frac{1}{2}(\tilde{l} - 1 + \tilde{s})^2 + \frac{1}{2}\tilde{s}^2 \end{aligned} \quad (3.39)$$

となる。ここで、(3.31)～(3.35) 式と高分子電解質の縮み部分の長さを表す規格化パラメータとして導入した $\tilde{s}$ を用いた。 $\tilde{s}$ は以下で定義される。

$$\tilde{s} = \frac{l_s}{l} \quad (3.40)$$

を用いた。(3.39) 式を高分子電解質の長さ L と高分子電解質がコロイド表面に付着している部分の長さ l_s に関して自由エネルギーの最小化をすることで、各塩濃度で安定な L と l_s を出した。結果を図 3.6 に示した。高分子電解質の広がり大きさ L は図 5.1 と同様、塩濃度の増加に対して大きくなった。この結

果は Mangelot らの X 線散乱測定の結果 [22] と、我々が行ったシミュレーションの結果 (付録図 5.1 参照) と定性的に一致した。 l_s は、塩濃度 n_s を高くしてもほとんど変化しなかった。

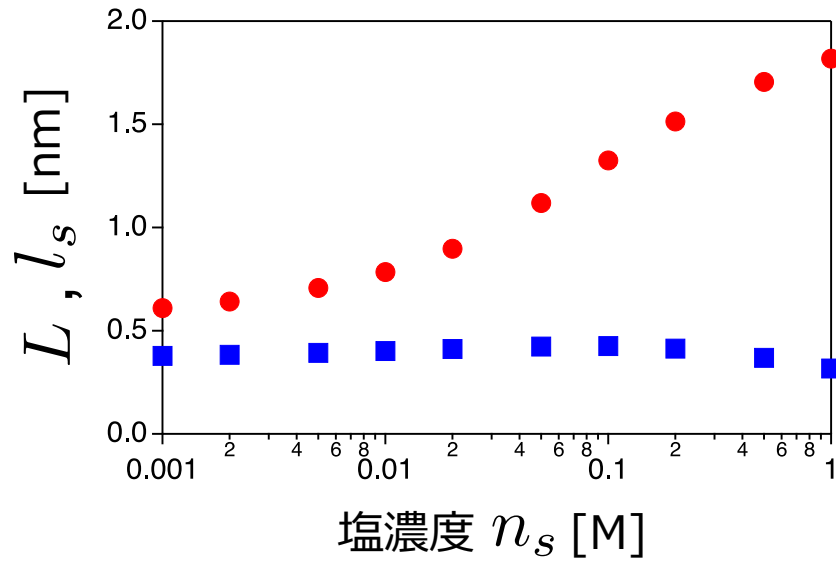


図 3.6 各塩濃度 n_s に対する高分子電解質の長さ L と高分子電解質の縮み部分の長さ l_s 。赤のシンボルが L 、青のシンボルが l_s の結果を表す。

3.4 2つのヌクレオソーム模倣系に関する理論

3.3 節で、高分子電解質をコロイド表面に付着する部分と付着しない部分に分けて計算を行うと、シミュレーションの結果と定性的に一致することがわかった。このモデルを使用して、ここでは、2つのコロイド粒子間の相互作用の大きさを理論的に計算することを目的とする。

3.4.1 理論モデル

2つの相互作用するコロイド粒子に着目した。2つのコロイド粒子は高分子電解質の正電荷とコロイド粒子の負電荷によって引き合いが起これと予想される。図 3.7 のようにグラフトされた高分子電解質を持つコロイド粒子と、持たないコロイド粒子の相互作用に着目した。コロイド粒子表面間の距離を a 、高分子電解質の広がり大きさを L 、塩濃度を n_s とした。図 3.7 右の系の自由エネルギー F を a と L の関数として、得られた自由エネルギー F の最小化から各塩濃度 n_s における a と L を求めた。自由エネルギー F は高分子の弾性、対イオンのエントロピー、静電相互作用を考慮して求めた。自由エネルギー F を用いて各塩濃度 n_s におけるコロイド表面間の第二ビリアル係数の値を計算した。

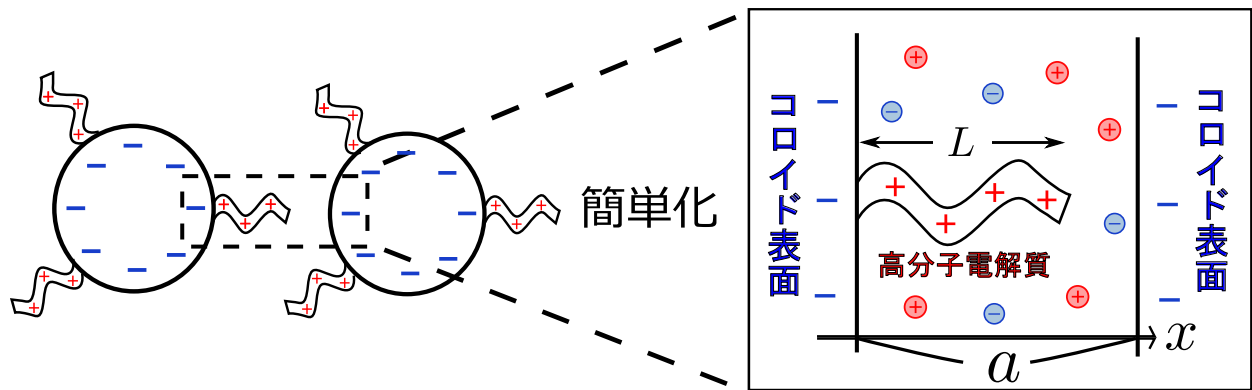


図 3.7 2つのコロイド粒子間の相互作用を計算するための理論モデル。2つのコロイド粒子が引き合う領域に着目した。コロイド粒子は曲率をもたない表面として考えた。

表 3.1 に加えて今回の計算で使用するパラメータと値を表 3.2、パラメータの説明を図 3.8 に示した。

表 3.2 パラメータ

パラメータ	値
σ_2 高分子電解質のないコロイド粒子表面の電荷密度 [$1/\text{m}^2$]	7.50×10^{17}
d 高分子電解質の平均存在距離 [m]	6.57×10^{-9}

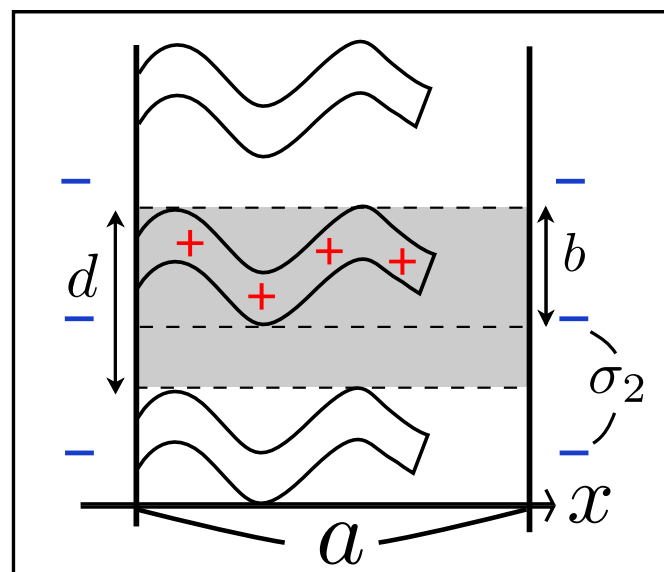


図 3.8 パラメータの説明図。高分子電解質の平均存在距離を d 、高分子電解質がグラフトされていないコロイド粒子表面の電荷密度を σ_2 とした。

高分子電解質の平均存在距離 d は、コロイド粒子に 8 本の高分子電解質がグラフトされていると仮定したときの一本あたりの高分子電解質が占める面積から計算した。

3.4.2 自由エネルギー

図 3.8 の灰色の領域の自由エネルギー F が、対イオンの並進運動エネルギー F_{entropy} 、静電エネルギー F_{electric} 、高分子の弾性エネルギー F_{elastic} からなるとすると、

$$F = F_{\text{entropy}} + F_{\text{electric}} + F_{\text{elastic}} + \mu \int dV n_+(\mathbf{r}) + \mu \int dV n_-(\mathbf{r}) \quad (3.41)$$

と書ける。ここで、カウンターイオンの並進運動エネルギー F_{entropy} は (3.2) 式、高分子の弾性エネルギー F_{elastic} は (3.38) 式と同様である。 $\int dV$ の積分範囲は x 方向に $[0, a]$ 、 y, z 方向に $[0, d]$ である。静電エネルギー F_{electric} は

$$\begin{aligned}
F_{\text{electric}} = & \frac{1}{2} \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}) n_+(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}) n_-(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{1}{2} \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_-(\mathbf{r}) n_-(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dS' \frac{n_+(\mathbf{r}) \sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dS' \frac{n_-(\mathbf{r}) \sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dS' \frac{n_+(\mathbf{r}) \sigma_2(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dS' \frac{n_-(\mathbf{r}) \sigma_2(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}) n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_-(\mathbf{r}) n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{1}{2} \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dS \int dS' \frac{\sigma_1(\mathbf{r}) \sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dS \int dS' \frac{\sigma_1(\mathbf{r}) \sigma_2(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{1}{2} \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dS \int dS' \frac{\sigma_2(\mathbf{r}) \sigma_2(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& + \frac{1}{2} \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_p(\mathbf{r}) n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_p(\mathbf{r}) \sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
& - \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \int dV' \frac{n_p(\mathbf{r}) \sigma_2(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}
\end{aligned} \tag{3.42}$$

である。 $\int dS$ の積分範囲は y, z 方向に $[0, d]$ である。(3.41) 式を $n_+(\mathbf{r})$ に関して汎関数微分すると、

$$\begin{aligned}
\delta F(n_+(\mathbf{r})) &= \int dV k_B T \delta n_+(\mathbf{r}) \log n_+(\mathbf{r}) \\
&+ \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \int dV' \frac{n_-(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \int dS' \frac{\sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \int dS' \frac{\sigma_2(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&+ \frac{q^2}{4\pi\epsilon} \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \int dV' \frac{n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&+ \mu \int dV \delta n_+(\mathbf{r})
\end{aligned} \tag{3.43}$$

となる。ここで静電ポテンシャル $\psi(\mathbf{r})$ は、

$$\begin{aligned}
\psi(\mathbf{r}) &= \frac{q}{4\pi\epsilon} \int dV' \frac{n_+(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q}{4\pi\epsilon} \int dV' \frac{n_-(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q}{4\pi\epsilon} \int dS' \frac{\sigma_1(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q}{4\pi\epsilon} \int dS' \frac{\sigma_2(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \\
&- \frac{q}{4\pi\epsilon} \int dV' \frac{n_p(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}
\end{aligned} \tag{3.44}$$

である。(3.44) 式を (3.43) 式に適用すると、

$$\begin{aligned}
\delta F(n_+(\mathbf{r})) &= \int dV k_B T \delta n_+(\mathbf{r}) \log n_+(\mathbf{r}) \\
&+ \int dV \delta n_+(\mathbf{r}) q \psi(\mathbf{r}) \\
&+ \mu \int dV \delta n_+(\mathbf{r})
\end{aligned} \tag{3.45}$$

$\delta F(n_+(\mathbf{r})) = 0$ になる必要があるので、

$$\int dV \delta n_+(\mathbf{r}) \left[k_B T \log n_+(\mathbf{r}) + q\psi(\mathbf{r}) + \mu \right] = 0 \quad (3.46)$$

$$n_+(\mathbf{r}) = \exp\left(-\frac{q\psi(\mathbf{r})}{k_B T} - \frac{\mu}{k_B T}\right) \quad (3.47)$$

となる。同様に $n_-(\mathbf{r})$ に関して汎関数微分して求めると、

$$n_-(\mathbf{r}) = \exp\left(\frac{q\psi(\mathbf{r})}{k_B T} - \frac{\mu}{k_B T}\right) \quad (3.48)$$

となる。(3.41) 式を $\psi(\mathbf{r})$ で置き換えると、

$$\begin{aligned} F = & \int dV k_B T \left[n_+(\mathbf{r}) \log n_+(\mathbf{r}) - n_+(\mathbf{r}) \right] \\ & + \int dV k_B T \left[n_-(\mathbf{r}) \log n_-(\mathbf{r}) - n_-(\mathbf{r}) \right] \\ & + \frac{1}{2} \int dV q n_+(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & - \frac{1}{2} \int dV q n_-(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & - \frac{1}{2} \int dS q \sigma_1(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & - \frac{1}{2} \int dS q \sigma_2(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & + \frac{1}{2} \int dV q n_p(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\ & + \mu \int dV n_+(\mathbf{r}) \\ & + \mu \int dV n_-(\mathbf{r}) \\ & + \frac{1}{2} k \{ L - (l - l_s) \}^2 + \frac{1}{2} k l_s^2 \end{aligned} \quad (3.49)$$

となる。(3.15) 式を (3.49) 式に適用すると、

$$\begin{aligned}
F = & \int dV k_B T \left[n_+(\mathbf{r}) \log n_+(\mathbf{r}) - n_+(\mathbf{r}) \right] \\
& + \int dV k_B T \left[n_-(\mathbf{r}) \log n_-(\mathbf{r}) - n_-(\mathbf{r}) \right] \\
& - \frac{1}{2} \varepsilon \int dV \nabla^2 \psi(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
& - \frac{1}{2} \int dV q \sigma_1(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
& - \frac{1}{2} \int dV q \sigma_2(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
& + \mu \int dV n_+(\mathbf{r}) \\
& + \mu \int dV n_-(\mathbf{r}) \\
& + \frac{1}{2} k \{ L - (l - l_s) \}^2 + \frac{1}{2} k l_s^2
\end{aligned} \tag{3.50}$$

となる。静電ポテンシャル (3.44) 式を用いると、

$$\begin{aligned}
F = & - \int dV n_+(\mathbf{r}) q \psi(\mathbf{r}) \\
& + \int dV n_-(\mathbf{r}) q \psi(\mathbf{r}) \\
& - \int dV k_B T \left[n_+(\mathbf{r}) - n_-(\mathbf{r}) \right] \\
& - \frac{1}{2} \varepsilon \int dV \nabla^2 \psi(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
& - \frac{1}{2} \int dV q \sigma_1(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
& - \frac{1}{2} \int dV q \sigma_2(\mathbf{r}) \psi(\mathbf{r}) \\
& + \frac{1}{2} k \{ L - (l - l_s) \}^2 + \frac{1}{2} k l_s^2
\end{aligned} \tag{3.51}$$

となる。(3.19), (3.25) 式、グリーンの第一公式、ガウスの法則より

$$\begin{aligned}
 F = & -\frac{1}{2}\varepsilon \int dV (\nabla\psi(\mathbf{r}))^2 \\
 & - 2k_B T \int dV n_s \cosh(\beta q\psi) \\
 & + \int dV q n_p(\mathbf{r})\psi(\mathbf{r}) \\
 & - \int dV q \sigma_1(\mathbf{r})\psi(\mathbf{r}) \\
 & - \int dV q \sigma_2(\mathbf{r})\psi(\mathbf{r}) \\
 & + \frac{1}{2}k\{L - (l - l_s)\}^2 + \frac{1}{2}kl_s^2
 \end{aligned} \tag{3.52}$$

となる。静電ポテンシャル $\psi(\mathbf{r})$ は以下の図のように2つの領域に分けて考える。高分子電解質が存在する領域の静電ポテンシャルを $\psi_1(x)$ 、高分子電解質が存在しない領域を $\psi_2(x)$ とした。

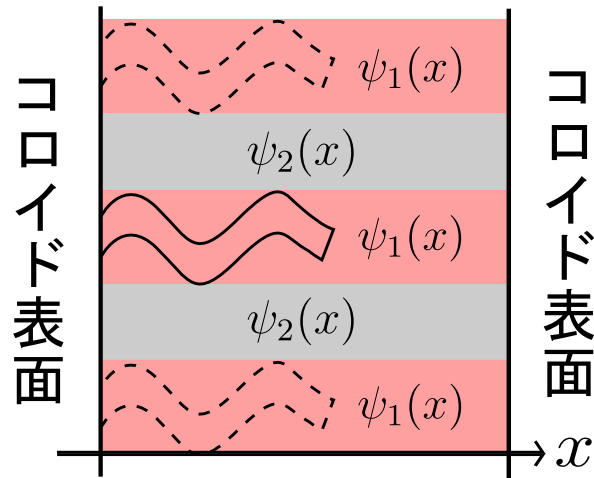


図 3.9 静電ポテンシャルの分け方。高分子電解質が存在する領域の静電ポテンシャルを $\psi_1(x)$ 、高分子電解質が存在しない表面と表面の間の領域を $\psi_2(x)$ とした。

静電ポテンシャル $\psi_1(\mathbf{r})$ はポアソン方程式から求めた。境界条件は以下とした。

$$\left\{ \begin{array}{l} x = 0 \text{ での電場がコロイド表面の電荷によって決まる } -\frac{d\psi_1(0)}{dx} = -\frac{\sigma_1}{\varepsilon} \\ x = L \text{ で } \psi_1(x) \text{ と } \psi_2(x) \text{ が等しくなる } \lim_{x \rightarrow L+} \psi_1(x) = \lim_{x \rightarrow L-} \psi_1(x) \\ x = a \text{ で電場がコロイド表面の電荷によって決まる } -\frac{d\psi_1(a)}{dx} = -\frac{\sigma_2}{\varepsilon} \end{array} \right. \tag{3.53}$$

これらの境界条件を用いると静電ポテンシャル $\psi_1(x)$ は

$$\psi_1(x) = \begin{cases} C_1 e^{-\kappa x} + C_2 e^{\kappa x} + \frac{qn_p}{\kappa^2 \varepsilon} & (0 \leq x < L) \\ C_3 e^{-\kappa x} + C_4 e^{\kappa x} & (L \leq x \leq a) \end{cases} \quad (3.54)$$

となる。ただし、

$$\begin{aligned} C_1 &= \frac{1}{2} \frac{qn_p}{\kappa^2 \varepsilon} \frac{\sinh\{\kappa(L-a)\}}{\sinh(\kappa a)} - \frac{1}{2} \frac{q}{\kappa \varepsilon} \frac{\sigma_1 e^{-\kappa a} + \sigma_2}{\sinh(\kappa a)} \\ C_2 &= \frac{1}{2} \frac{qn_p}{\kappa^2 \varepsilon} \frac{\sinh\{\kappa(L-a)\}}{\sinh(\kappa a)} - \frac{1}{2} \frac{q}{\kappa \varepsilon} \frac{\sigma_1 e^{\kappa a} + \sigma_2}{\sinh(\kappa a)} \\ C_3 &= \frac{1}{2} \frac{qn_p}{\kappa^2 \varepsilon} \frac{e^{\kappa a} \sinh\{\kappa L\}}{\sinh(\kappa a)} - \frac{1}{2} \frac{q}{\kappa \varepsilon} \frac{\sigma_1 e^{\kappa a} + \sigma_2}{\sinh(\kappa a)} \\ C_4 &= \frac{1}{2} \frac{qn_p}{\kappa^2 \varepsilon} \frac{e^{\kappa a} \sinh\{\kappa L\}}{\sinh(\kappa a)} - \frac{1}{2} \frac{q}{\kappa \varepsilon} \frac{\sigma_1 e^{-\kappa a} + \sigma_2}{\sinh(\kappa a)} \end{aligned} \quad (3.55)$$

で表される。

$\psi_2(x)$ は境界条件に

$$\begin{cases} x=0 \text{ での電場がコロイド表面の電荷によって決まる} & -\frac{d\psi_2(0)}{dx} = -\frac{\sigma_1}{\varepsilon} \\ x=a \text{ での電場がコロイド表面の電荷によって決まる} & -\frac{d\psi_2(a)}{dx} = -\frac{\sigma_2}{\varepsilon} \end{cases} \quad (3.56)$$

を用いて解くと、

$$\psi_2(x) = C_5 e^{-\kappa x} + C_6 e^{\kappa x} \quad (3.57)$$

$$C_5 = -\frac{1}{2} \frac{q\sigma}{\kappa \varepsilon} \frac{1 + e^{\kappa a}}{\sinh(\kappa a)}, \quad C_6 = -\frac{1}{2} \frac{q\sigma}{\kappa \varepsilon} \frac{1 + e^{-\kappa a}}{\sinh(\kappa a)} \quad (3.58)$$

となる。静電ポテンシャル $\psi_1(x)$, $\psi_2(x)$ を (3.52) 式に適用すると、自由エネルギーは最終的に

$$\begin{aligned}
F = & \frac{1}{4} \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{b^2 n_p^2}{\kappa^3} \frac{\sinh(2\kappa L) - \sinh(2\kappa a) + \sinh\{2\kappa(a-L)\}}{2 \sinh^2(\kappa a)} \\
& + \frac{1}{2} \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{b^2 n_p^2}{\kappa^3} \kappa L \\
& + \frac{1}{2} \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{b^2 \sigma_1^2}{\kappa} \frac{\cosh(\kappa a)}{\sinh(\kappa a)} \\
& + \frac{1}{2} \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{b^2 \sigma_2^2}{\kappa} \frac{\cosh(\kappa a)}{\sinh(\kappa a)} \\
& + \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{b^2 \sigma_1 \sigma_2}{\kappa} \frac{1}{\sinh(\kappa a)} \\
& - \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{b^2 n_p \sigma_1}{\kappa^2} \frac{\sinh(\kappa a) - \sinh\{\kappa(a-L)\}}{\sinh \kappa a} \\
& - \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{b^2 n_p \sigma_2}{\kappa^2} \frac{\sinh(\kappa L)}{\sinh(\kappa a)} \\
& - \frac{q^2}{\varepsilon} \frac{(d-b)^2 \sigma^2}{\kappa} \frac{1 + \cosh(\kappa a)}{\sinh(\kappa a)} \\
& + \frac{1}{2} k \{L - (l - l_s)\}^2 + \frac{1}{2} k l_s^2
\end{aligned} \tag{3.59}$$

となる。尚、この自由エネルギーはバルクの値を基準として示した。(3.31)~(3.35), (3.40) 式の規格化パラメータと、以下で表す高分子電解質のグラフト密度を表す規格化パラメータ $\tilde{g}$

$$\tilde{g} = \frac{b}{d} \tag{3.60}$$

を用いると、(3.59) 式は

$$\begin{aligned}
F/kl^2 = & \frac{1}{4} \frac{\tilde{b}}{\tilde{a}^3} (1 - \tilde{s})^2 \frac{\sinh(2\tilde{a}\tilde{l}) - \sinh(2\tilde{a}\tilde{m}) + \sinh\{2\tilde{a}(\tilde{m} - \tilde{l})\} + 2\tilde{a}\tilde{l}}{2 \sinh^2(\tilde{a}\tilde{m})} \\
& + \frac{1}{2} \frac{\tilde{b}\tilde{l}}{\tilde{a}^2} (1 - \tilde{s})^2 \\
& + \frac{1}{2} \frac{\tilde{b}}{\tilde{a}^2} (1 - \tilde{s})^2 \frac{\tilde{a}\tilde{s}^2 \cosh(\tilde{a}\tilde{m}) - 2\tilde{s}(\tilde{s} - 1)(\sinh(\tilde{a}(\tilde{l} - \tilde{m})) + \sinh(\tilde{a}\tilde{m}))}{\sinh(\tilde{a}\tilde{m})} \\
& + \frac{\tilde{c}}{\tilde{a}^2} \frac{(\tilde{s} - 1)(\sinh(\tilde{a}(\tilde{l} - \tilde{m})) + \sinh(\tilde{a}\tilde{m}) + \sinh(\tilde{a}\tilde{l})) - \tilde{a}\tilde{s}(1 + \cosh(\tilde{a}\tilde{m}))}{\sinh(\tilde{a}\tilde{m})} \quad (3.61) \\
& + \frac{\tilde{d}}{\tilde{a}} \frac{1 + \cosh(\tilde{a}\tilde{m})}{\sinh(\tilde{a}\tilde{m})} \\
& + \frac{\tilde{d}}{\tilde{a}} (\tilde{g} - 1)^2 \frac{1 + \cosh(\tilde{a}\tilde{m})}{\sinh(\tilde{a}\tilde{m})} \\
& + \frac{1}{2} (\tilde{l} - 1 + \tilde{s})^2 + \frac{1}{2} \tilde{s}^2
\end{aligned}$$

となる。この自由エネルギー F を高分子電解質の広がり大きさ L と l_s に関して最小化し、各コロイド表面間距離 a に対する自由エネルギーの大きさを求めた。ただし、高分子電解質の長さ L は a より大きくなることのないよう、 $L \leq a$ とした。

3.4.3 第二ビリアル係数の計算

第二ビリアル係数 A_2 の値は式 (1.2) から

$$A_2 = \int_0^\infty \left(1 - e^{-\frac{F(a)}{k_B T}}\right) da \quad (3.62)$$

として数値計算で求めた。

3.4.4 結果

表 3.1、表 3.2 のパラメータと値を用いて、各塩濃度 n_s に対するコロイド表面間の第二ビリアル係数を計算した。結果を図 3.10 に示した。塩濃度 n_s が $4.0 \times 10^{-1} \text{M}$ より低い塩濃度領域では、塩濃度 n_s が高くなるにつれて第二ビリアル係数の値は小さくなった。塩濃度 n_s が $4.0 \times 10^{-1} \text{M}$ より高い塩濃度領域では、塩濃度 n_s が高くなるにつれて第二ビリアル係数の値が大きくなった。よって第二ビリアル係数の値は塩濃度の増加に対して、非単調に変化した。第二ビリアル係数の値が最小になる塩濃度を n_s^* 、第二ビリアル係数が最小となるときの第二ビリアル係数の絶対値を ΔA_2 とし、今後は n_s^* と ΔA_2 の値に着目する。

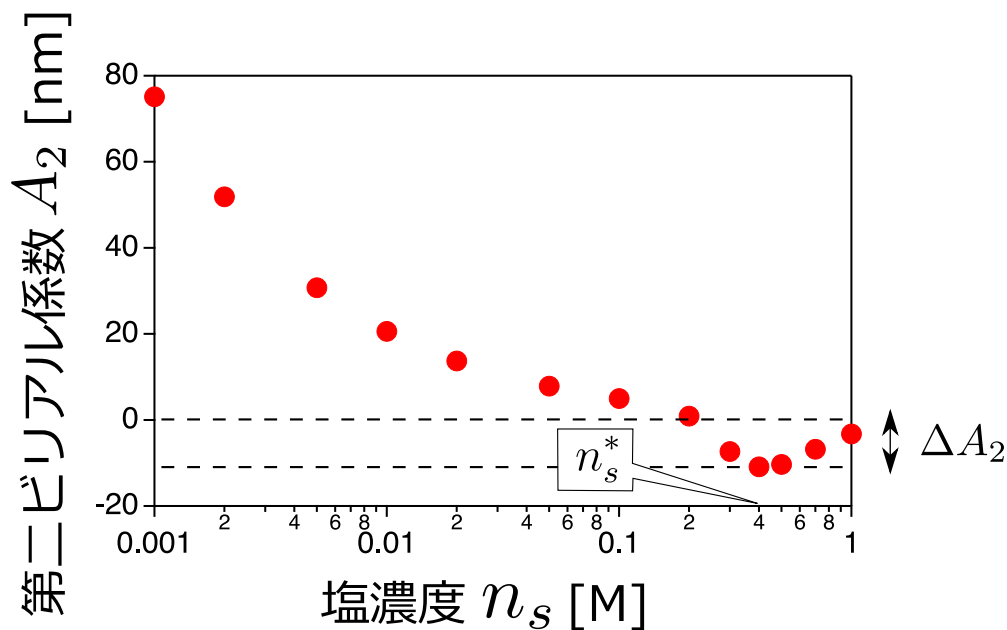


図 3.10 塩濃度に対する第二ビリアル係数の値。第二ビリアル係数の値が最小になる塩濃度を n_s^* 、第二ビリアル係数が最小となるとき第二ビリアル係数の絶対値を ΔA_2 とした。

次に低塩濃度 $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{M}$, 中塩濃度 $n_s = 4.0 \times 10^{-1} \text{M}$, 高塩濃度 $n_s = 1.0 \text{M}$ において、それぞれの塩濃度で表面間距離 a に対する自由エネルギーを図 3.11、表面間距離 a に対する高分子電解質の広がりの大きさ L を図 3.12 に示した。低塩濃度 $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{M}$ のとき、自由エネルギー F の値は表面間距離 a が大きくなるにつれて、単調に小さくなった。中塩濃度 $n_s = 4.0 \times 10^{-1} \text{M}$ では、自由エネルギー F の極小値が現れた。高塩濃度 $n_s = 1.0 \text{M}$ では、極小値の深さが $n_s = 4.0 \times 10^{-1} \text{M}$ のときより小さくなった。高分子電解質の広がりの大きさ L は塩濃度 n_s が高いほど大きい値をとった。

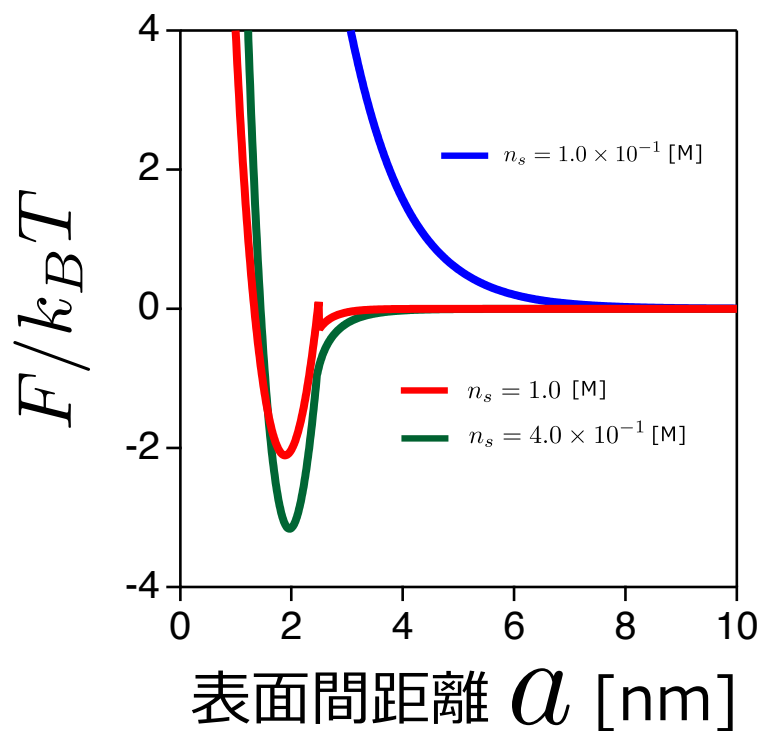


図 3.11 表面間距離 a に対する自由エネルギーの値。自由エネルギーの値は熱エネルギー $k_B T$ で規格化した。青線が $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{M}$ 、緑線が $n_s = 4.0 \times 10^{-1} \text{M}$ 、赤線が $n_s = 1.0 \text{M}$ のときの結果を表す。

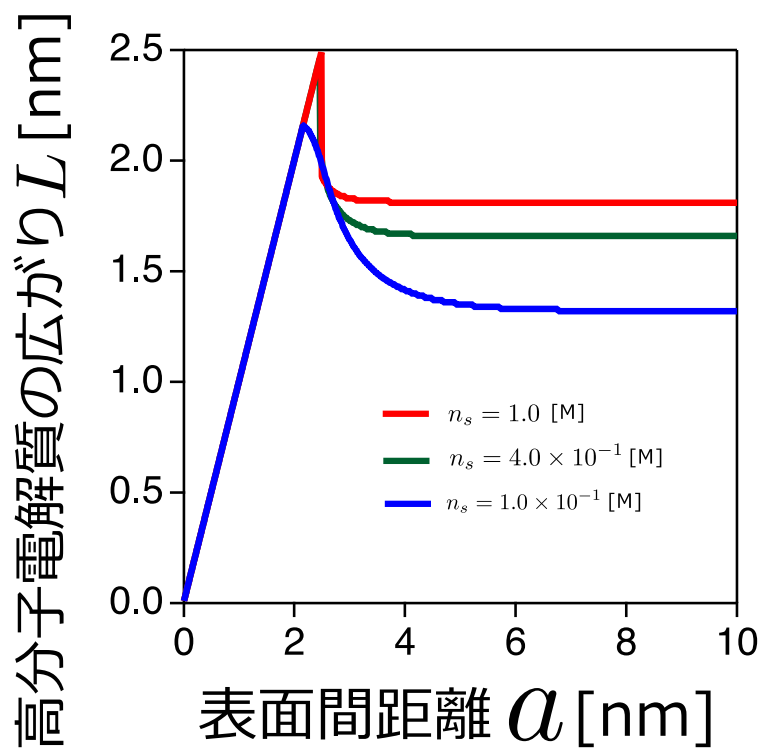


図 3.12 表面間距離 a に対する高分子電解質の広がり L 。青線が $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{M}$ 、緑線が $n_s = 4.0 \times 10^{-1} \text{M}$ 、赤線が $n_s = 1.0 \text{M}$ のときの結果を表す。

コロイド表面と高分子電解質の静電引力相互作用の影響

(3.33) 式のコロイド表面と高分子電解質の静電引力相互作用の大きさを表す規格化パラメータ $\tilde{c}$ の大きさを変えて各塩濃度 n_s に対する第二ビリアル係数の大きさを計算した。第二ビリアル係数の塩濃度に対する非単調性が見られた $\tilde{c}$ の値の範囲で、第二ビリアル係数が最小になる塩濃度 n_s^* と、第二ビリアル係数の最小値の大きさ ΔA_2 に着目した。図 3.13 に結果を示した。 $\tilde{c}$ の値が大きくなると n_s^* は低塩濃度側にシフトした。また、 $\tilde{c}$ の値が大きくなると ΔA_2 の値は大きくなった。

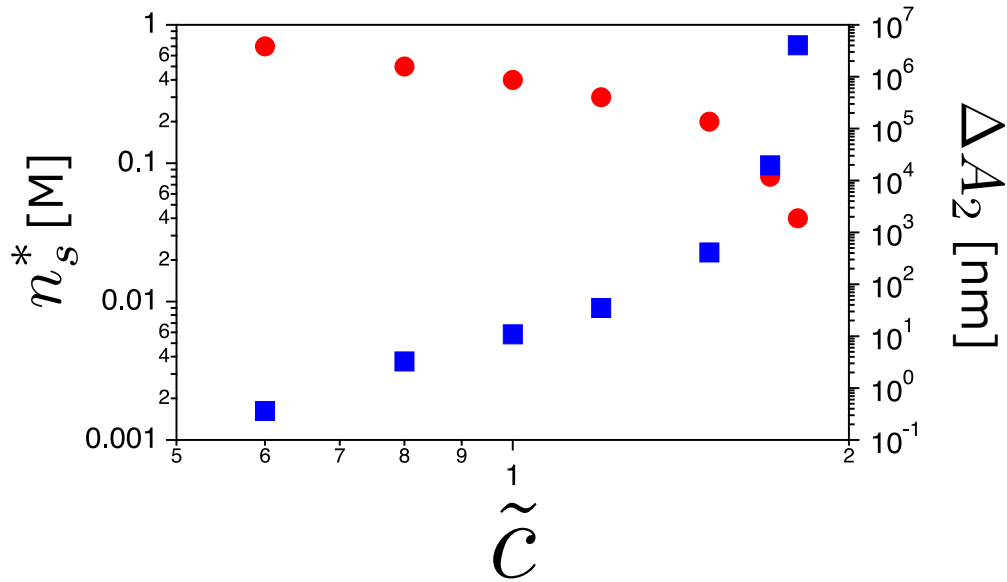


図 3.13 コロイド表面と高分子電解質の静電引力相互作用の大きさを表す規格化パラメータ $\tilde{c}$ に対する n_s^* と ΔA_2 の値。赤のシンボルが n_s^* 、青のシンボルが ΔA_2 の値を表す。 $\tilde{c} = 1$ のときが、図 3.10 の結果にあたる。

コロイド表面間の静電反発相互作用の影響

(3.34) 式のコロイド表面間の静電反発相互作用の大きさを表す規格化パラメータ $\tilde{d}$ の大きさを変えて各塩濃度 n_s に対する第二ビリアル係数の大きさを計算した。第二ビリアル係数の塩濃度に対する非単調性が見られた $\tilde{d}$ の値の範囲で、第二ビリアル係数が最小になる塩濃度 n_s^* と、第二ビリアル係数の最小値の大きさ ΔA_2 に着目した。図 3.14 に結果を示した。 $\tilde{d}$ の値が大きくなると n_s^* は高塩濃度側にシフトした。また、 $\tilde{d}$ の値が大きくなると ΔA_2 の値は小さくなった。

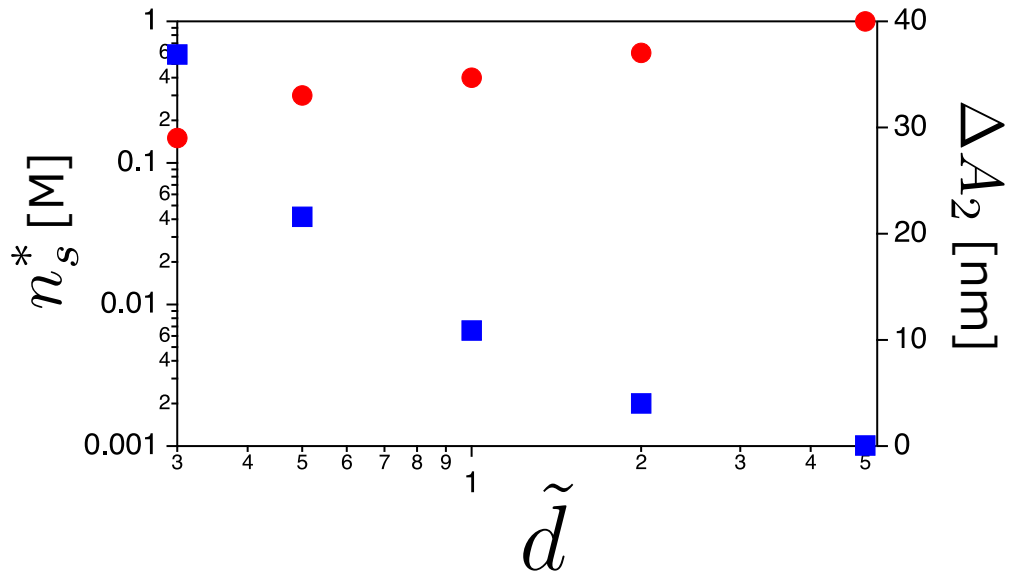


図 3.14 コロイド表面間の静電反発相互作用の大きさを表す規格化パラメータ $\tilde{d}$ に対する n_s^* と ΔA_2 の値。赤のシンボルが n_s^* 、青のシンボルが ΔA_2 の値を表す。 $\tilde{d} = 1$ のときが、図 3.10 の結果にあたる。

高分子電解質のばね定数の大きさの影響

高分子電解質のばね定数 k の値を変えて各塩濃度 n_s に対する第二ビリアル係数の値を計算した。第二ビリアル係数の塩濃度に対する非単調性が見られた k の値の範囲で、第二ビリアル係数が最小になる塩濃度 n_s^* と、第二ビリアル係数の最小値の大きさ ΔA_2 に着目した。図 3.15 に結果を示した。 k の値を大きくしても n_s^* の値はほとんど変化しなかった。 k の値を大きくすると ΔA_2 の値は大きくなった。

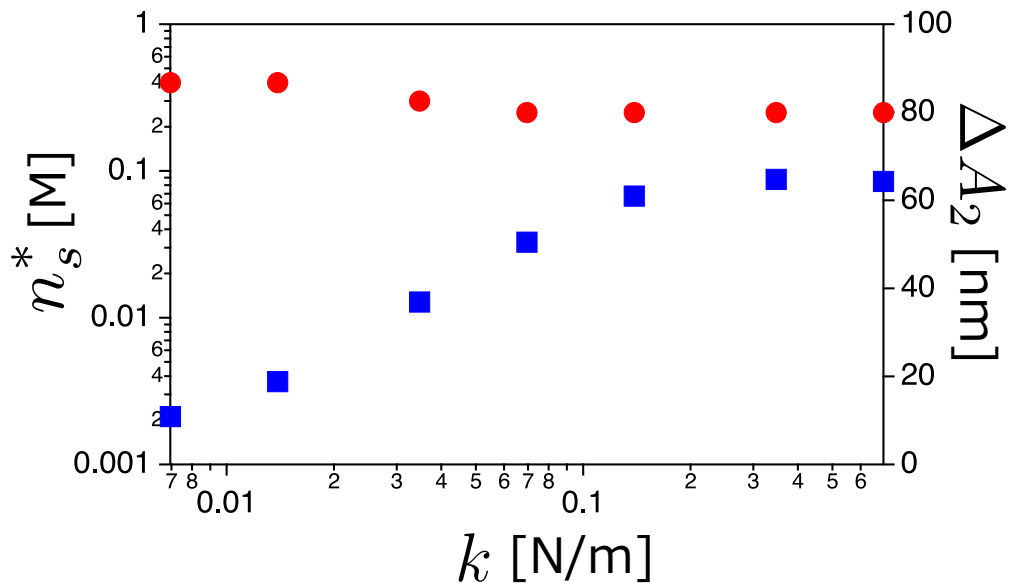


図 3.15 ばね定数 k の大きさに対する n_s^* と ΔA_2 の値。赤のシンボルが n_s^* 、青のシンボルが ΔA_2 の値を表す。

高分子電解質のグラフト密度の影響

(3.60) 式の高分子電解質のグラフト密度を表す規格化パラメータ $\tilde{g} = \frac{b}{d}$ を変えて、各塩濃度に対する第二ビリアル係数を計算した。第二ビリアル係数の塩濃度に対する非単調性が見られた範囲で、第二ビリアル係数が最小になる塩濃度 n_s^* と、第二ビリアル係数の最小値の大きさ ΔA_2 に着目した。結果を図 3.16 に示した。 $\tilde{g}$ の値が大きくなると n_s^* は高塩濃度側にシフトした。また、 $\tilde{g}$ の値が大きくなると ΔA_2 の値は小さくなった。

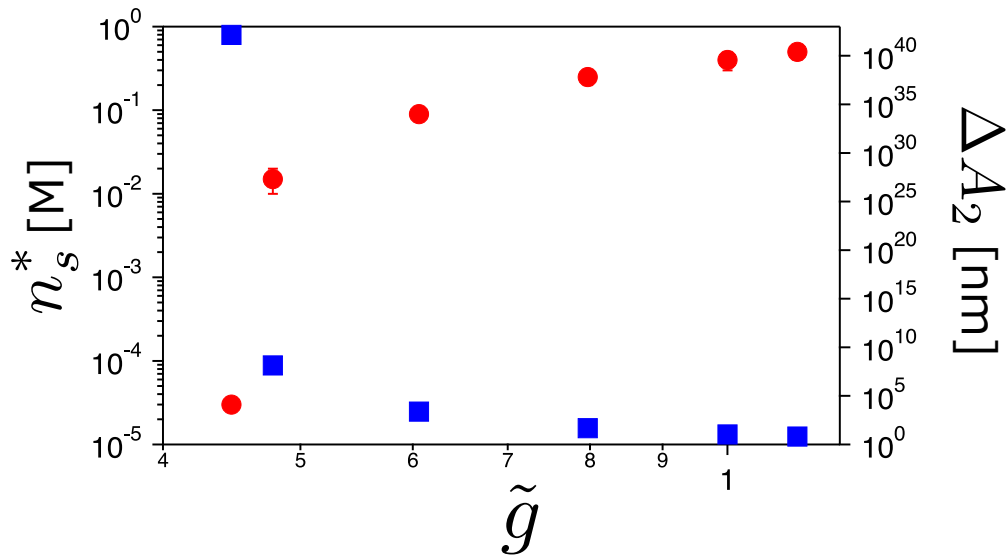


図 3.16 高分子電解質のグラフト密度に対する n_s^* と ΔA_2 の値。赤のシンボルが n_s^* 、青のシンボルが ΔA_2 の値を表す。 $\tilde{g} = 1$ のときが、図 3.10 の結果にあたる。

3.5 考察

3.5.1 コロイド表面間の静電反発相互作用とコロイド表面-高分子間の静電引力相互作用が非単調性を説明

図 3.11 の結果について考察する。 $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{M}$ のとき、表面間距離 a が大きくなるにつれ、自由エネルギーの値は小さくなっていく。これはコロイド表面間の静電反発エネルギーが支配的であるからと考えられる。一方、 $n_s = 4.0 \times 10^{-1} \text{M}$ のとき、自由エネルギーはある表面間距離 a の値で極小を取るようになった。これは、コロイド表面と高分子電解質の静電引力エネルギーが支配的であるからと考えられる。図 3.17 にコロイド表面間距離 a に対するコロイド表面間の静電反発エネルギーとコロイド表面と高分子電解質の静電引力エネルギーの値を示した。 $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{M}$ のとき、コロイド表面間の静電反発エネルギーの大きさがコロイド表面と高分子電解質の静電引力エネルギーの大きさよりも大きい。 $n_s = 4.0 \times 10^{-1} \text{M}$ のとき、コロイド表面と高分子電解質の静電引力エネルギーの大きさが、コロイド表面間の静電反発エネルギーよりも大きくなった。よって、第二ビリアル係数が低塩濃度領域で単調減少するのは、コロイド表面間の静電反発エネルギーが遮蔽されていくためと考えられる。図 3.14 の結果から、コロイド表面間の静電反発相互作用の大きさが大きいほど、第二ビリアル係数の値が最小になる塩濃度 n_s^* は高い値になった。また、図 3.13 の結果から、コロイド表面と高分子間の静電引力相互作用の大きさ

が大きいほど n_s^* は低い値になった。よって、ヌクレオソーム間の相互作用の大きさが塩濃度の増加に対して非単調に変化するのは、ヌクレオソームコア間の静電反発相互作用とヌクレオソームコア-ヒストンテール間の静電引力相互作用の大きさが重要であると考えられる。

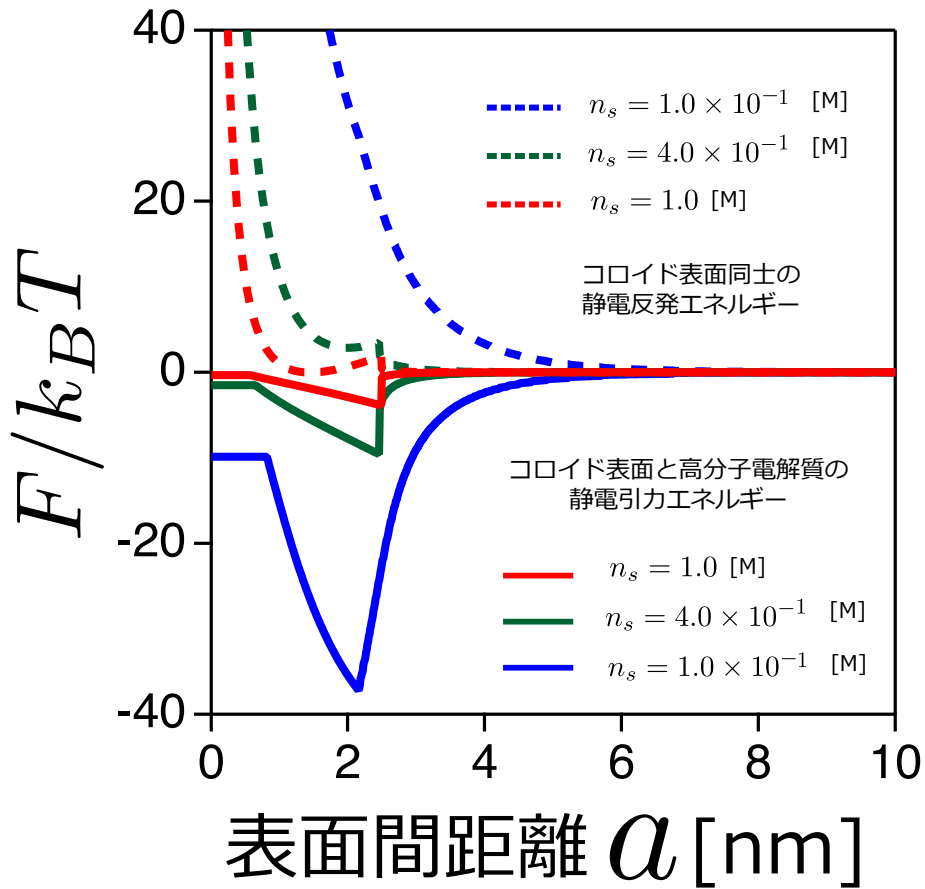


図 3.17 点線がコロイド表面同士の静電反発エネルギーを表す。実線がコロイド表面と高分子電解質の静電引力エネルギーを表す。それぞれのエネルギー項は、熱エネルギー $k_B T$ で規格化した。また、青が $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{ M}$ 、緑が $n_s = 4.0 \times 10^{-1} \text{ M}$ 、赤が $n_s = 1.0 \text{ M}$ のときの自由エネルギーの値を表す。

3.5.2 理論と先行研究の結果の比較

図 3.10 の結果において、第二ビリアル係数の値が塩濃度の増加に対して非単調性に変化したことは先行研究 [14] の実験結果と同じであった。しかし、第二ビリアル係数の値が最小となる塩濃度 n_s^* は異なった。我々が理論モデルを立てる際に、コロイド粒子の曲率を考えないなどの近似を使用した。また、簡単のため高分子電解質、コロイド粒子表面、対イオンの電荷は y, z 方向に一様に分布するとして計算を行った。このような近似を使用したことにより、第二ビリアル係数が最小となる塩濃度 n_s^* の値が先行研究の結果と異なったのではないかと考えられる。

3.6 結論

3.3 節では、単体のヌクレオソーム模倣系に関して理論モデルを立て、高分子電解質の広がり的大小が塩濃度に対してどのように変化するのか調べた。高分子電解質が一様に伸び縮みするのではなく、伸びる部分と縮む部分にわけて理論モデルを立てると、塩濃度が高くなるにつれ高分子電解質の広がりが大きくなることがわかった。次に2つのヌクレオソーム模倣系に関して理論モデルを立てた。2つのヌクレオソームは高分子電解質がグラフトされた1つのコロイド表面と、グラフトされていないコロイド表面と考え、コロイド表面間の第二ビリアル係数の大きさを塩濃度に対して計算した。ヌクレオソームを模倣した2つのコロイド表面間の第二ビリアル係数の大きさは塩濃度の増加に対して非単調に変化した。第二ビリアル係数の大きさが塩濃度の増加に対して非単調に変化するのは、コロイド表面間の静電反発相互作用の大きさと、コロイド表面と高分子電解質間の静電引力相互作用の大きさによることがわかった。

第 4 章

シミュレーション

4.1 序言

第 3 章では、ヌクレオソームを単純化したモデルを立て、ヌクレオソーム間の相互作用の大きさを理論的に計算した。結果、ヌクレオソーム模倣系の第二ビリアル係数の値は塩濃度に対して、非単調に変化した。この結果は Mangenot らによる実験 [14] の結果と定性的に一致した。しかし、理論モデルを立てる上で、コロイド粒子の曲率を考慮しないなどの近似を使用した。本章では、第 3 章の理論の近似の妥当性を確認するために、シミュレーション計算を行った。第 3 章と同様、塩濃度に対する第二ビリアル係数の値を求めた。シミュレーション方法には Monte Carlo 法を用いた。

4.2 Monte Carlo 法について

本研究の手法として用いた Monte Carlo 法 (MC 法) について説明する。MC 法では乱数と確率論を使用して、状態遷移を数値的に実現していく方法である。確率論を基にしているので、1 つのサンプルを議論するのでは不十分で、多くのサンプルの平均を求めることが必要になる。最も基本的な MC 法のアルゴリズムを以下に示す [27]。

試行

計算機上で乱数を振る。

条件判断を行い、条件が満たされた場合にはルールに従って作業を繰り返す。

試行を繰り返す。

本研究ではカノニカルアンサンブルを使用した。カノニカル分布を表すために Metropolis 法 [28] を使用した。Metropolis 法の手順を以下に示す。ここでは例として図 4.1 のようにばねとビーズで繋がった 1 つの高分子を考える。

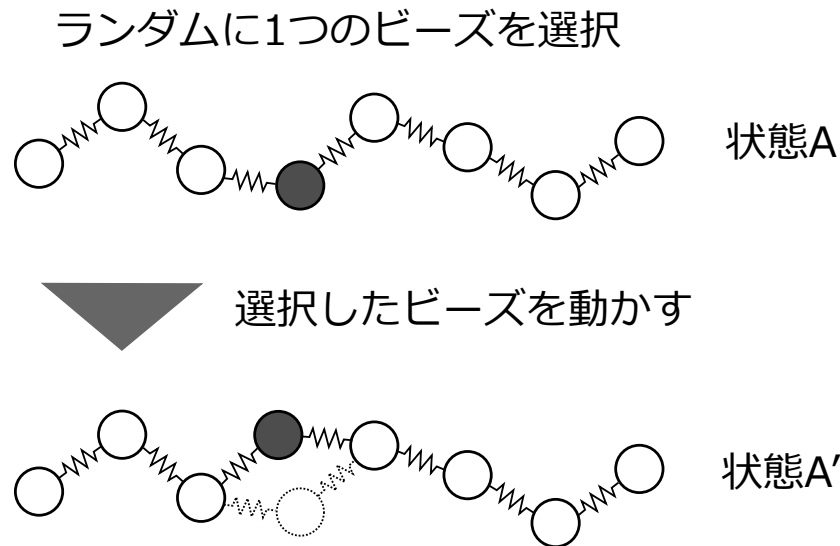


図 4.1 Monte Carlo 法の説明図。上図が状態 A であったとする。ランダムに 1 つのビーズを選び、ランダムに変位させたときの状態を A' とする。

1. 系を構成する粒子のうち 1 つの粒子をランダムに選択する (図 4.1 の上図)。
2. 選択した粒子をランダムに変位し、状態 A' とする。(図 4.1 の下図)
3. ポテンシャルエネルギー $U(A)$ と $U(A')$ を計算する。
4. $\Delta U = U(A') - U(A) \leq 0$ のとき、状態 A' を採用する。
5. $\Delta U = U(A') - U(A) > 0$ のとき乱数 $[0,1]$ を生成して以下の操作を行う。
 - (a) $e^{-\beta\Delta U} \leq$ 乱数 $[0,1]$ のとき、状態 A' を採用する。
 - (b) $e^{-\beta\Delta U} >$ 乱数 $[0,1]$ のとき、状態 A を採用する。
6. 1～5 を繰り返す。

今回、上記 2 において選択した粒子の変位の大きさは状態 A' が採用される確率が 40～60 % になるように設定した。Monte Carlo 法で計算を行う上で、使用する乱数には Mersenne twister を使用した [29, 30]。

4.3 モデル

3.2 節と同様に、ヌクレオソームコアを負電荷をもつコロイド粒子、ヒストンテールを正電荷を持つ高分子電解質と置き換えた。

4.3.1 コロイドと高分子電解質の表し方

ヌクレオソーム間の相互作用の大きさを考えるために、図 4.2 のようなモデルを考えた。ヒストンテールはヌクレオソームコア上に低密度で存在するので、ひとつの高分子電解質にのみ着目した。ヌクレオソームコアを模倣したコロイド粒子は中心に 236 個の負電荷を持つ一様な球とした。コロイド粒子の直径はヌクレオソームコアの大きさと近い値になるように 10nm とした [24]。ヒストンテールを模倣した高分子電解質は各々が 1 つの正電荷を持つビーズ 10 個から成るとした。ビーズの直径は 0.5nm とし、ビーズ同士は線形ばねで繋がっていると仮定した。図 4.2 の左のコロイド粒子の中心を原点、コロイド粒子表

面に付着している高分子電解質のビーズの x 座標がコロイドの半径と高分子電解質のビーズの半径の和になるように設定した。コロイド表面間の距離を a とした。この系のポテンシャルエネルギー $U(a)$ を表面間距離 a の関数として求めた。

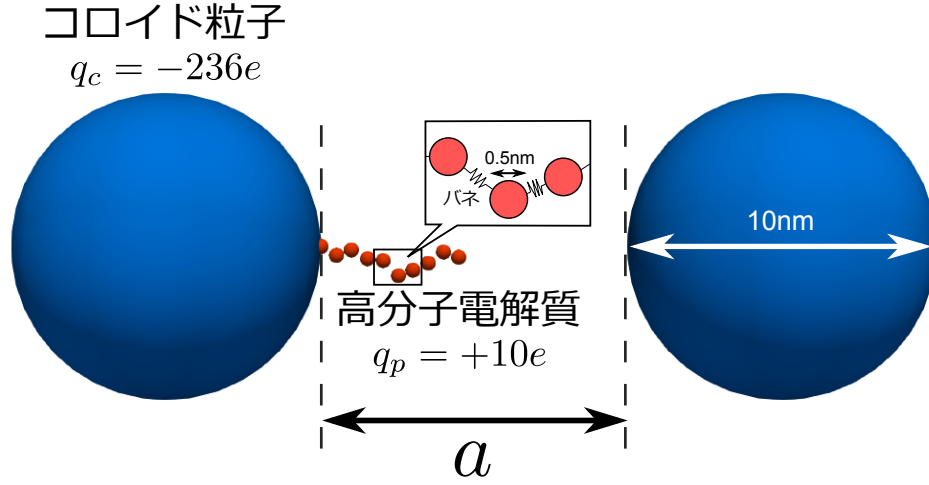


図 4.2 コロイドと高分子電解質

4.3.2 ポテンシャルと第二ビリアル係数の計算

図 4.2 の系のポテンシャルエネルギー U_{all} は、静電エネルギー U_{electric} 、排除体積エネルギー U_{exclude} 、高分子電解質の弾性エネルギー U_{elastic} を考慮して求めた。

$$U_{\text{all}} = U_{\text{electric}} + U_{\text{exclude}} + U_{\text{elastic}} \quad (4.1)$$

以下にそれぞれのエネルギー項で用いた式を示した。

- 静電エネルギー U_{electric}

静電エネルギー U_{electric} として Debye Huckel ポテンシャルを用いた。塩によって遮蔽されたの電荷の静電相互作用の大きさは Debye Huckel ポテンシャルを用いて計算できる [26]。

$$U_{\text{electric}} = \sum_{i,j>i} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon r_{ij}} \exp(-\kappa r_{ij}) \quad \kappa^2 = \frac{2n_s q_i q_j}{\epsilon k_B T} \quad (4.2)$$

ここで、 q_i は粒子 i の電荷、 ϵ は溶媒の誘電率、 r_{ij} は粒子 i と j の中心間距離、 κ^{-1} はデバイ長である。

- 排除体積エネルギー U_{exclude}

コロイド粒子に高分子電解質のビーズが貫通しないように、レナードジョーンズポテンシャルの反発項のみ考慮した。

$$U_{\text{exclude}} = \begin{cases} \sum_{i,j>i} 4\epsilon_{lj} \left(\frac{\sigma_{cp}}{r_{ij}} \right)^{12} & (r_{ij} < \sigma_{cp}) \\ 0 & (r_{cp} \geq \sigma_{cp}) \end{cases} \quad (4.3)$$

ここで、 ϵ_{lj} はレナードジョーンズポテンシャルパラメータ、 σ_{cp} の値はコロイド粒子と高分子電解質のビーズの半径の和、 r_{ij} は高分子電解質のビーズの中心とコロイド粒子の中心の距離である。

● 高分子電解質の弾性エネルギー U_{elastic}

高分子の弾性エネルギーは2つの項から成るとした。
(4.4) 式の第1項が高分子電解質の伸びの弾性、第2項が
曲げの弾性を表す。

$$U_{\text{elastic}} = \sum_i k_s (l_i - l_0)^2 + \sum_i k_\theta (\theta_i - \pi)^2 \quad (4.4)$$

高分子電解質のセグメントの自然長は $l_0 = 0.70 \text{ nm}$ とした。

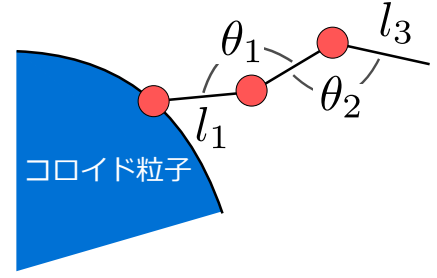


図 4.3 高分子のセグメント長とセグメント間の角度

Monte Carlo 法によって各コロイド表面間距離 a に対する平衡状態でのポテンシャルエネルギー $\tilde{U}_{\text{all}}(a)$ を計算した後、第二ビリアル係数 A_2 の値は、式 (1.2) から、

$$A_2 = \int_0^\infty \left(1 - e^{-\frac{\tilde{U}_{\text{all}}(a)}{k_B T}} \right) da \quad (4.5)$$

として求めた。ここでは簡単のため、 a 方向成分のみで計算する。 $\tilde{U}_{\text{all}}(a)$ は 1000 回の計算のアンサンブル平均の値である。尚、計算に使用するパラメータと値は表 4.1 にまとめた。これらのパラメータは 3.3 節と同様に決めた。ただし、高分子電解質のビーズの大きさは 0.5 nm とした。

表 4.1 シミュレーションで使用するパラメータと値

パラメータ	値
コロイド粒子の直径 [nm]	10
コロイド粒子の負電荷数 q_c	236
高分子電解質のビーズの直径 [nm]	0.5
高分子電解質のビーズ数	10
高分子電解質のセグメント長さ l_0 [nm]	0.70
高分子電解質の正電荷数 q_p	10
高分子電解質のばね定数 k_s [N/m]	6.95×10^{-2}
水の誘電率 ϵ [F/m]	$80 \times 8.854 \times 10^{-12}$
ボルツマン定数 k_B [J/K]	1.38×10^{-23}
温度 T [K]	298

4.4 結果

まず、(4.4) 式の第二項で表される高分子の硬さの効果なし ($k_\theta = 0$) で計算を行った。図 4.4 に塩濃度 n_s に対する、第二ビリアル係数の値を示した。低塩濃度領域では、塩濃度 n_s の増加に対して、第二ビリアル係数の値は小さくなった。塩濃度がある臨界塩濃度 n_s^* を超えると、塩濃度 n_s の増加に対して第二ビリアル係数の値は大きくなった。

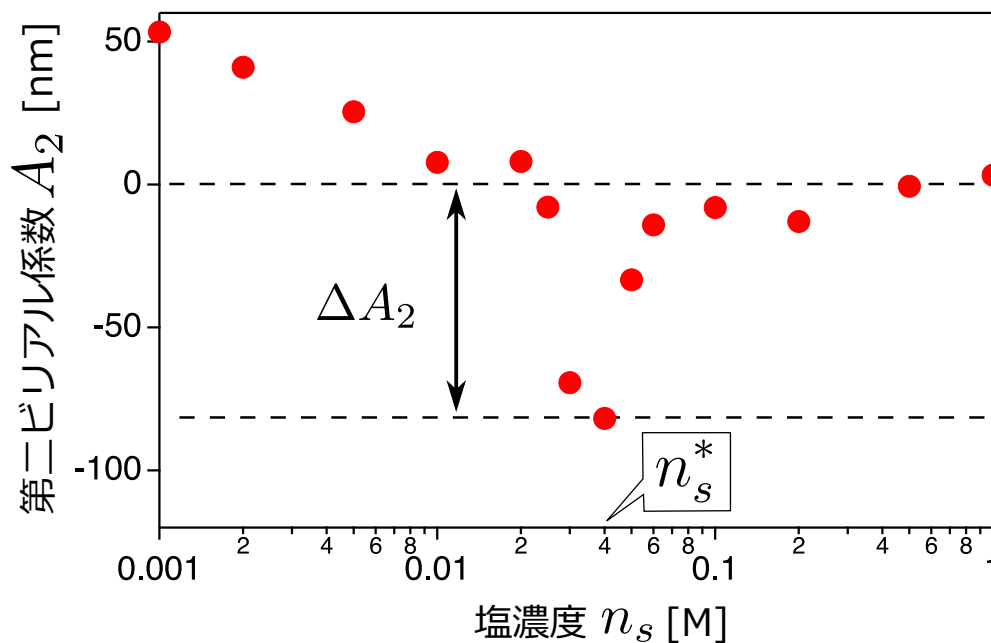


図 4.4 塩濃度に対する第二ビリアル係数の値。第二ビリアル係数の値が最小になる塩濃度を n_s^* 、第二ビリアル係数が最小となる時の第二ビリアル係数の絶対値を ΔA_2 とした。

塩濃度 $n_s = 1.0 \times 10^{-2} \text{M}$ 、 $n_s = 4.0 \times 10^{-2} \text{M}$ 、 $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{M}$ の時、それぞれコロイド表面間距離 a に対してエネルギー $\tilde{U}_{\text{all}}$ の値を計算した。結果を図 4.5 に示した。

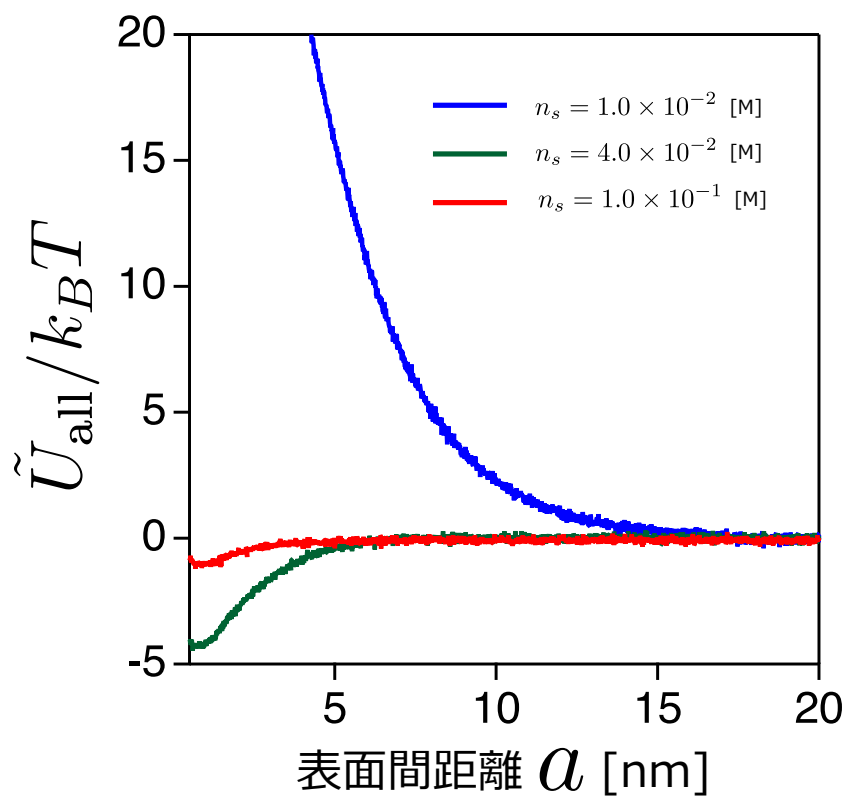


図 4.5 コロイド表面間距離 a に対するエネルギーの値。青が $n_s = 1.0 \times 10^{-2} \text{M}$ 、緑が $n_s = 4.0 \times 10^{-2} \text{M}$ 、赤が $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{M}$ の時のエネルギーの値。

また、塩濃度 $n_s = 1.0 \times 10^{-2} \text{M}$ 、 $n_s = 4.0 \times 10^{-2} \text{M}$ 、 $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{M}$ の時、コロイド表面間距離 a に対して平衡状態でのコロイド粒子間の静電反発エネルギーと高分子とコロイド粒子の間の静電引力エネルギーの値を計算した。ここで計算した高分子電解質とコロイド粒子の間の静電引力エネルギーとは、高分子電解質と、高分子電解質がグラフトされていないコロイド粒子の間のエネルギーのことである。結果を図 4.6 に示した。

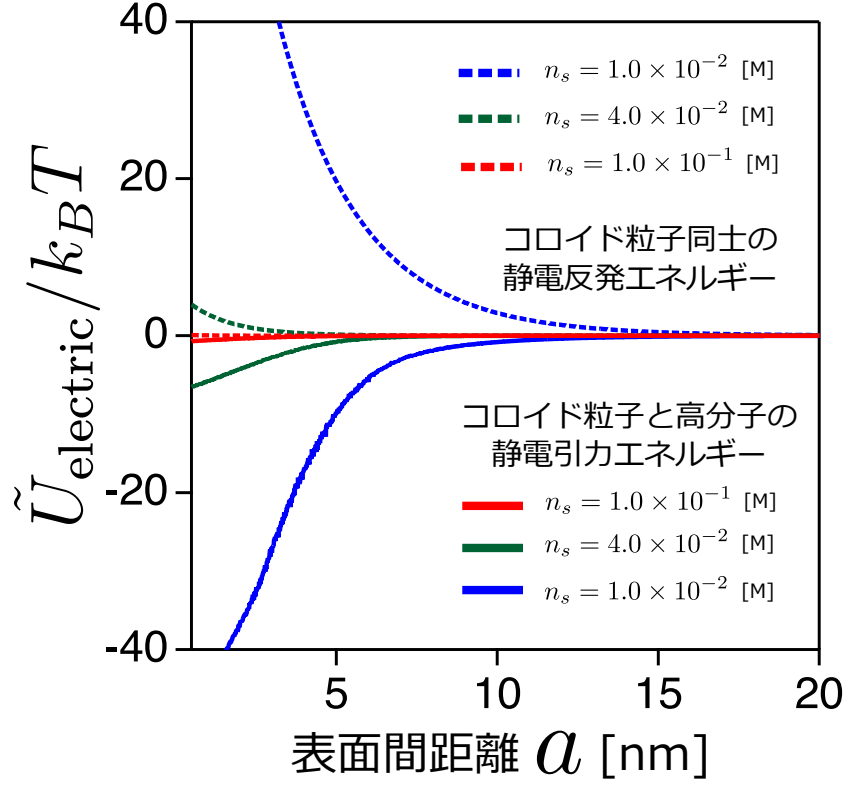


図 4.6 表面間距離 a に対する静電エネルギーの値。青が $n_s = 1.0 \times 10^{-2} \text{M}$ 、緑が $n_s = 4.0 \times 10^{-2} \text{M}$ 、赤が $n_s = 1.0 \times 10^{-1} \text{M}$ の時のエネルギーの値。また、点線がコロイド粒子間の静電反発エネルギー、実線が高分子電解質と、高分子電解質がグラフトされていないコロイド粒子の間の静電引力エネルギーの値である。

4.4.1 高分子電解質の硬さの影響

(4.4) 式の第 2 項の高分子電解質の曲げの弾性について、ばね定数 k_θ の値を変えて計算を行った。 k_θ の値が大きいほど高分子電解質は曲がりにくく、硬い高分子と考える。第 3 章の理論では、高分子電解質の曲げの弾性を考慮していないので、高分子電解質の曲げの弾性の効果が第二ビリアル係数の値にどのように影響するのか調べた。結果を図 4.7 に示した。図 4.4 の結果と同様、第二ビリアル係数は塩濃度の増加に対して、非単調に変化した。 k_θ に対する n_s^* と ΔA_2 の値が図 4.7 である。 k_θ の値を変えても n_s^* の値はほとんど変化しなかった。 k_θ が大きくなるにしたがって ΔA_2 の値は大きくなった。

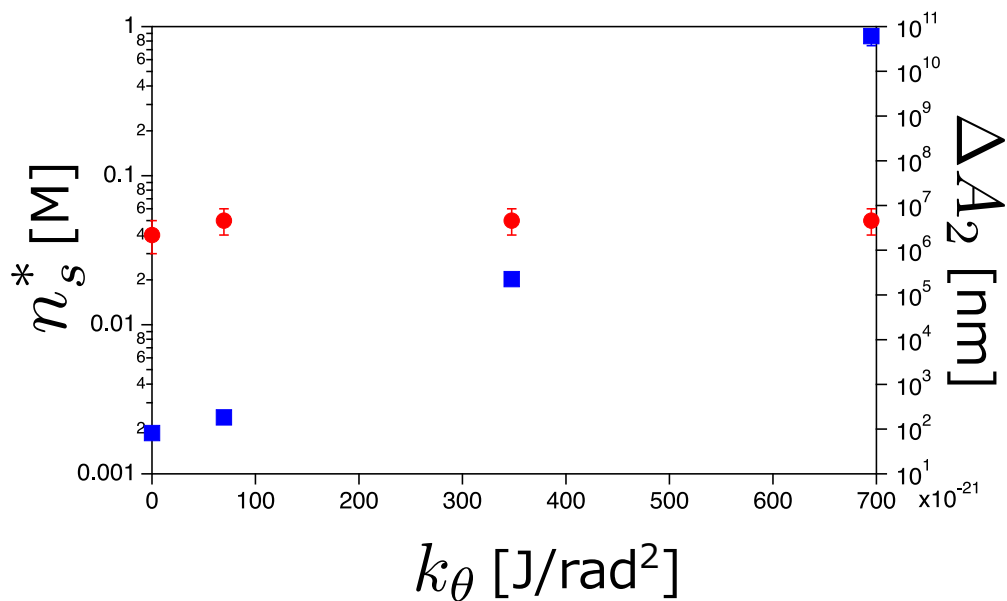


図 4.7 k_θ に対する n_s^* と ΔA_2 の値。赤のシンボルが n_s^* 、青のシンボルが ΔA_2 の値を表す。

4.5 考察

4.5.1 理論とシミュレーションの結果の比較

第3章理論の結果と、本章でのシミュレーションの結果の比較を図4.8に示した。第二ビリアル係数の塩濃度への増加に対する非単調性は、いずれの結果からも見られた。しかし、第二ビリアル係数が最小になる塩濃度 n_s^* や ΔA_2 の値は異なった。この違いは理論とシミュレーションで立てたモデルの違いに依るものと考えられる。

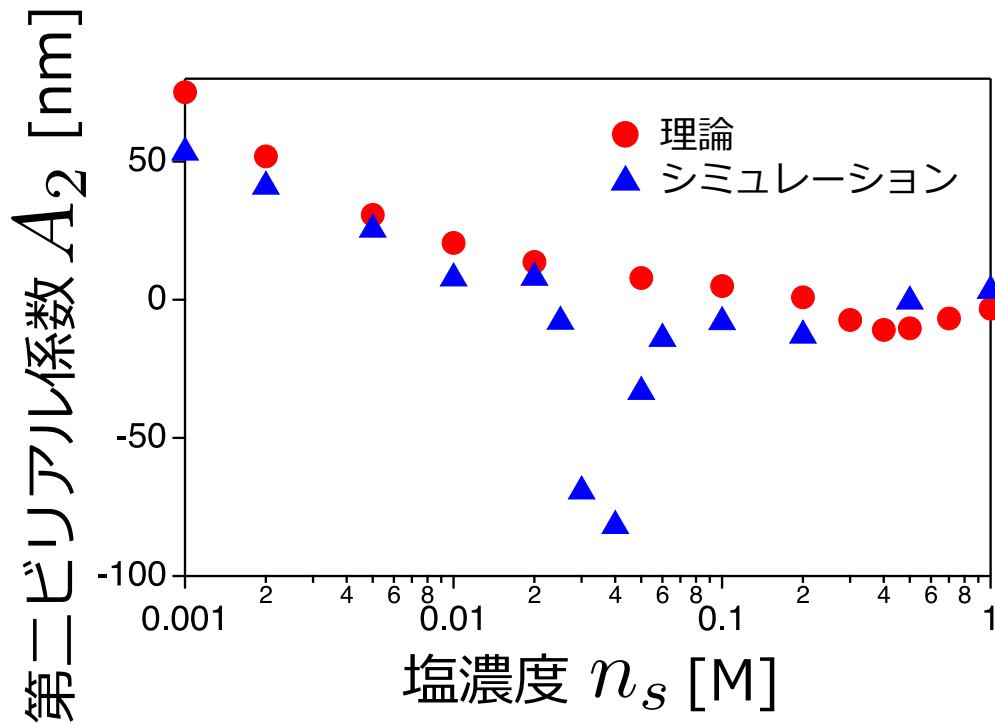


図 4.8 理論とシミュレーションの結果の比較。赤のシンボルが理論の結果、青のシンボルがシミュレーションの結果を表す。

以下に理論とシミュレーションで立てたモデルの違いを挙げた。また、立てたモデルの違いが n_s^* や ΔA_2 の値にどのように影響するのか考察した。

- コロイド粒子表面の曲率の違い

理論モデルではコロイド粒子表面は平面と仮定したが、シミュレーションのモデルではコロイド粒子表面は曲率を持つ。このコロイド粒子表面の曲率の違いによって、コロイド粒子間の静電反発相互作用の大きさも変わってしまう。そこで、曲率の効果を含めてコロイド粒子間の静電相互作用の補正を行った。

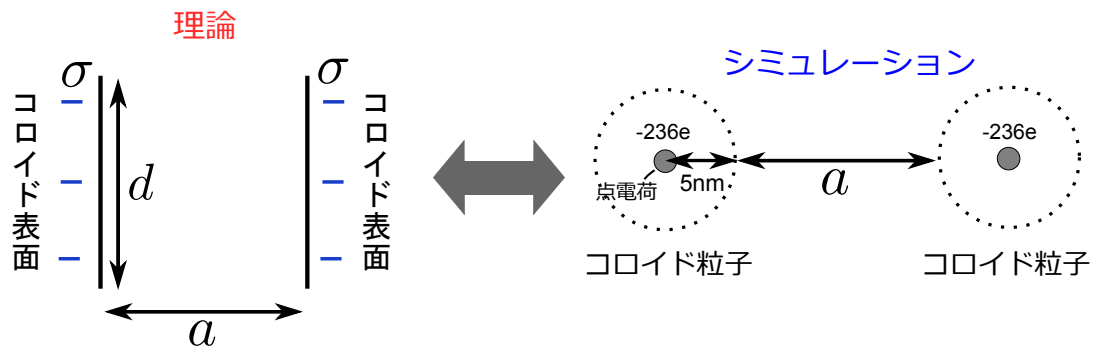


図 4.9 理論とシミュレーションのモデル曲率の違いを表した模式図

第3章の理論モデルで、1つの表面がもう1つの表面から受ける静電反発力 F_{theory} は、

$$F_{\text{theory}} = \frac{q^2 \sigma^2 d^2}{2\epsilon} \quad (4.6)$$

シミュレーションのモデルで、1つコロイド粒子がもう1つのコロイド粒子から受ける静電反発力 $F_{\text{simulation}}$ は、

$$F_{\text{simulation}} = \frac{1}{4\pi\epsilon} \frac{236^2 q^2}{(a+10)^2} \quad (4.7)$$

F_{theory} と $F_{\text{simulation}}$ が等しくなるようにすると、

$$d = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{236}{\sigma(a+10)} \text{ [nm]} \quad (4.8)$$

となる。この d を用いて第3章の理論の計算を行い、シミュレーションの結果と比較した。結果を図に示した。曲率に効果を含めてコロイド粒子間の静電相互作用の補正を行うと、第二ビリアル係数が最小になる塩濃度 n_s^* が低塩濃度側にシフトした。

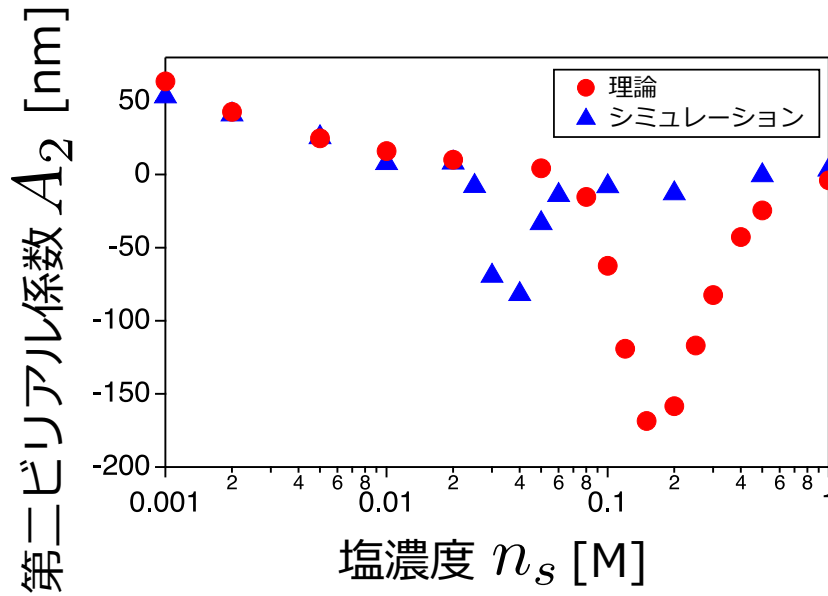


図 4.10 曲率の効果を含めてコロイド粒子間の静電相互作用の補正を行った後の理論の結果とシミュレーションの結果の比較。赤のシンボルが理論の結果、青のシンボルがシミュレーションの結果を表す。

- コロイド粒子と高分子電解質間の静電相互作用の違い

理論モデルでは、図 4.11 の左のように高分子電解質とコロイド表面の電荷は赤い領域のみで相互作用するとして計算を行った。しかし、シミュレーションのモデルでは高分子電解質とコロイド表面の電荷はどこでも相互作用することができる。高分子電解質とコロイド表面との静電引力相互作用の大きさは理論の方がシミュレーションより小さくなっていると考えられる。実際、図 3.13 の結果から、高分子電解質とコロイド粒子間の静電相互作用引力相互作用を大きくすると n_s^* が低い塩濃度側にシフトするので、この自由度の違いによって理論とシミュレーションの n_s^* の値に違いが現れているのではないかと考えられる。

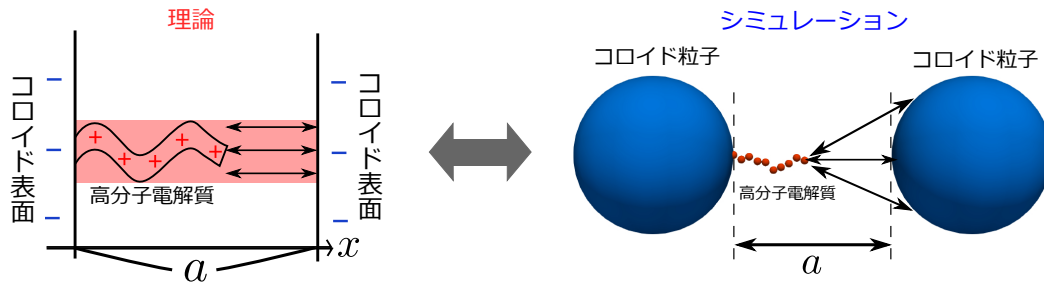


図 4.11 理論とシミュレーションのモデルの自由度の違いを表した模式図。

- 高分子電解質の形態の違い

理論モデルでは高分子電解質はコロイド粒子表面に垂直な方向にのみ伸び縮みするが、シミュレーションのモデルでは、全方向に形態をとることが可能である。高分子電解質の形態の違いが n_s^* や ΔA_2 に影響するのか調べるために、図 4.12 のように、高分子電解質の代わりに高分子電解質と同量の電荷を持つ点電荷をコロイド粒子表面上に設置してシミュレーションを行った。点電荷は大きさを持たないとした。結果を図 4.13 に示した。高分子電解質を点電荷に置き換えても第二ビリアル係数の値は塩濃度の増加に対して非単調に変化した。また、 n_s^* の値は図 4.4 の結果と同じ値であった。よって、高分子電解質の形態の違いは理論とシミュレーションの結果の違いに影響しないと考えられる。



図 4.12 高分子電解質を同じ総電荷量を持つ点電荷に置き換えたモデル。点電荷は大きさを持たないとした。

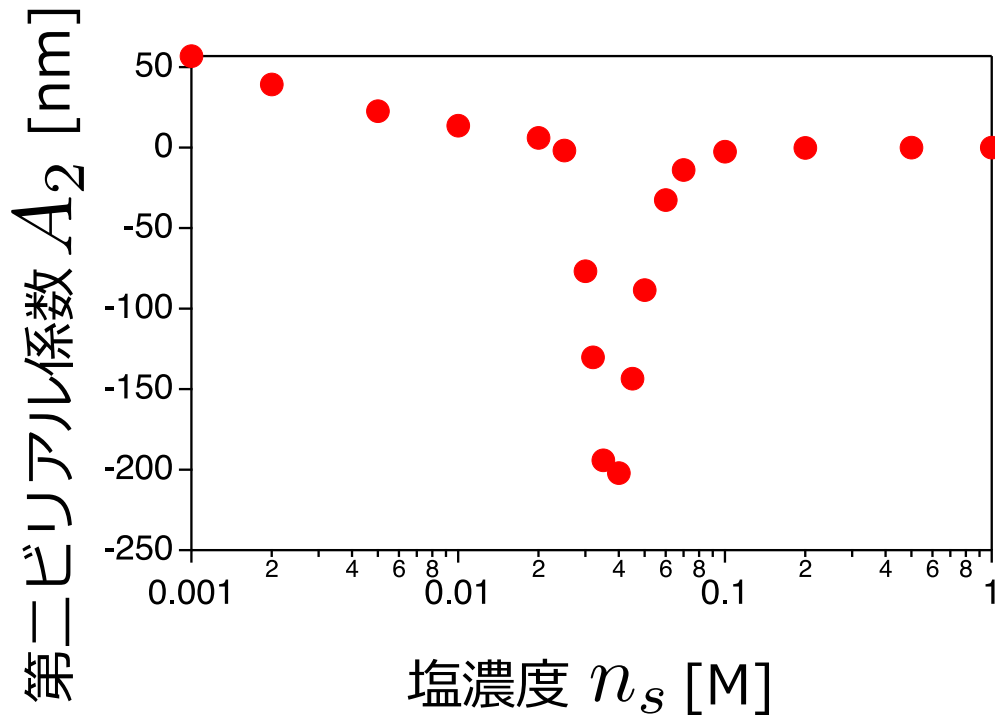


図 4.13 高分子電解質を点電荷に置き換えたときの塩濃度 n_s に対する第二ビリアル係数の値。

以上3つの観点から、理論とシミュレーションの結果の違いを考察したが、理論とシミュレーションで第二ビリアル係数が最小になる塩濃度 n_s^* の値が大きく異なったのは、コロイド粒子表面の曲率の違いと自由度の違いによるものではないかと考えられる。

4.5.2 高分子電解質の硬さの影響

図 4.7 で高分子電解質の曲げの弾性の大きさを表す k_θ の値を大きくなると ΔA_2 の値も大きくなった理由について考察する。 $k_\theta = 0$, $k_\theta = 6.95 \times 10^{-2}$, $k_\theta = 6.95 \times 10^{-1}$ [N/m] のとき、表面間距離 a に対して高分子電解質の広がり L の大きさを計算した。高分子電解質の広がり L は図 4.14 のように、高分子電解質を構成する末端のビーズのコロイド粒子表面からの a 方向の距離とした。結果を図 4.15 に示した。 k_θ の値が大きいほど、表面間距離 a の値に依らず高分子電解質の広がり L の値が大きかった。これは、高分子電解質が硬いほど、高分子電解質がグラフトしているコロイド表面から外側に伸びることを表す。高分子がグラフトしているコロイド表面から外側に伸びるほど、もう一つのコロイド粒子との静電引力相互作用が大きくなるので、 ΔA_2 の値も大きくなったのではないかと考えられる。

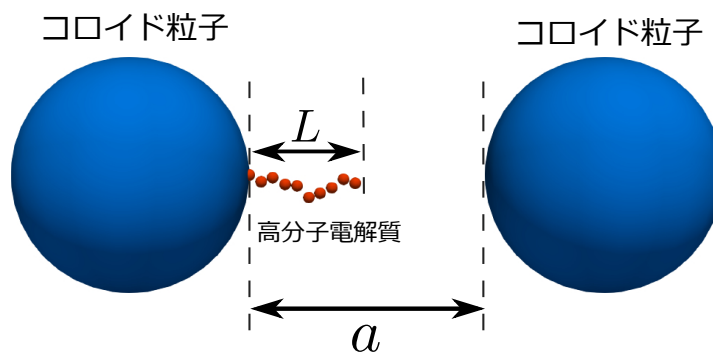
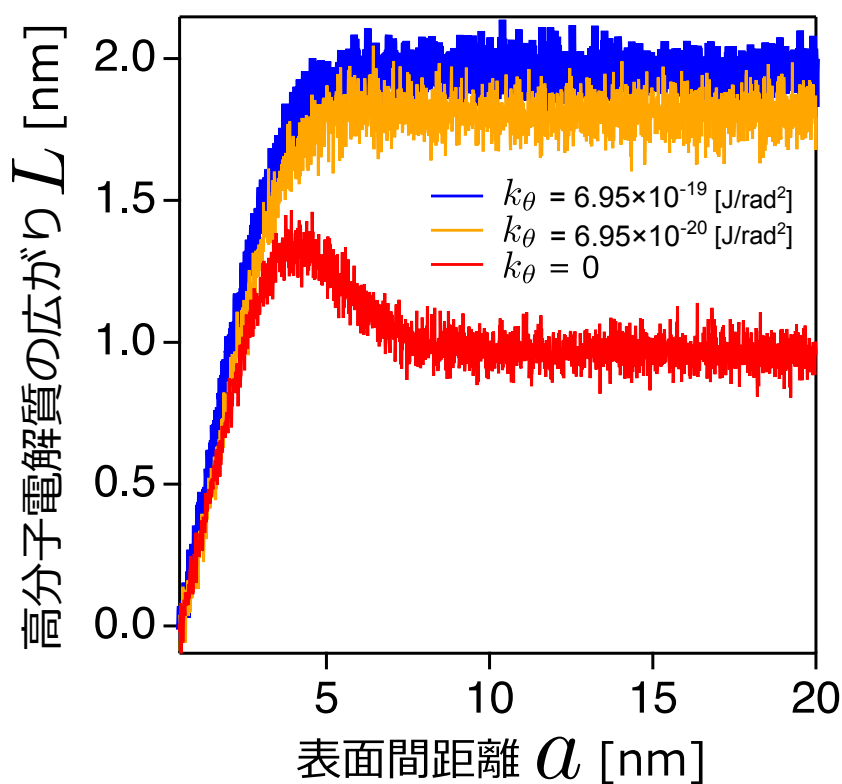


図 4.14 コロイド表面間距離と高分子電解質の広がり関係。

図 4.15 コロイド表面間距離 a と高分子電解質の長さ L の関係。それぞれ $n_s = n_s^*$ となる塩濃度の場合の結果を示した。

4.5.3 シミュレーションと実験の結果の比較

第二章実験の結果で、ヌクレオソームの相互作用の大きさが塩濃度に増加に対して、非単調に変化することが示唆された。しかし、ヌクレオソームの引力相互作用が最も大きくなった塩濃度は $n_s = 2.0 \times 10^{-5} \text{M}$ で図 4.4 の n_s^* の値と比べると極めて低い。実験系での 1 つのヌクレオソームコアあたりの負電荷数を計算すると約 5.8 個であり、実際のヌクレオソームコアの負電荷数 236 個と比べると小さい。ヌクレオソームコアの負電荷数が小さいとヌクレオソームコア、つまりコロイド粒子間の静電反発相互作用の大きさが

小さくなる。図 3.10 の結果から、コロイド粒子間の静電反発相互作用の大きさが小さいと n_s^* の値は小さくなる。よって実験系では、ヌクレオソームコア間の静電反発相互作用の大きさが小さいため、 n_s^* の値も小さいのではないかと考えられる。

4.5.4 シミュレーションと先行研究の結果の比較

図 4.4 の結果において、第二ビリアル係数の値が最小となる塩濃度 n_s^* は、先行研究 [14] の n_s^* の値と比べると低い値をとった。この違いは、シミュレーションでは 1 本のヒストンテールにのみ着目して計算を行ったことにあると考えられる。実際のヌクレオソームではヒストンテールは 8 本存在する。2 つのヌクレオソームの相互作用には、ヒストンテール同士の反発力も働くはずである。シミュレーションでは、ヒストンテール同士の反発を考慮しておらず、これが n_s^* の値の違いの原因であると考えられる。

4.6 結論

本章では、2 つのヌクレオソーム模倣系の相互作用の大きさを MC シミュレーションを用いて計算した。第 3 章の理論の結果と同様に、ヌクレオソーム模倣系の第二ビリアル係数の大きさは塩濃度の増加に対して非単調に変化した。第二ビリアル係数の大きさが最小になる塩濃度 n_s^* は理論の結果より低い値になった。また、第二ビリアル係数の最小値 ΔA_2 の大きさは理論よりも大きい値になった。この違いは、コロイド粒子の曲率の違いと、モデルの自由度の違いによるものと考えられる。

第 5 章

結言

本研究では、塩濃度がヌクレオソーム間の相互作用に与える影響を実験、理論、シミュレーションを用いて解析した。

第 2 章の実験では、ヌクレオソームを形成する DNA とヒストンの複合体を形成し、複合体の大きさが塩濃度によってどのように変化するか調べた。結果、複合体の大きさは塩濃度の増加に対し、非単調に変化した。よって先行研究の結果と同様に、DNA とヒストンの複合体の相互作用の大きさは塩濃度の増加に対し、非単調に変化することが示唆された。

第 3 章では、第一に 1 つのヌクレオソームにグラフトされた高分子電解質の広がり大きさが塩濃度によってどのように変化するか調べた。結果、高分子電解質が非一様なとき、シミュレーションの結果と同様塩濃度の増加に対し、高分子電解質が伸びていくことがわかった。第二に 2 つのヌクレオソームの第二ビリアル係数を求めるために、1 つの高分子電解質がグラフトされた表面と、グラフトされていない表面を考えた。シミュレーションの結果と同様、2 つの表面間の第二ビリアル係数の大きさは塩濃度の増加に対し、非単調に変化した。この結果はシミュレーションの結果と先行研究の結果と定性的に一致した。また、塩濃度の増加に対し、第二ビリアル係数の大きさが非単調に変化するのは、コロイド表面間の静電反発相互作用の大きさと、コロイド表面と高分子間の静電引力相互作用の大きさが重要であることが示唆された。

第 4 章では、理論の近似の妥当性をシミュレーションを用いて検証した。理論では扱いが困難な粒子の曲率の効果を調べ、ポリマーの形態をより詳細に扱った。結果、第二ビリアル係数の大きさは塩濃度の増加に対し、非単調に変化した。しかし、第二ビリアル係数が最小になる塩濃度 n_s^* の値は理論とは異なった。コロイド粒子の曲率とコロイド粒子と高分子電解質間の静電相互作用の違いによって、理論とシミュレーションの n_s^* の値の違いが生まれたのではないかと考えられる。

以上から、ヌクレオソーム間の相互作用の大きさが塩濃度の増加に対して非単調に変化することが実験的に示唆された。また、ヌクレオソーム間の相互作用の大きさが塩濃度の増加に対して非単調に変化するのは、ヌクレオソームコア間の静電反発エネルギーの大きさと、ヒストンテールとヌクレオソームコアの間の静電引力エネルギーの大きさが重要であることがわかった。

付録

ここでは補足用のデータを示す。

第 4 章

コロイド粒子にグラフトされた高分子電解質の長さの塩濃度依存性

第 4 章のシミュレーション計算にて、1 つの高分子電解質がグラフトされたコロイド粒子に着目したとき、塩濃度に対して、高分子電解質の広がり L (図 4.14 参照) がどのように変化するのかということに着目した。 $k_s = 6.95 \times 10^{-2}$, $k_\theta = 0$ [N/m] とした。結果を図 5.1 に示した。高分子電解質の広がり L は塩濃度が高くなるにつれ、長くなった。 L が負の値のときは、高分子電解質がグラフトしているコロイド粒子表面に付着しているためである。

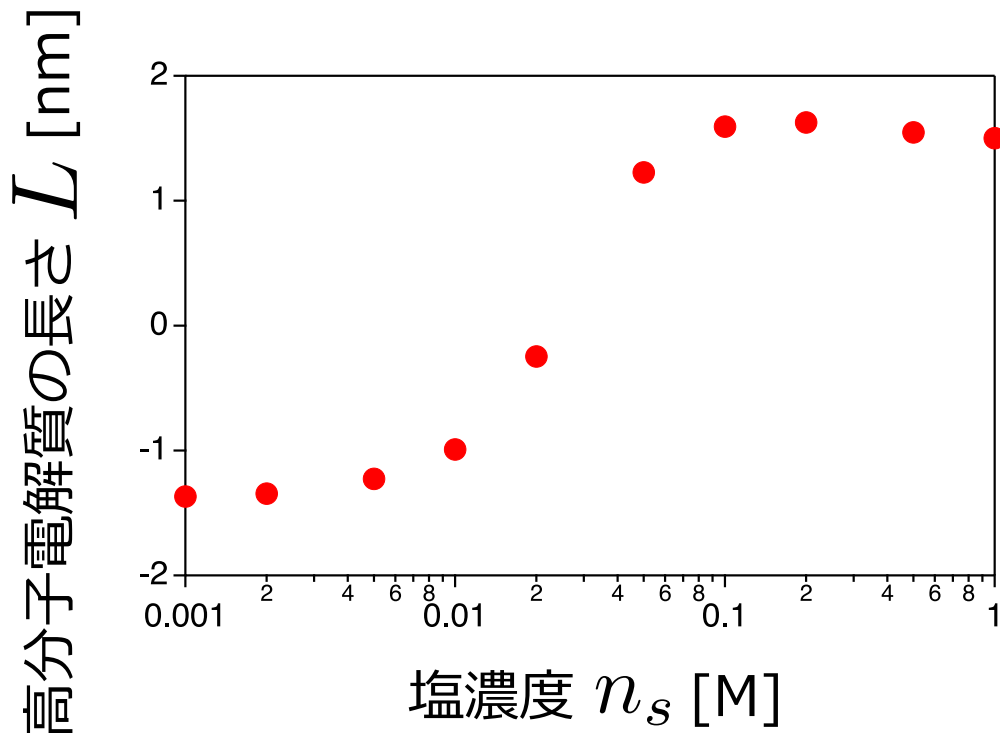


図 5.1 塩濃度 n_s と高分子電解質の長さの関係。

謝辞

本論文を作成するにあたり、お世話になった方々への感謝を申し上げます。

本研究について、一貫してご指導してくださった指導教員である増渕雄一教授に厚く御礼申し上げます。3年間研究室で大変有意義な時間を過ごすことができたのは先生のおかげだと思います。

名古屋大学 応用物理学専攻 笹井理生教授、物質科学専攻 飯田和昌准教授には、お忙しい中、本論文の副査として時間を割いていただきました。誠にありがとうございます。

また、研究を進めるにあたり、幾多の助言と示唆をいただいた畝山多加志准教授、山本哲也助教に感謝いたします。先生方との議論は私の研究活動の中でも最も有益な時間であったと思います。

研究室の同期である久世雅大様をはじめとする増渕研究室の皆様にも研究活動を通して大変お世話になりました。皆様には研究に行き詰まったときに何度も助けていただいたと思います。

最後に、私の大学院生活を支えてくださった家族、友人に感謝いたします。本当にありがとうございました。

参考文献

- [1] R. D. Kornberg. Chromatin structure - repeating unit of histones and dna. *Science*, Vol. 184, No. 4139, pp. 868–871, 1974.
- [2] P. Oudet, M. Grossbellard, and P. Chambon. Electron-microscopic and biochemical evidence that chromatin structure is a repeating unit. *Cell*, Vol. 4, No. 4, pp. 281–300, 1975.
- [3] Sybil P. Parker. *McGraw Hill Encyclopedia of Science and Technology*. McGraw-Hill Companies, 1997.
- [4] D. サダヴァ, 石崎泰樹 丸山敬訳. カラー図解 大学生物学の教科書 第2巻 分子遺伝学. 講談社, 2014.
- [5] M. Noll and R. D. Kornberg. Action of micrococcal nuclease on chromatin and location of histone h-1. *Journal of Molecular Biology*, Vol. 109, No. 3, pp. 393–404, 1977.
- [6] S. Mangenot, E. Raspaud, C. Tribet, L. Belloni, and F. Livolant. Interactions between isolated nucleosome core particles: A tail-bridging effect? *European Physical Journal E*, Vol. 7, No. 3, pp. 221–231, 2002.
- [7] Jeffrey C Hansen, Christin Tse, and Alan P Wolffe. New Concepts in Biochemistry Structure and Function of the Core Histone N-Termini: More Than Meets the Eye †. *American Chemical Society*, Vol. 37, No. 51, 1998.
- [8] F. Crick. Central dogma of molecular biology. *Nature*, Vol. 227, No. 5258, 1970.
- [9] B Alberts, A Johnson, J Lewis, D Morgan, M Raff, K Roberts, and P Walter. *Molecular Biology of The CELL sixth edition*. Garland Science, 2014.
- [10] D. Henner, R. I. Kelley, and J. J. Furth. Transcription of fractionated calf thymus chromatin by rna-polymerase of calf thymus and escherichia-coli. *Biochemistry*, Vol. 14, No. 21, pp. 4764–4771, 1975.
- [11] Chunyang Zheng and Jeffrey J. Hayes. Structures and interactions of the core histone tail domains. *Biopolymers*, Vol. 68, No. 4, pp. 539–546, 2003.
- [12] H Takata, T Hanafusa, T Mori, M Shimura, and Y Iida. Chromatin Compaction Protects Genomic DNA from Radiation Damage. *PLoS ONE*, Vol. 8, No. 10, p. 75622, 2013.
- [13] L. D. Landau and E. M. Lifshitz. *Statistical Physics 3rd Edition Part1*. Butterworth-Heinemann, 1980.
- [14] S. Mangenot, E. Raspaud, C. Tribet, L. Belloni, and F. Livolant. Interactions between isolated nucleosome core particles: A tail-bridging effect? *European Physical Journal E*, Vol. 7, No. 3, pp. 221–231, 2002.
- [15] M. Matsumoto, T. Sakaguchi, H. Kimura, M. Doi, K. Minagawa, Y. Matsuzawa, and K. Yoshikawa. Direct observation of brownian-motion of macromolecules by fluorescence mi-

- croscope. *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics*, Vol. 30, No. 7, pp. 779–783, 1992.
- [16] Yuko Yoshikawa, Yuri S. Velichko, Yuta Ichiba, and Kenichi Yoshikawa. Self-assembled pearling structure of long duplex DNA with histone H1. *European Journal of Biochemistry*, Vol. 268, No. 9, pp. 2593–2599, 2001.
- [17] Keiji Minagawa, Yukiko Matsuzawa, Kenichi Yoshikawa, Yuichi Masubuchi¹, Mitsuhiro Matsumoto¹, Masao Doi¹, Chitoshi Nishimura², and Mizuo Maeda². Change of the higher order structure of DNA induced by the complexation with intercalating synthetic polymer, as visualized by fluorescence microscopy. Technical Report 1, 1993.
- [18] Kenichi Yoshikawa, Yukiko Matsuzawa, Keiji Minagawa, Masao Doi, and Mitsuhiro Matsumoto. Opposite Effect between Intercalator and Minor Groove Binding Drug on the Higher Order Structure of DNA as Is Visualized by Fluorescence Microscopy. Technical Report 3, 1992.
- [19] 稲沢譲治, 津田均, 小島清嗣. 顕微鏡フル活用術イラストレイテッド. 秀潤社, 2000.
- [20] R Pecora. Dynamic light scattering measurement of nanometer particles in liquids. Technical report, 2000.
- [21] 柴山充弘, 佐藤尚弘, 岩井俊昭, 木村康之. 光散乱法の基礎と応用. 講談社, 2014.
- [22] Stéphanie Mangenot, Amélie Leforestier, Patrice Vachette, Dominique Durand, and Françoise Livolant. Salt-Induced Conformation and Interaction Changes of Nucleosome Core Particles. Technical report, 2002.
- [23] E. J.W. Verwey and J. Th G. Overbeek. Theory of the stability of lyophobic colloids. *Journal of Colloid Science*, Vol. 10, No. 2, pp. 224–225, 1955.
- [24] Françoise Livolant, Stéphanie Mangenot, Amélie Leforestier, Aurélie Bertin, Marta de Frutos, Eric Raspaud, and Dominique Durand. Are liquid crystalline properties of nucleosomes involved in chromosome structure and dynamics? *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, Vol. 364, No. 1847, pp. 2615–2633, 2006.
- [25] Doi. M and Edwards S. F. *The Theory of Polymer Dynamics*. OXFORD UNIVERSITY PRESS, 1986.
- [26] P. Debye and E. Huckel. The theory of polyelectrolytes. i. lowering of freezing point and related phenomena. *E. Phys. Z.*, Vol. 24, pp. 185–206, 1923.
- [27] 山添良幸, 三上益弘, 大野かおる. コンピュータシミュレーションによる物質科学—分子動力学とモンテカルロ法. 共立出版, 1996.
- [28] Nicholas Metropolis, Arianna W Rosenbluth, Marshall N Rosenbluth, Augusta H Teller, and Edward Teller. Equation of State Calculations by Fast Computing Machines. *Citation: J. Chem. Phys.*, Vol. 21, No. 6, p. 1087, 1953.
- [29] Makoto Matsumoto. Mersenne twister: A 623-dimensionally equidistributed uniform pseudo-random number generator. *ACM Transactions on Modeling and Computer Simulation*, Vol. 8, No. 1, pp. 3–30, 1998.
- [30] Mersenne twister home page. <http://www.math.sci.hiroshima-u.ac.jp/~m-mat/MT/emt.html>.