

## Study on the Dynamics of Biopolymers in an Elongational Flow Field

(伸長流動場中の生体高分子の動力学に関する研究)

## 学位論文内容の要旨

本研究は、流れの方向に速度勾配を持つ伸長流という流れを用いて、主に溶液中の高分子の柔軟性や形態及びその変化に関する有益な情報を得る目的で始められた。これまで、伸長流動場のレオロジーはひずみ速度が  $1 \sim 3 \text{ s}^{-1}$  程度の流れが対象だった。しかし、これをはるかに越えるひずみ速度 ( $10 \sim 10^2 \text{ s}^{-1}$ ) を持つ伸長流動場に対し溶液中の高分子は、従来の熱や電磁波による励起では見られなかった応答を示す事が見いだされている。本研究は、伸長流動発生装置として G.I. テイラーが液滴の形態を観察するために考案した装置を原型としてつくられているフォー・ロール・ミルを用いた。そして、高分子の伸長流動場に対する応答を、光学計測システムと組み合わせ、溶液の流動複屈折をモニターすることによって調べた。

伸長流動場に対する応答特性は、コンパクトな糸鞠の形で存在する屈曲性高分子の場合、伸長流動場でコイル・ストレッチ転移を起こし伸びきりに近い状態にまで伸ばされる。一方、 $\alpha$ ヘリックスのような剛体状の棒状分子の場合は、流れのひずみ速度に応じた配向をする。従ってこの現象を利用すれば、伸長流動測定によるヘリックス・コイル転移の観測が可能である事が予想される。本研究は、pH 変化でヘリックス・コイル転移を起こす poly(L-glutamic acid)(PGA) の伸長流動場に対する応答を調べた。その結果、一定ひずみ速度に対する流動複屈折強度が pH の上昇に対して減少する事が確認された。この結果をヘリックス含量の pH 依存性として表したところ、ヘリックス含量の pH 変化の様子がすでに報告されている旋光度法による測定結果と一致した。これから、伸長流動法がヘリックス・コイル転移の測定手法になり得る事が確認された。

これまでの研究からヘリックス・コイル転移の構造変化の過程は、転移の中間状態にヘリックスの部分とコイルの部分が混在した半屈曲性の蝶番型分子(hinged rod)が存在すると考えられている。この様な分子を伸長流動場においた場合、屈曲性分子および剛体棒状分子とは異なった応答が表れることが予想される。しかし、PGA の測定においては転移の中間においても棒状分子と同様の応答が観察された。これは、PGA が高分子電解質であり、hinged rod 型分子の状態であってもモノマー間の電氣的反発で広がって固いコンフォメーションをとり、伸長流動場中では剛体棒状分子の様な振る舞いをしたためと考えられる。この事から、電氣的に中性である高分子の hinged rod 状態にある分子では、PGA の場合とは異なった応答が表れる可能性がある。本研究は、ポリアミノ酸の構造変化に対する伸長流動場の応答の変化について、PGA の場合と PGA の側鎖にある解離基を非解離基に置き換えた poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamate) (PBLG) の場合とを比較することで、hinged rod 型分子の溶液中での広がりについて検討した。その結果、PBLG の hinged rod 型分子の場合はひずみ速度の上昇に対して流動複屈折が、ある限界ひずみ速度から徐々に上昇し棒状分子と同様のパターンを示す事が確認された。この事は、伸長流動場において hinged rod 型分子が丸まった状態から回転楕円体状に変形している事を示すものと考えられる。従って、構造転移の中間状態として知られる hinged rod 型分子の構造は、高分子電解質の場合は静止状態で広がった状態であり、側鎖を

非解離基にすることでそれがおれたたまることが明らかになった。

半屈曲性分子としては、**hinged rod** 型分子の他に水溶液中のフェージ DNA 分子が知られている。DNA 分子に関しては、蛍光標識することにより光学顕微鏡での直接観察が可能であり、近年、高分子物理の理論の直接的な検証手段として利用されてきている。本研究では、伸長流動場に対する DNA 分子の応答を観測し、DNA 分子の広がりおよび柔軟性に対する考察を行った。さらに溶媒条件を変化させる事によって起こる事が知られているコイル・グロビュール転移を観測し、溶液中の DNA 分子の分子物性を調べた。その結果、伸長流動場中で DNA 分子は連続的に変形する特性をもち、分子の縦横比が 0.1 程度まで変化する事がわかった。さらに、DNA 分子のコイル・グロビュール転移に関しては、ヘリックス・コイル転移の測定の場合と同様に一定ひずみ速度で溶媒の組成を変えて複屈折の変化を求めた。その結果を蛍光顕微鏡測定の結果と比較すると、流動複屈折の変化は分子の広がりの変化に対応することが分かった。これから、伸長流動法がコイル・グロビュール転移の観測手段になり得る事が確かめられた。また、この転移過程における伸長流動場の応答の変化に対する考察から、グロビュール状態であると考えられた分子が伸長流動場で変形している事を示す応答が観測された。このため、コイル・グロビュール転移の過程は、1 次転移であると考えられていたものが柔軟性という点では散漫な転移である事が明らかになった。

本研究ではさらに、分子量の異なるフェージ DNA 分子の、伸長流動場に対する応答を比較することにより、DNA 分子の広がりについて検討した。伸長流動場に対して DNA 分子は、ある限界ひずみ速度から変形しはじめることがすでに確認されている。屈曲性分子の場合では、この限界ひずみ速度の逆数から分子の最長緩和時間が求められたため、DNA 分子の場合も同様にして分子の最長緩和時間を求めた。Zimm の理論に基づき、緩和時間の分子量依存性を調べたところ、DNA 分子が素抜け鎖、非素抜け鎖のどちらにも当てはまらない性質を持つ事が明らかになった。また、複屈折のひずみ速度依存性がいずれの分子量の DNA 分子でも 2 段階に分けられることが見出された。これらの結果から、水溶液中の DNA 分子は、分子全体の凝集力よりも少し凝集力の大きい内部構造を内在している可能性が提案された。仮にこれをプロップと呼べば、DNA 分子は「プロップのつながり」とみなすことができる。この場合、伸長流動場における DNA 分子の挙動は、まずプロップ単位での伸長が起こり次にプロップ内のモノマー単位での伸長が起こるものと考えられる。

以上の結果から本研究は、伸長流動法がポリアミノ酸のヘリックス・コイル転移や DNA 分子のコイル・グロビュール転移等、高分子の構造転移の測定に有効である事を示した。それぞれの構造転移の過程においては、伸長流動場に対する分子の応答から、(1)ヘリックス・コイル転移の場合、中間状態として考えられる **hinged rod** 型分子が、モノマーが解離している場合は広がっており解離していない場合は収縮した構造を持つ事、(2)DNA 分子のコイル・グロビュール転移については、一次転移であると考えられていたものが柔軟性の点では散漫な転移である事が明らかになった。また、DNA 分子の水溶液中の構造は「プロップのつながり」としての性質を持つ事も明らかにした。この様に伸長流動場を用いた研究は、溶液中の高分子の流体力学的性質や構造転移機構を明らかにするとともに、流れによる分子構造制御、更には分子操作への道を開くものであるといえる。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 引 地 邦 男  
副 査 教 授 長 田 義 仁  
副 査 教 授 山 岸 皓 彦  
副 査 助 教 授 佐々木 直 樹

学 位 論 文 題 名

## Study on the Dynamics of Biopolymers in an Elongational Flow Field

(伸長流動場中の生体高分子の動力学に関する研究)

従来、溶液中の高分子の形態や柔軟性に関する研究では、剪断流動場が用いられてきたが、剪断流動場は分子の変形とともに回転をも励起するため解析が複雑になる。これに対し、伸長流動場では分子の変形だけが効果的に起こり、更に、熱や電磁波による励起では見られなかった応答を示すことが予測されている。申請者は、伸長流動場を用いた、生体高分子の分子物性解析の手法を確立することを目的とし、高分子溶液のレオロジー的研究を行った。本論文はその結果について述べたもので、7章からなる。

第1章では、伸長流動場に対する高分子の応答に関するこれまでの理論的背景やその実証的研究を概観し、この論文の目的について述べている。第2章では、本研究で用いられた伸長流動場発生装置、高分子の流動場に対する応答を調べるための流動複屈折計測システムについて述べている。

溶液中でコンパクトな糸鞠の形で存在する屈曲性高分子の場合、伸長流動場でコイル・ストレッチ転移を起こし、伸びきりに近い状態にまで伸ばされることが知られている。一方、 $\alpha$ ヘリックスのような剛体棒状分子は、流れのひずみ速度に応じて配向する。この応答の違いを利用すれば、伸長流動測定によるヘリックス・コイル転移の観測が可能であることが予想される。第3章では、伸長流動場を用いた、ポリアミノ酸のヘリックス・コイル転移の計測を試みている。伸長流動場に対する複屈折応答から求めた、poly(L-glutamic acid)(PGA)のヘリックス含量のpH依存性は、PGAについてすでに報告されている旋光度法による測定結果と一致した。これらの実験結果から、伸長流動法がヘリックス・コイル転移の測定手法になり得ることを述べている。

転移の途上にあるポリアミノ酸分子は、ヘリックスの部分とコイ

ルの部分が混在した半屈曲性の蝶番型 (hinged rod) 構造をとっていると考えられている。このような分子を伸長流動場に置いた場合、屈曲性分子及び剛体棒状分子とは異なった応答が現れることが予想される。第4章では、hinged rod型分子の伸長流動場に対する応答と分子の柔軟性の関係を論じている。高分子電解質であるPGAと中性のpoly( $\gamma$ -benzyl L-glutamate)(PBLG)について、伸長流動場に対する応答を調べた。PBLGのhinged rod型分子では、典型的な屈曲性分子や棒状分子と異なる伸長流動複屈折が観測された。前章のPGAの結果と比較し、高分子電解質ではhinged rod型分子が、広がった固い状態であり、側鎖を非解離基にすることでそれが折れたたまたま柔らかくなると考えると、伸長流動場に対する応答が説明出来ることを述べている。

DNA分子は、蛍光標識することにより光学顕微鏡での直接観察が可能であり、近年、高分子物理の理論の直接的な検証手段として利用されてきている。DNA分子では、溶媒条件の変化でコイル・グロビュール転移が起こることが報告されている。第5章では、この構造転移の伸長流動法による観測結果を述べている。溶媒組成に対する、流動複屈折の変化は、蛍光顕微鏡によるDNA分子の広がりの変化に対応することが明らかになった。これから、伸長流動法がコイル・グロビュール転移の測定手段として有効であることを述べている。更に、転移途上のDNA分子の複屈折応答の変化から、グロビュール状態であると考えられた分子が伸長流動場で変形していることを見いだした。従来、コイル・グロビュール転移は1次転移であると報告されていたが、高分子に特有な、散漫な転移であることを結論している。

第6章では、DNA分子の溶液中での広がりについて述べている。伸長流動複屈折のひずみ速度依存性が2段階に分けられることを見いだした。水溶液中のDNA分子では、分子全体の凝集力よりも少し凝集力の大きいブロップ構造を内在している可能性が提案されており、「ブロップの鎖」と見なすことができる。これに基づけば、伸長流動場におけるDNA分子の挙動は、先ずブロップ単位での伸長が起こり次にブロップ内のモノマー単位での伸長が起こる可能性がある。このように考えると2段階の応答が説明できることを提案している。

最後の章では、前章までの結果をまとめ、伸長流動法がポリアミノ酸のヘリックス・コイル転移や、DNAのコイル・グロビュール転移等、高分子の構造転移や分子物性の測定に有効な手段として確立しつつあることを結論している。これらに基づいて、伸長流動場は、流れによる分子構造制御、さらには分子操作の可能性をも内在していることを述べている。

本論文で述べられた実験結果及び考察は、溶液中の高分子の物性解析の新たな道を示唆するものとして高く評価される。審査員一同は申請者が博士(理学)の学位を得る十分な資格があると認めた。