

荷電高分子 DNA の膜孔通過 - イオン拡散と静電現象

核融合研 田中基彦、Bar Ilan 大学 Y.Rabin

第 5 4 回高分子討論会 (山形, Sep.20-22, 2005)

【緒言】 生物の遺伝情報運ぶ DNA は単極性の荷電高分子(Polyelectrolyte)である。この DNA が電解質溶液で満たされた細胞中の分子膜 (誘電率は水の約 1/40) のナノスケール孔を通過する際、膜と DNA、イオンのあいだで強い静電相互作用が起きる[1,2]。それは、小さい誘電率をもつ膜で静電場が濃縮されるためである。この過程を分子動力学法により研究しているが、主な結果は(1) 膜孔では膜の静電斥力のためイオンは単独では存在できずイオン対を作る、(2) DNA が膜孔に存在する場合、バルク電解質中と異なり、対イオン凝縮により DNA が完全に荷電中和される、(3) DNA により膜孔を通過するイオン量が減少する、などを示した [Rabin and Tanaka, Phys.Rev.Lett. (2005)]。この現象は、アカデミックには生体膜のイオンチャンネルに類似の選択性として興味深く、応用としては電流計測による DNA 分子量の定量化に応用できる。

【方法】 古典(Newton 力学)分子動力学法を用いて研究を行う。数値シミュレーション系は直方体の箱で、その中央部を厚み $H_{\text{pore}}=5\text{nm}$ の膜でしきり、膜に半径 $R_{\text{pore}}=0.75\text{nm}$ の孔をあける。膜上方と下方のコンパートメント(細胞室) および膜孔を濃度 1M の KCl イオンと水分子を表す中性粒子で満たし、誘電率は 80 とする。ところで、膜の誘電率は小さく 2 である。DNA は Spring-beads モデルで表し、主鎖上に連なる電荷 ($-e$) をもつリン酸基と中性の糖 5 員環を、交互に連鎖した帯電モノマーおよび中性モノマーで置き換え、さらに側鎖基を付加する。この問題では、誘電率 $\epsilon(r)$ が空間的に大きく変化することが本質的であり、おおまかに静電エネルギーは $1/\epsilon(r)$ で変化する。従い、これらの電荷をもとに実空間グリッド上でポアソン方程式

$$\nabla \cdot (\epsilon \nabla \phi) = -4\pi\rho$$

を解き、静電ポテンシャルを決定する。この遠距離静電力と近接クーロン力、Lennard-Jones 力のもとで分子を運動させ、ある初期条件から時間発展を追跡して平衡解を求める。ランでは、まず DNA が存在しないときの孔内のイオン分布を調べ、次に膜孔に DNA を置きイオン分布と拡散速度を調べる。上下端の電極には 0、または $+5kT$ 、 $-5kT$ の電圧を印加する。

【結果】 Fig.1 は膜孔中における対イオン、共イオン数、正味の電気量の時間発展を、(a) DNA が存在しない空の膜孔、(b) DNA が存在する膜孔、について示す。(a)の場合、個別のイオン数の時間変動は大きいですが、変動は同期しており正味の電気量はほぼゼロである。これは、低

DNA in nanopores: Electrostatic effects for ion diffusion process

Motohiko Tanaka (Nat'l Institute for Fusion Science, Toki 509-5292, Japan), Yitzhak Rabin (Bar Ilan University, Israel); Email: mtanaka@nifs.ac.jp URL: <http://dphysique.nifs.ac.jp/>

Keywords: Nano-sized pore, membrane, DNA, ion condensation, electrostatic interactions

Abstract: We present our molecular dynamics studies of translocation of DNA through nano-size pores which emulate cellular membrane pores [PRL 94,148103, 2005]. Due to low dielectric constant of the membrane ($\epsilon=2$) compared to water ($\epsilon=80$), electrostatic energy of charges in the pore are intensified, thus cations and anions always make pairs in the pore. A single-stranded DNA, which is a negatively charged polymer, is neutralized by counterions, and takes a stretched configuration due to electrostatic effects. Coions are almost depleted from the pore. The diffusion time of coions is reduced when the DNA exists in the pore, which is consistent with the experiment at Harvard Univ. that observed reduction of the pore current when the pore is stuffed with single-stranded DNA.

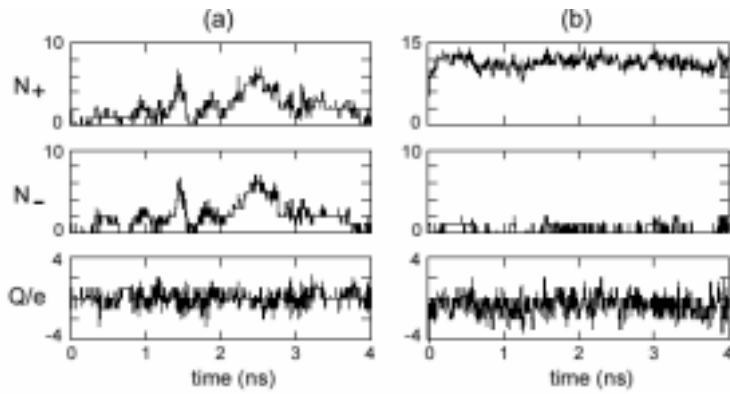


Fig.1 Time history of the number of counterions (K^+), coions (Cl^-) and the net charge in the nanopore for (a) the empty pore and (b) DNA-stuffed pore. The dielectric constant of the membrane is 2, and that of the bulk solution is 80.

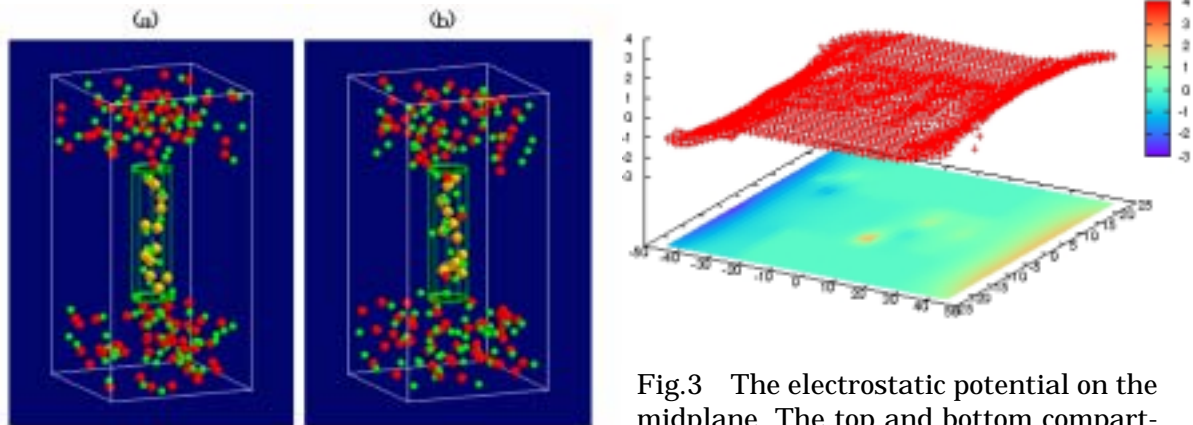


Fig.2 Snapshots of DNA (only charged phosphate group, yellow spheres, are plotted), counterions (green) and coions (red) for (a) $\epsilon_m=2$ and (b) $\epsilon_m=80$ cases.

Fig.3 The electrostatic potential on the midplane. The top and bottom compartments are on the left and right region of the figure, respectively; the pore axis runs sideways at the central region.

誘電率の膜による静電斥力により裸の電荷が膜孔から排除されるためである。一方、(b) の場合、対イオン数は DNA の電荷を打ち消す量であり、強い対イオン凝縮が起きていることがわかる。また共イオンはほぼ完全に膜孔から排除されている。

静電的な相互作用をより明らかにするため、膜の誘電率を現実のもの ($\epsilon_m=2$) および人為的に細胞液と同じ ($\epsilon_m=80$) にした場合でシミュレーションを行った。Fig.2(a)と(b)はそれぞれの場合に対応し、(a)では DNA 上への対イオン凝縮と膜孔からの共イオン排除が顕著であり、さらに静電斥力のため DNA は伸長した状態にあり、膜孔通過に都合のよい形態である。(b)では共イオンが膜孔でも存在して、DNA は孔壁に接触しランダムコイル状である。

膜孔を通過するイオン電流は、対イオンと共イオンのそれぞれについて拡散時間を測ることで得られる。上端と下端電極の電圧をゼロとして DNA が空の膜孔について拡散時間を調べると、5 nm 長の膜孔を通してのイオン拡散は数ナノ秒で起こる。これは α -hemolysin の膜孔を使った実験での測定電流 $100\text{pA} \sim 0.6 \times 10^9 \text{ e/sec}$ とつじつまがあう。次に DNA が膜孔にあると、イオン拡散は遅くなり拡散時間はさきほどの数分の 1 となる。これは対イオンが凝縮し共イオンが排除され、動けるイオン数が減ったことによる。両端電極への印加電圧を $+5\text{kT}$ 、 -5kT にした場合、電極付近で電圧降下がおきるシーラが発生し、膜孔を含むそれ以外の領域で電位はほぼ一定となる (Fig.3)。この場合のイオン電流の詳細は現在研究中である。

[1] D.K.Lubensky and D.R.Nelson, Biophys.J., 77, 1824 (1999).
 [2] E.Slonkina and A.B.Kolomeisky, J.Chem.Phys., 118, 7112 (2003).
 [3] Y.Rabin and M.Tanaka, Phys.Rev.Lett., 94, 148103 (2005).