

DNA 高次構造の一次相転移と転写反応のスイッチング

京都大学大学院 理学研究科 山田 彩子¹

1 Introduction

持続長 150bp (約 50nm, bp: 塩基対) に比べて十分長い、数 10kbp 以上の長さを持つ長鎖 DNA 分子は、多価カチオンや中性高分子をはじめとする様々な凝縮剤の濃度変化に応じて、ランダムコイル状態 から固く折り畳まれたグロビュール状態へと、その高次構造が不連続な一次相転移を示すことが明らかにされている。一方で、DNA は生物の遺伝情報の担い手でもあり、DNA 上に刻まれた遺伝子の発現制御機構を解き明かすことは、生物学においても非常に重要な課題である。現在広く受け入れられている制御機構は、種々のタンパク、DNA 配列間の鍵と鍵穴的な相互作用のネットワークが複雑に絡み合うとするものであるが、それに加えて重要な役割を果たすと考えられる、DNA の高次構造変化と遺伝子活性の相関については、未だ明らかにされていない。本研究では、DNA と、遺伝子発現の過程でそれを鋳型として転写される mRNA とを、蛍光顕微鏡を用いて単分子鎖レベルで同時観察することにより、DNA の高次構造転移が転写活性の on/off スイッチングを引き起こすことを明らかにした。

2 Experimental details

DNA の高次構造転移が転写活性に及ぼす影響を測るモデル系として、ここでは、40.8kbp (約 14 μm) 直鎖状 の Lambda ZAP II DNA を用い、DNA と、それを鋳型として T7 RNA Polymerase によって合成される RNA とを、それぞれ蛍光色素 DAPI、BODIPY 標識 UTP で可視化し、蛍光顕微鏡観察を行った。Tsumoto ら (2003) の DNA アンサンブルを用いた実験によれば、凝縮剤 spermine(4 価の陽イオン) を加えることにより、十分長い DNA では、高次構造転移を起こす濃度範囲で転写活性が急激に抑制される (図 1 左) [1]。本実験ではこの結果を踏まえ、異なる spermine 濃度 (図 1 中 (a)、(b)) において、37 °C で 30 分間転写反応を行った後、蛍光顕微鏡下で、DNA 単分子鎖の高次構造と、RNA を同時に観察した (図 1 右)。DNA の高次構造の違いを明確にするため、DNA 分子をガラス基板上に引き伸ばして観察し、それぞれの転写活性を評価した。

3 Results

[spermine(4+)] 200 μM の条件下では、DNA 分子はランダムコイル状態をとっており、ガラス基板上に引き伸ばすと直線状になる。このとき、分子鎖上には合成された RNA が観察された (図

¹E-mail: yamada@chem.scphys.kyoto-u.ac.jp

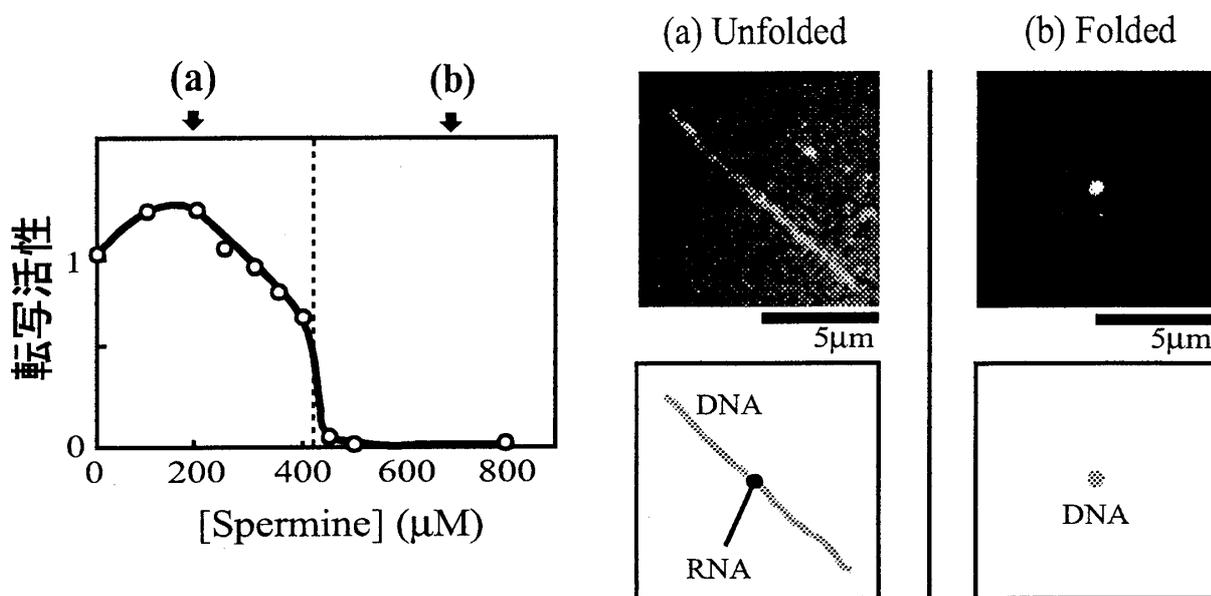


図 1: (左)DNA アンサンブルにおける凝縮剤濃度変化と転写活性の相関 [1]。(右) 転写反応後、ガラス基板上に引き伸ばされたコイル状態 (a) とグロビュール状態 (b) の DNA。コイル状態の DNA 分子上にも、合成された mRNA が観察された。

1(a))。一方、[spermine(4+)] $700\mu\text{M}$ の条件下では、DNA はグロビュール状態であり、RNA は認められなかった (図 1(b))。それぞれの条件下で、DNA から転写されたと思われる RNA が観察された割合を表 1 に示す。高次構造転移によって DNA が固く折り畳まれたために、転写反応が完全に抑制されることが分かる。

DNA の高次構造転移は、凝縮剤の種類や DNA 分子の形態によって大きく影響されることが知られており、それが遺伝子発現や生化学活性に及ぼす影響について、さらに明らかにしていきたいと考えている。今後の展望も含め、報告する予定である。

[Spermine]	mRNA と共に観察された DNA	DNA 分子の総数	転写活性
$200\mu\text{M}$	47	79	0.60
$700\mu\text{M}$	0	103	0.00

表 1: [spermine] $200\mu\text{M}$ (図 1a)、 $700\mu\text{M}$ (図 1b) における転写活性

参考文献

- [1] K. Tsumoto, F. Luckel and K. Yoshikawa, *Biophys. Chem.* **106** (2003) 23.