

トピックス

DNAを巻き取る分子リール—F₁-ATPaseのおもちゃ

游 慧娟, 飯野亮太 東京大学大学院工学系研究科

1. はじめに

DNAは生命の遺伝情報が刻まれた紐状の高分子である。ヒトの染色体DNAは引き延ばすと全長2mに達するが細胞内ではコンパクトに折りたたまれて直径10 μmの核の中に納まっている。これは、直径1cmの球の中に長さ2kmの紐が詰め込まれているのに相当する。核にDNAを詰め込むため、様々なタンパク質がDNAに結合しそれを折りたたんで、コイルおよびループ状の構造を形成する。たとえば、ヒストンはDNAと結合して巻きつけて、外径11nmのヒストン-DNA複合体(ヌクレオソーム)を形成している(図1a)。また、多くの転写因子もDNAを折り曲げてループを形成する(図1b)。

DNAはきつく折りたたまれることで遺伝子としての機能を制御されている。先に挙げた例で言うと、ヒストンに巻きついたDNAは転写因子との結合が阻害され、遺伝子の発現が抑制されている。折りたたまれたDNAがヒストンからほどけると、転写は始まる。ループ状のDNAと転写因子の複合体は他のタンパク質の結合を抑制し、転写のスイッチのオフとオンを制御している(図1)。言い換えると、DNAをきつく折り曲げるためにエネルギーや力を費やすことで遺伝子の発現スイッチが制御されている。遺伝子の発現スイッチの動的な挙動を定量的に理解するには、DNAをきつく曲げるのに必要な力やエネルギーを直接定量的に測定することが重要である。

2. きつく曲げられたDNAの弾性エネルギー

長いDNAは溶液中で熱ゆらぎによって曲げられて、ランダムコイルな状態にある。一方、短いDNA(数十ナノメートル)は直線性を維持する傾向がある。Worm-like chain (WLC) モデルによると、高分子鎖が熱ゆらぎにより方向の相関を失う距離、持続長 L_p (Persistence length) というパラメーターでDNAの硬さ

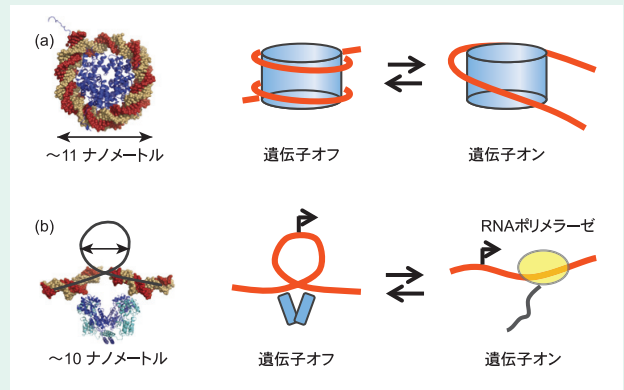


図1 DNAの曲げと遺伝子の発現スイッチング。(a) ヒストンとDNAの複合体。DNAの曲率半径は4.5 nm。(b) Lacリプレッサータンパク質とDNAの複合体。左、結晶構造は直径10 nmのDNAループを示唆している。ヒストンとLacリプレッサーは水色。

を表すことができる。光散乱測定や電子顕微鏡観察、または1分子牽引実験¹⁾により、2重鎖DNAの L_p は約50 nmと報告されている。

L_p はポリマーの曲げ弾性係数 κ との間に、 $\kappa = L_p k_B T$ という単純な関係がある。ここで $k_B T$ はボルツマン定数と絶対温度の積である。つまり L_p がわかれば、長さ L のDNAを角度 θ だけ曲げた時のエネルギーはフックの法則 $E = L_p k_B T \theta^2 / 2L$ によって計算できる(WLCモデルはDNAの曲げ弾性エネルギーをフックの法則で記述している)。

ところが、フックの法則は弾性変形を維持する範囲内でしか成り立たない。強い力で2重鎖DNAを曲げると局所的に塩基対が開裂してキンクを生じると考えられている。しかしこれまでの計測では、DNAは熱ゆらぎによる弱い力で曲げられているだけであった。DNAに積極的に大きな力をかける方法はなく、外力でキンクが生じるかは検証されていなかった。また短いDNAの環化反応実験では、長いDNAと同様の L_p を持つWLCモデルが成立するという結果だけでなく²⁾、非常に柔らかいという結果も報告されてい

Winding DNA on Molecular Reel Made of F₁-ATPase
Huijuan YOU and Ryota IINO
Graduate School of Engineering, The University of Tokyo

※図1, 図2は、電子ジャーナル (<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/-char/ja/>) ではカラー版を掲載しています。

る^{3),4)}。我々はこの問題に着目し、新しい1分子計測法を開発した。

3. DNAを巻き取る分子リール

我々はナノサイズの回転モータータンパク質 F_1 -ATPase と1分子操作技術(光ピンセットと磁気ピンセットの同時利用)を組み合わせて、DNAを紐のように巻き取る“分子リール”を開発し、DNAをきつく折り曲げるのに必要な力を測定することに成功した⁵⁾。DNAの曲率を局所的に力で制御した初の成果とも言える。

具体的な操作は糸巻きと同じである。DNAの一端を、磁性ビーズに結合させた F_1 モーターの回転軸に結合させ、回転する磁場(磁気ピンセット)で回転軸を回転させる。逆の一端は、光ピンセットで捕捉したプラスチックビーズに結合させた(図2a)。DNAの両末端にかかる力は釣り合っており、張力に応じてDNAループの直径は変わる。磁性ビーズの回転角度から巻き数を測定し、プラスチックビーズの変位からかけた張力と巻いたDNAの長さを測定し、DNAをきつく曲げるために必要な力とDNAループの曲率半径との関係を定量的に明らかにした(図2b)。

DNAではWLCモデルのような線形弾性モデルだけでなく非線形弾性モデルも提唱されているが^{6),7)}、我々の結果はWLCモデルを支持し(図2b, 黒い線)、 $L_p = 54 \pm 9$ nm が得られた。6.0 pNの力で直径8.5 nmまで曲げてもDNAは弾性的性質を維持しキックは生じないことが示された。今回の結果を用いてDNAを直径9 nmのループ(ヒストンと同じ曲率)に曲げるのに必要なエネルギーを計算すると、38 $k_B T$ という高い値が見積もられた。ヒストンの正電荷とDNAの負電荷の強い相互作用により、この高いエネルギーを得られるのだと考えられる。

4. おわりに

我々の結果は $L_p \sim 50$ nm のWLCモデルを支持したが、上述のようにDNAはWLCモデルの予想より柔らかいという主張も根強くある^{3),4)}。DNAの曲げ弾性は塩基配列、塩濃度、ねじれ方向の自由度などに依存する。よって、DNAの硬さ(柔らかさ)に関する論争に決着をつけるためには、様々な条件で測定を行う必要がある。今回開発したシステムを用い、今後は塩濃度、塩基配列と曲げ弾性の関係を検証していきたい。さらに、我々の計測システムと転写因子タンパク

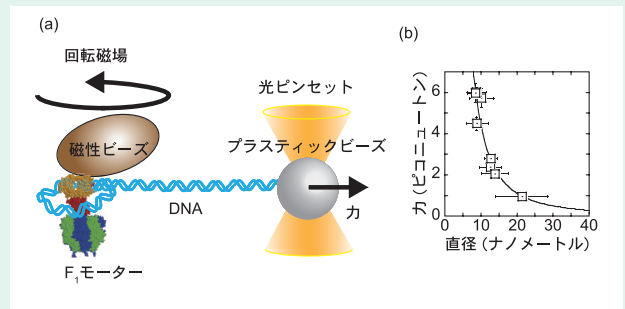


図2

(a) DNAをきつく巻き取る方法。 F_1 の回転軸は直径2 nmなので、DNAを十分小さく巻きつけられる。(b) かけた力と巻き取ったDNAループの直径(曲率半径)の関係。黒線はWLCモデル($L_p = 54$ nm)でのフィット。

質の結合解離の1分子イメージングを組み合わせて、遺伝子発現の力学的制御メカニズムに迫りたい。

謝辞

本稿で紹介した研究は、東京大学の野地研究室で行ったものです。共同研究者の野地博行教授、渡邊力也助教と西川宗さん(ニコン)にお礼を申し上げます。また、研究費を助成していただいた文部科学省および科学技術振興機構に深く感謝いたします。

文献

- 1) Bustamante, C. *et al.* (2003) *Nature* **421**, 423-427.
- 2) Du, Q. *et al.* (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 5397-5402.
- 3) Cloutier, T. E., Widom, J. (2004) *Mol. Cell* **14**, 355-362.
- 4) Vafabakhsh, R., Ha, T. (2012) *Science* **337**, 1097-1101.
- 5) You, H. *et al.* (2012) *Nucleic Acids Res.* **40**, e151.
- 6) Yan, J., Marko, J. F. (2004) *Phys. Rev. Lett.* **93**, 108108.
- 7) Wiggins, P. A. *et al.* (2006) *Nat. Nanotechnol.* **1**, 137-141.



游 慧娟

游 慧娟 (ゆう へいじゅん)

東京大学大学院工学系研究科特任研究補助員
2011年大阪大学工学研究科博士後期単位取得退学、同年より現職。12年博士(工学)取得。
研究内容: DNAのマイクロメカニクス
連絡先: 〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1
E-mail: youhuijuan@nojilab.t.u-tokyo.ac.jp



飯野亮太

飯野亮太 (いいの りょうた)

東京大学大学院工学系研究科講師
2000年名古屋大学大学院理学研究科単位取得退学、同年JST-ERATO研究員(楠見P, 吉田P)。05年大阪大学産業科学研究所特任助手、助手、助教を経て11年より現職。03年博士(理学)取得。
研究内容: 分子機械の作動メカニズム、バイオマーカーの超高感度検出
連絡先: 〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1
E-mail: iino@appchem.t.u-tokyo.ac.jp
URL: <http://www.nojilab.t.u-tokyo.ac.jp>