

オリゴペプチドで誘起される長鎖 DNA の 1 分子内折り畳み転移 —アミノ酸配列と On/Off 性との関係

○秋田谷 龍男¹, 森田 宏美², 平松 裕之¹, 櫛本 紀夫²
(¹名城大薬、²名市大院薬)
akitaya@ccmfs.meijo-u.ac.jp

【目的】遺伝子発現と DNA の大規模な高次構造変化は密接に関連している。核内クロマチン構造の粗密が転写活性の有無に対応していることは周知であり、また細胞内で数百種類もの mRNA が同時に On/Off 的に発現することなども近年報告されている。従来モノシストロン範囲の転写制御機構については詳細な知見が蓄積されているが、これらの現象は数 kbp 以内の DNA で起きるものであり、局所の分子機構から数十 kbp 以上に及ぶ大規模で On/Off 的な高次構造変化を説明することは難しい。異なる視点からの分子機構の解明が重要である。近年吉川らは長鎖 DNA を一分子観察することで、数十 kbp 以上の二本鎖 DNA では単分子鎖内で不連続 (On/Off 的) な折り畳みが起きることを明らかにした。さらに我々は最近鎖長の異なる poly-L-lysine と長鎖 DNA (166kbp) との相互作用を解析することで、DNA との相互作用の強い物質によっては連続緩慢な折り畳みが、相互作用の弱い物質によっては On/Off 的な折り畳み転移が誘起されることを明らかにしている。

本研究では、塩基性アミノ酸 (正電荷) に酸性アミノ酸 (負電荷) あるいは中性親水性アミノ酸または疎水性アミノ酸が混在した直鎖状オクタペプチドを用いて、鎖長が同じでありながらアミノ酸配列の異なるペプチドが長鎖 DNA の折り畳み領域あるいは On/Off 性に及ぼす影響を検討した。

【方法】各種濃度の (K₄S₄, (K₂D₂)₂, (KD)₄, K₄S₄, (K₂S₂)₂, (KS)₄, K₄A₄, K₄L₄, (KA)₄, (KL)₄) が各々共存する溶液中での T4 bacteriophage DNA (166 kbp) の高次構造変化を蛍光顕微鏡で 1 分子観察した。さらに DNA 凝縮体の流体力学的半径を DNA 分子のブラウン運動解析から求めた。さらに DNA 凝縮体の透過電顕像を得たし電子顕微鏡観察した。また DNA の高次構造変化と転写活性との関係を解析した。オリゴペプチドは、F-moc 法により合成した HPLC 精製品を使用した。

【結果】アミノ酸配列に差があっても折り畳み領域 (DNA との相互作用) はほぼ同じ (すなわち、相互作用の強さが同程度) であったが、アミノ酸配列の違いによって、折り畳みの様式が連続緩慢変化と不連続 (On/Off 的) 転移の二つのタイプに分類された。折り畳みの On/Off 性と折り畳み領域が関連する従来のスキームと異なる結果であった。また

折り畳みのタイプの違いによって、DNA 凝縮体の流体力学的半径ならびに透過電顕像にも違いが見られた。長鎖 DNA との塩基配列非特異的相互作用によって誘起される On/Off 的な DNA 単分子内折り畳みの分子機構について議論する。

1) T. Akitaya, K. Tsumoto, A. Yamada, M. Naoko, K. Kubo, K. Yoshikawa

Biomacromolecules (2003) Vol. 4, No. 5, pp1121-1125

2) O. E. Philippova, T. Akitaya, I. R. Mullagaliev, A. R. Khokholov, K. Yoshikawa

Macromolecules (2006) Vol. 38, pp9359-9365

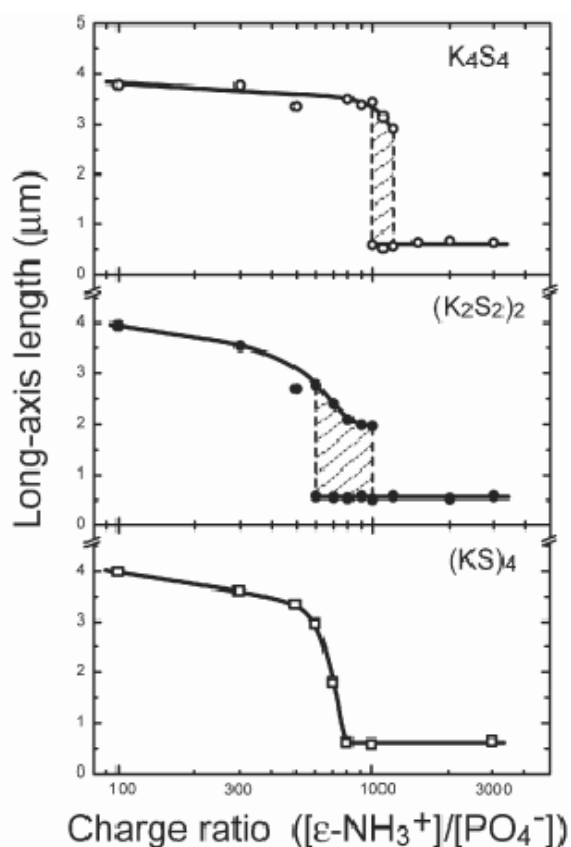


図 1. 各種ペプチド共存下における T4 DNA の長軸長変化. 縦軸は長軸長、横軸はペプチド濃度をリジン残基／リン酸基の電化比で表している.

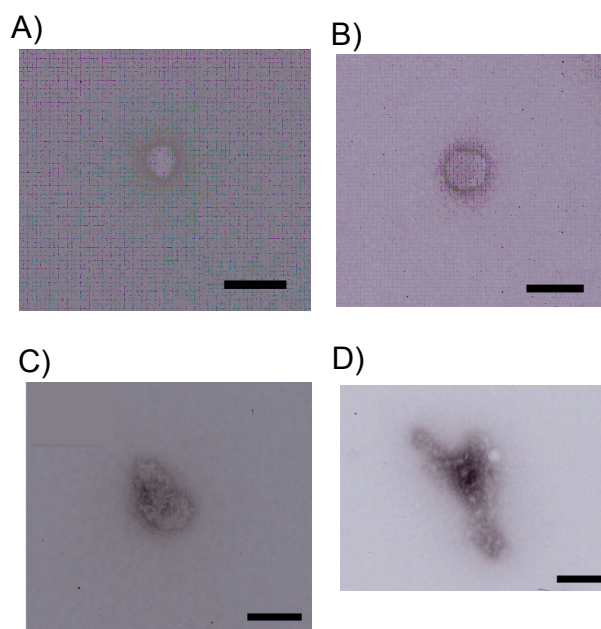


図 2. DNA 凝縮体の透過電顕像. A), B) 電化比 14400 の K_4D_4 、C), D) 電化比 3000 の $(KS)_4$ 共存下での T4 DNA globule. Scale bar = 200 nm