B017

DNA 高次構造の ON/OFF 転移による転写反応のスイッチング

○山田 彩子¹、久保 康児²、牧田 直子³、吉川 研一^{1,2} (¹京大院・理・物理、²CREST、³京大院・医・HMRO)

数 10 kbp 以上の長鎖 DNA は、多価カチオンや ATP などの濃度変化に伴い、空間的に広がったランダムコイル状態から、小さく折り畳まれた凝縮状態へと、ON/OFF 型の著しく不連続な構造転移 (折り畳み転移) を起こすことが明らかとなっている。一方で、ゲノム DNA の高次構造変化が遺伝子発現に大きく影響を及ぼすことも知られており、DNA の折り畳み転移と転写活性との相関を調べることは、遺伝子発現制御の機構を解き明かす上で重要な情報を与えると考えられる。DNA の折り畳み転移は、タンパク質などを介さない非特異的な作用によって引き起こされる転移であり、広い範囲の遺伝子発現を同時に ON/OFF する機構としても重要であると考えられる。本研究では、スベルミン濃度変化に伴う単分子の λ ZAP II DNA の高次構造変化と、T7 RNA polymerase による転写反応とを蛍光顕微鏡下で同時観測した。結果として、ランダムコイル状態の DNA では転写が活性、逆に凝縮状態では不活性であることが示された (図参照)。Ref.) K.Tsumoto, et. al, *Biophys. Chem.*, in press

A. Yamada, K. Kubo, N. Makita, K. Yoshikawa : Switching of transcriptional activity caused by discrete transition on the higher order structure of DNA

B019

液相クラスター構造に基づく DNA 複製プロセスへの金属イオン、溶媒効果の考察

○望月 俊介、脇坂 昭弘 (産総研)

DNA 複製法の PCR (Polymerase Chain Reaction) では、テンプレート DNA やプライマー、DNA 複製酵素やヌクレオチドだけでなく、共存イオンや溶媒が複製効率に大きな影響を与える。共存イオンはプライマーのアニールングや複製反応の安定化に寄与し、また DMSO 等の有機溶媒の添加は複製効率を変化させる。しかしながら、それらの濃度等の最適条件は経験則に基づくものであり、イオンや溶媒が分子レベルでどのような役割を担っているかは未だ不明な点が多い。本研究では分子レベルの相互作用からこの点を明らかにするため、液相中のミクロ構造を観測する液相クラスター質量分析計を用い、水溶液中でのヌクレオシド (シチジン) の会合に影響を与える金属イオンや有機溶媒の効果をクラスター構造から考察した。また、クラスター構造と PCR との関連についても検討した。

水溶液中のシチジンの自己会合を観測すると、 Na^+ や Mg^{2+} 等のアルカリ金属、アルカリ土類金属イオン共存下では静電的会合が優勢で、電荷密度の大きい Mg^{2+} ではシチジンの会合数は 8~9 程度となり、最もシチジンの自己会合を促進させた。一方、 Mn^{2+} や Zn^{2+} 等の遷移金属イオン共存下では、シチジンの配位による錯形成が優勢となり、シチジンの会合数は 2~3 程度であった。 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} を用いてヒト遺伝子の β -グロビン領域を PCR で増幅させると、シチジン分子の会合に最も効果的であった Mg^{2+} での増幅が顕著であった。また、 Mg^{2+} による PCR で DMSO を 1~10 % 添加させると、10 % の時に PCR 増幅が阻害されたが、 Mg^{2+} 共存下のシチジン水溶液に対して DMSO を 2 あるいは 10 % 添加させると、10 % 添加時ではシチジンのクラスターがほとんど観測されなかった。このほか、シチジンクラスター構造と PCR の関連について報告する。

S. Mochizuki and A. Wakisaka : A study of the effects of metal ion and solvent on the DNA replication from the viewpoint of liquid phase cluster

B018

長鎖 DNA 高分子の折り畳み転移による転写活性の ON/OFF スwitching

○湊元 幹太¹、Luckel Francois² (¹三重大・工・分子素材、²京大・理・物理)

持続長 (150 bp) に比して十分長い数 10 kbp (数 10 μm 程度) 以上の 2 本鎖 DNA には、多価カチオンや水溶性ポリマー等の添加により、個々の分子鎖レベルでその形態がランダムコイル状態からコンパクトな折り畳み状態へ不連続に転移する特徴がある [1]。今回我々は、長鎖 DNA の折り畳み転移の転写反応への影響を知るため、T7 プロモータをもつ長鎖 DNA (40 kbp) と持続長程度の DNA 断片 (140 bp) を、DNA 凝縮剤であるスベルミン (4+) 及びポリエチレングリコール (PEG #20000) を含む溶液中で T7 RNA ポリメラーゼにより転写し RNA 合成量を調べた。その結果、鋳型 DNA の長短に関わらず、凝縮剤濃度の上昇とともに転写活性は一旦上昇しその後漸減したが、ある濃度を境に長鎖 DNA の活性のみ急激に変化し、その転写は完全に阻害された (スベルミンの例を図示した)。また、蛍光顕微鏡による直接観察から活性の急変と長鎖 DNA の折り畳み転移が対応していることが分かった。即ち転写活性の急激な変化はコンパクトな状態に転移した DNA 分子数の急増による。以上は僅かな溶液環境変化に起因する転写活性の ON/OFF 的な挙動と鋳型 DNA の μm スケールの長鎖性との関連性を示唆する。[1] 吉川ら : 生物物理 (2002) 42, 179-184.

K.Tsumoto, F.Luckel : Folding transition of a large DNA molecule causes ON/OFF switching of its transcriptional activity

B020

Thermodynamic Database for Protein-Nucleic Acid Interactions (ProNIT): Recent Developments

○Kumar Shaji¹、Prabakaran Ponraj²、上平 初穂³、Gromiha Michael³、北島 浩司¹、皿井 明倫¹ (¹九工大・情報工学、²NIH、³産総研)

Thermodynamic data on protein-nucleic acid interactions are important for understanding the mechanisms of molecular recognition and the regulation of gene expression. We have developed a thermodynamic database for the protein-nucleic acid interactions (ProNIT), in order to provide researchers information about the experimentally determined thermodynamic parameters published in the literature. Currently the database contains about 3300 entries from about 200 research papers. Each entry contains interaction thermodynamic data, details of relevant experimental techniques, information about protein and nucleic acid involved in the interaction. The database is searchable by keyword, protein name, protein source, experimental methods, and various thermodynamic parameters with various display options. ProNIT is hyperlinked with major databases. The database can be accessed at <http://www.rtc.riken.go.jp/jouhou/pronit/pronit.html> Recent developments include: A significant increase in the number of proteins. Data for about 15 new proteins were added in the recent update. Currently the database includes about 120 proteins. A new field "Related entries" enables users to obtain similar entries from the same reference, if any. SWISS-PROT accession number of the protein is provided. ProNIT is linked with the "ProTherm" database (thermodynamic database for proteins and mutants) with respect to particular proteins involved in the protein-nucleic acid interactions.

M.D.S. Kumar, P. Prabakaran, H. Uedaira, M.M. Gromiha, K. Kitajima and A. Sarai : Thermodynamic Database for Protein-Nucleic Acid Interactions (ProNIT): Recent Developments