

異なるオリゴアルギニン鎖長によるウシ胸腺 DNA の凝集体形成過程の比較

(同志社女子大薬¹) ○山根 李奈¹、羽森 真美¹、根木 滋¹

The Thermodynamic and Morphological Characteristics of the Compaction Processes between Oligoarginine with Different Chain Lengths and Calf Thymus DNA

(¹Fac. Pharm. Sci., DWCLA) ○Momona Yamane¹, Mami Hamori¹, Shigeru Negi¹

Conformational changes in genomic DNA play an important role in gene expression. Genomic DNA is a long, negatively charged, stiff biopolymer that requires proper compaction processes to fit into the confined space of the nucleus. However, the mechanism behind this DNA compaction phenomenon is still poorly understood. In this study, we synthesized oligoarginines with different chain lengths for complexation with calf thymus DNA (CT DNA), and investigated the effect of the cation chain length on the CT DNA compaction process. Rn-CT DNA complexation was characterized using various physicochemical methods, such as ITC, DLS, and AFM. Our results clearly indicate that complexations between Rn and CT DNA are greatly affected by the sidechain length of the Rn. R₄ did not cause compaction but instead formed large, irregular R₄-DNA aggregates; this is probably due to an extremely short peptide chain of R₄. In the case of R₈ and R₁₆, the DNA was able to fold and form small, spherical aggregates with both R₈ or R₁₆. These results provide fundamental knowledge on liquid-liquid phase separation inside the cell nucleus. **Keywords** : DNA compaction; Oligoarginines; Polypeptide; Calf Thymus DNA; DNA-peptide complex

DNA の凝縮は、ゲノム DNA の大きなコンフォメーション変化を引き起こし、細胞内の遺伝子発現において重要な現象である。しかしながら、いまだに DNA の凝縮過程のメカニズムは不明な点が多い。そのため本研究ではゲノム DNA の凝縮過程にはカチオンバインダーの鎖長が重要であると予想し、ウシ胸腺 DNA (CT DNA) と異なる鎖長を有する合成オリゴアルギニンペプチド (Fig. 1) を用いて、ITC、DLS、ゼータ電位、AFM を用いてそれらの凝集メカニズムについて検討を行った。

ICT 測定では R₄ は急激な発熱ピークは見られなかった (Fig. 2A) のに対し、R₈ および R₁₆ は急激な発熱ピークが見られた (Fig. 2B, C)。DLS および AFM 観察の結果から、R₄ では大きな不定形の凝集塊が形成されたが、R₈ および R₁₆ では急激な発熱ピークに至るまでは小さな球形粒子を、それ以降はそれらの粒子同士が凝集している像が観察された。以上の結果より、CT DNA との凝集体形成は Rn の鎖長に大きく依存することが明らかとなった。

R4 : H2N-RRRRY-CONH2
R8 : H2N-RRRRRRRRY-CONH2
R16 : H2N-RRRRRRRRRRRRRRRRY-CONH2
R (Arginine) Y (Tyrosine)

Figure 1. Primary sequence of oligoarginines.

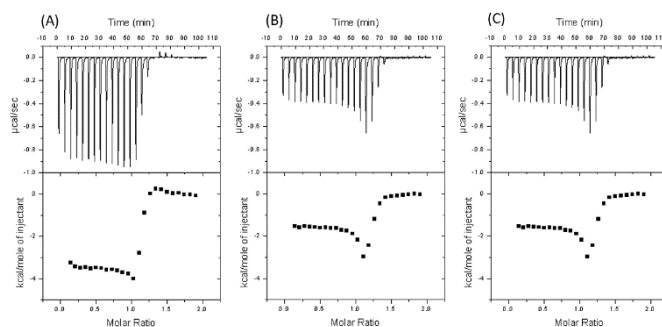


Figure 2. ITC data for of DNA (0.8 mM in phosphate unit) with (A) R₄, (B) R₈ and (C) R₁₆ (0.08 mM in arginine monomer unit) in water at 25°C, pH 7.2.