

カチオンクラスター構造が DNA コンパクションに及ぼす影響

(同女大 薬) ○根木 滋・羽森真美・辻 唯央

Effect of cation cluster structure on DNA compaction (*Doshisha Women's University*)

○Shigeru Negi, Mami Hamori, Io Tsuji

In this study, we synthesized peptides (R_n : $n=4,5,6,7,8,16$) with systematically varied chain lengths of oligoarginine, which is composed of the cationic amino acid arginine, and investigated the effect of chain length of the cation cluster on the association formation process with bovine thymus DNA (CT DNA). For R_4 , the surface of the particles is hardly charged up to the theoretical neutralization point, and the aggregation occurs, resulting in a large particle size of the aggregate and an irregular shape. On the other hand, for chain lengths above R_6 , the particles were quite small and uniform from the initial stage and changed little as the reaction proceeded. This is thought to be due to the fact that the particle surfaces are positively charged, which suppressed agglomeration. On the other hand, in R_5 , constant heat generation was observed at ITC up to the neutralization point, and the particle size did not change, which is similar to the characteristics of R_6 and above. However, at the theoretical neutralization point, the particle size increased and the surface became uncharged, showing the same characteristics as R_4 . In summary, it is clear that a difference in chain length of only one arginine residue has a significant effect on DNA aggregation.

Keywords : DNA condensation, DNA compaction, Oligoarginine, Cationic cluster

本研究ではカチオン性アミノ酸であるアルギニンから構成されるオリゴアルギニンの鎖長を系統的に変化させたペプチド (R_n : $n=4,5,6,7,8,16$) を合成し、ウシ胸腺 DNA (CT DNA) との凝集体形成過程におけるカチオンクラスター鎖長の影響について検討した。CT DNA との相互作用について様々な物理化学的手法 (等温滴定型熱量測定: ITC, 動的光散乱法: DLS, ゼータ電位, 原子間力顕微鏡: AFM) を用いて検討した。ITC 測定により、 R_4 において一定の発熱が見られた後、反応は終結した。 R_5 , R_6 , R_7 では、一定発熱後、中和点付近で長鎖になるほど顕著な非連続的な発熱ピーク (maximum heat) が観察され、凝集過程において 2 段階の相転移が認められた。 R_8 , R_{16} も同様の傾向であったが、中和点付近でより大きな maximum heat を生じた。また ITC 測定の途中段階において形態観察を行った。DLS 測定において、 R_4 では反応が進むにつれ粒子径が増加した。 R_5 以上の鎖長では中和点までは小さく一定の粒子径を保つことが明らかとなった。 R_5 以降の鎖長では中和点後、粒子径はやや大きくなった。また多分散度を示す PDI 値の測定では、 R_4 では中和点まで増大した。 R_5 以上の鎖長では maximum heat までは一定に均一であったが、 R_5 は maximum heat 後増大した。AFM 観察では、中和点に至るまでに R_4 では不定形で大きな凝集塊が観察された。 R_5 以上の鎖長では maximum heat までは小さな球形粒子を形成した。 R_5 以外は maximum heat 時にはそれらの球形粒子同士の集合が見られたが、 R_5 では不定形の凝集塊が形成された。以上の結果から R_4 と R_5 以上の鎖長では明らかに DNA に対する凝集過程が異なっており、僅かアルギニン 1 残基の違いであるが、DNA 凝集に大きな影響を与えていることが今回の実験から明らかとなった。