

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 23 日現在

機関番号：34315

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22740274

研究課題名（和文） DNA 鎖の転写反応におけるねじれの伝搬と非平衡カイラルダイナミクス

研究課題名（英文） Twist propagation and nonequilibrium chiral dynamics in DNA filaments during transcriptions.

研究代表者

和田 浩史 (WADA HIROFUMI)

立命館大学・理工学部・准教授

研究者番号：50456753

研究成果の概要（和文）：

本研究では、DNA および DNA とヒストンタンパクの複合体であるヌクレオソーム構造のねじれ(twist)変形に対する安定性と力学的応答を、連続体モデルにもとづく解析的・数値的アプローチによって調べた。我々の計算結果は、ヌクレオソームのカイラルフリップや準安定状態が RNA ポリメラーゼによるトルクの導入によって力学的に引き起こされるという可能性を強く支持する。本研究の成果は、クロマチン構造の動的な構造安定性を理解するうえで重要な知見をもたらすと期待される。

研究成果の概要（英文）：

In this project, we studied the mechanical stabilities and responses of a DNA filament and a nucleosome-like complex against applied twist deformations using analytical and numerical methods based on continuum mechanics approaches. Our results suggest that chiral reversal and related metastable structures of a nucleosome could be produced mechanically by the functions of RNA polymerase II during DNA transcription. This study will be potentially important for understanding dynamical stability and plasticity of chromatin structures observed in living cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	700,000	210,000	910,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：自然科学

科研費の分科・細目：物理学・生物物理、化学物理

キーワード：生物物理学，線形弾性論，DNA メカニクス，ヌクレオソーム，転写ダイナミクス

## 1. 研究開始当初の背景

DNA に埋め込まれた遺伝情報を翻訳し、必要なタンパク質を必要ときに適切に合成する作業は、あらゆる生物にとって生命活動を健全に維持するための最も基本的な過程である。このきわめて重要なプロセスの第一段階は RNA ポリメラーゼ(RNAP)による DNA 塩基情報の読み出し(mRNA の合成)である。真核細胞においては、クロマチン構造にタイトに折り畳まれた DNA の必要箇所にどのようにアクセスし、どのように読み出しと mRNA の合成を RNAP が実現しているのだろうか。その全体像は分子生物学における大きな謎である。

RNA ポリメラーゼ II は DNA をたぐり寄せ回転させながら二重らせんを部分的にほどき、その塩基配列を鋳型として RNA を合成する。その結果 DNA には張力と軸方向の回転トルクが導入され、DNA の超らせん形成や構造転移を誘起する (図 1)。これは真核細胞と原核細胞に共通の機構である。

DNA のトポロジーを力学的に変化させる捻れのダイナミクスは、遺伝子発現の制御やクロマチン構造の安定性に深く関与しておりきわめて重要な研究課題である。しかしその力学的なメカニズムは多くが未解明である。分子生物学的な実験データが豊富に利用できる今日、モデルによる理論的アプローチが不可欠である。以上のような背景をふまえ、大別して次の二つの連結するテーマ (次項) に取り組んだ。

## 2. 研究の目的

### (1) DNA twist dynamics

ポリメラーゼによる **twist** はどのように DNA フィラメント内を伝搬するのか? またそれは DNA の **supercoil** を引き起こすのに十分か?

1987年に Liu と Wang は、転写の際に RNAP が加えるねじれが DNA をどのように伝搬するかという問題をはじめて理論的に取り上げた。DNA を直径  $R=2$  nm, 長さ  $L$  の剛直な棒とみなすと、軸回転の粘性抵抗トルクは因子  $R^2$  のために大変小さい。すなわちポリメラーゼによるトルクは DNA の軸回転を通じて十分速やかに緩和し何らの力学的不安定性も起こさない。ところがこの予測に反し、その後の *in vitro* および *in vivo* の実験の多くは転写の際に DNA の超らせん形成や構造転移の痕跡を観測しており、この実験と理論的予測の間の不一致を巡ってこれまで多くの研究報告がある。なかでも P. Nelson は DNA 鎖に存在する局所的なキンク構造が流

体力学的な回転抵抗を劇的に増幅するという興味深いアイデアを提案した。しかしそれを指示する実験的根拠は現在まで報告されていない。

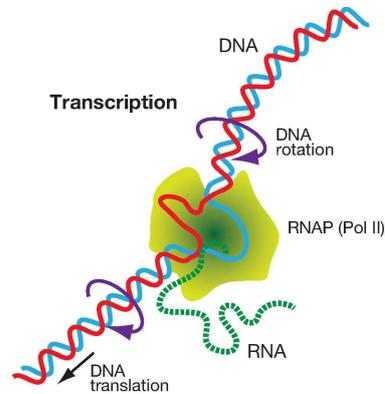


図 1 : 転写過程のイメージ図。RNA ポリメラーゼ II の活動とともに DNA にはトルクが導入される。

そこで我々は弾性フィラメントの動力学シミュレーションとスケーリング理論を組みあわせフィラメント内部をどのようにねじれが伝搬するのか、その非平衡非線形ダイナミクスを詳細に調べることが一つの目的とした。

### (2) Nucleosome twisting dynamics

RNA ポリメラーゼによる捻れはヌクレオソーム構造の安定性にどのような影響を及ぼすか? その結果、酵素タンパクの DNA へのアクセシビリティはどう変化するか?

細胞内における RNA ポリメラーゼの典型的な転写速度は  $10 \cdot 10^2$  base/s で、DNA の軸回転速度に換算するとおよそ  $1 \cdot 10$  excess turn/s となる。これはトポイソメラーゼによるねじれの緩和の時間スケールを凌ぐと考えられ、Pol II のような高機能のモータは細胞内で実際に DNA の構造を非平衡状態へ駆動する。このような背景と Q1 で期待される結果をもとに、クロマチンの構成単位であるヌクレオソーム構造に注目し、捻れに対するその力学的安定性を調べる。ヌクレオソームはヒストン八量体に DNA が左巻きに 1.75 回巻きついた構造を持つ。そこでヒストン-DNA 複合体の安定性に着目し、カイラルな応力の導入によってヒストンからの脱吸着/過吸着による裸の DNA の出現頻度がどう増減するかを調べる。なぜならこのプロセスは酵素タンパクの染色体 DNA へのアクセシビリティを支配しており、細胞内における生化学反応の抑制/促進に決定的に重要であるからである。

### 3. 研究の方法

細胞内の転写過程は複雑に入り組んだ種々のプロセスからなるが、このうち twist の関与する力学的側面に注目するため、DNA を均一な弾性フィラメントとみなす粗視化モデルを採用する。そしてその非平衡ダイナミクスをブラウン動力学シミュレーションとスケーリング理論を組み合わせて調べる。

ヌクレオソームはヒストン八量体に DNA が左巻きに 1.75 回巻きついて形成される。第一ステップとしてこれをシミュレーションレベルでモデル化する。粗視化モデルではヒストンタンパクを球で、DNA を均一なフィラメントでモデル化する。このようなモデリングは過去にもなされているが、それらにはねじれ弾性が考慮されておらず、トルクの誘起するカイラルダイナミクスを記述できない。我々はフィラメントの特定の軸とヒストンとの間に引力相互作用が働くとしてモデル化する。

### 4. 研究成果

#### (1) 弾性フィラメント内の twist の伝搬の幾何学とエナジェティクス

研究の目的(1)に対する基本的な理解を確立するため、粘性流体中で回転駆動されるフィラメントの非線形ダイナミクスを解析的および数値的に調べた。力学と幾何学のカップリングによって実現する基礎過程を明らかにするため、十分低温で実現するふるまいのみに注目し、フィラメントの運動を記述するキルヒホッフ方程式を解析した。駆動トルクが十分大きくなると座屈転移を起こすことが知られていたが、これを新たな幾何学的見地から解釈し、twist-write 転換においてホロノミー（幾何学的位相）が重要な役割を果たしていることを明らかにした。また定常状態における単位時間あたりの系のエネルギー散逸率の（摂動ではなく exact な）解析的表式を導出し、シミュレーション結果とよい一致を示すことを確かめた（図2）。これらの基本的な性質はゆらぎを考慮しても妥当であり、DNA を始めとしてさまざまなスケールに普遍的に当てはまると期待される。

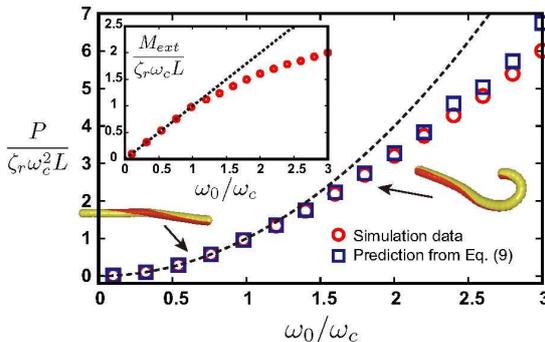


図 2：外部トルクによって回転する弾性フィラメント

のエネルギー散逸率が回転周波数の関数としてプロットされている。

#### (2) トポロジカルに拘束された DNA の普遍的な熱平衡構造

熱環境における DNA のコンフォメーションの理解は生物物理学の中心的課題のひとつである。とくにトポロジカルに拘束された環境における DNA 鎖の特性を理解することは本研究課題に直接的に重要である。我々はスイス・ローザンヌ大学の実験グループと共同で、基盤上に deposit した環状の DNA (plasmid) の構造を AFM を使って詳しく調べ、その統計的性質を特徴づける普遍的なスケーリング公式を導出した。我々の予測するスケーリング則は幅広い長さの DNA plasmid の実験結果と非常に一致を示し、トポロジーが DNA の鎖長に沿って非常に長距離の相関をもたらすということを示した（図3）。

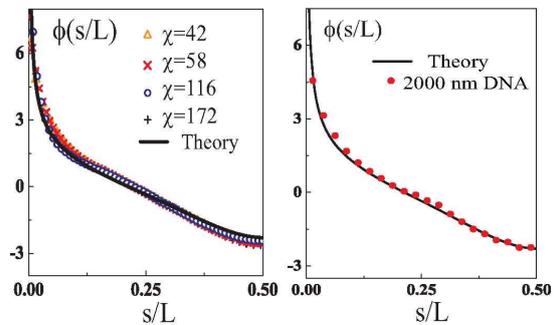


図 3：環状 DNA 鎖の方向相関関数。左：シミュレーション結果、右：実験結果とスケーリング理論の結果を重ねてプロットしたもの。

#### (3) DNA-Histon 複合体の粗視化シミュレーションモデルの構築

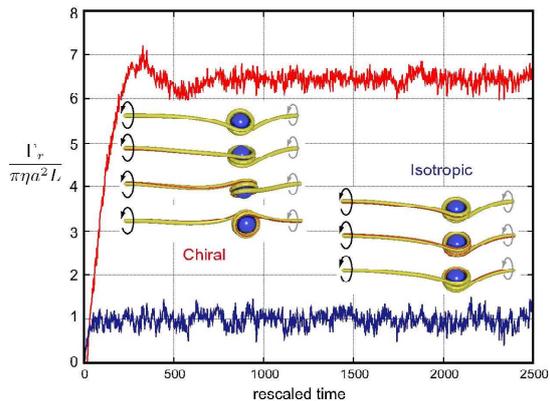


図 4：モデルヌクレオソームの有効回転摩擦係数。フィラメントと球の相互作用が等方的な場合（青）と方向依存する場合（赤）。

DNA 断面の回転方向に依存したポテンシャルを導入し、これを用いて DNA（弾性フィラメント）とヒストンタンパク（剛体球）の安定

な複合体を計算機上で作成することに成功した。これを用いてこのモデル複合体の「正味」の外部トルクに対する回転抵抗が、方向依存性がある場合とない場合でどのように異なるかを調べ、方向依存した相互作用を示すモデルのほうが10倍近くの大きな回転抵抗を示す結果を得た(図4)。生体内ではLiu-Wangによる古典的な回転抵抗よりもずっと大きな値が実現していることが実験から示唆されてきたが、今回の成果は少なくともその一部を説明するものであると考えられる。

#### (4) DNA-Histon 複合体の twist に対する動的な安定性と unwrapping のダイナミクス

さらに(3)のモデルを用いて、RNAポリメラーゼによって外部から加えられたトルクがどのようにこの複合体の安定性とダイナミクスを変化させるかを調べた。

熱ゆらぎの支配的な領域をシミュレーションで調べる前に、まずゆらぎを無視するレベルで系の自由エネルギーを解析的に導出し、ねじれの大きさに応じてそのエネルギーランドスケープがどのように変化するかを理論的に考察した。その結果、ヌクレオソームの安定性を減じるようにねじれが加わる場合、ヒストンをおよそ2回巻きしているDNAは協同的に解離することが予測された(図5)。

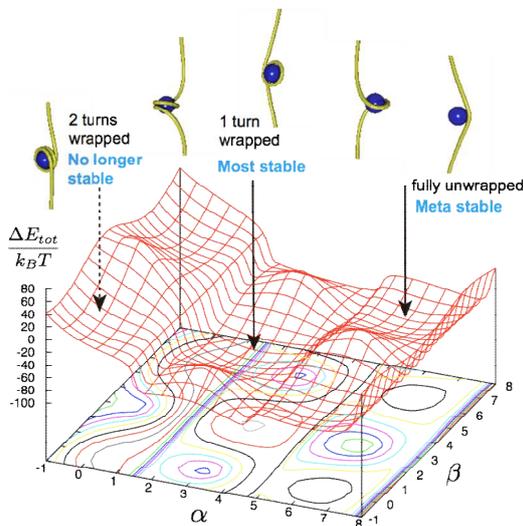


図5: 平均場理論から予測されるモデルヌクレオソームのエネルギーランドスケープ。

次に(3)のシミュレーションモデルを用いて、外部からのねじれによってヌクレオソーム構造がどのように動的に変化するかを調べた。その結果、DNAはヒストンからステップワイズに解離することが示された(図6)。さらにねじれ対トルク曲線を測定し、それが特徴的なのこぎり型の応答を示すことを明

らかにした。これらのふるまいは磁気ビーズを用いた生体一分子測定実験によって検証可能な予測である。外部トルクに誘起されるカイラルフリップや準安定状態の可能性は近年の実験で示唆されていたが、初めてモデル計算によって示された。さらに、複数の実験でたびたび指摘されてきたクロマチン構造のトルクに対する強い plasticity をこの計算結果は裏付けている。以上の結果は、転写過程におけるヌクレオソームの動的な構造安定性を理解するうえで、重要な力学的知見をもたらす成果であると期待される。

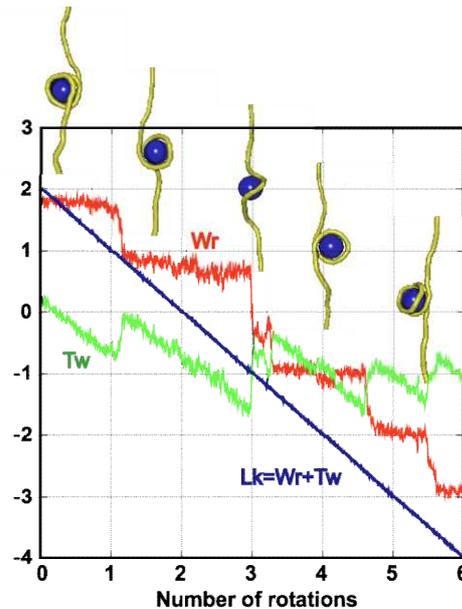


図6: 外部トルクが誘起するモデルヌクレオソームのunwrappingとreverse wrappingプロセス(シミュレーション結果)。幾何学量(WrとTw)およびトポロジカル不変量  $Lk=Wr+Tw$  を回転数の関数として表示している。回転は時間とともに線形に増大する。シミュレーションから得られるスナップショットを併せて表示している。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

① H. Wada, “Hierarchical helical order in the twisted growth of plant organs”, *Physical Review Letters*, 査読有, 109 巻, 2012, 128104.

DOI:10.1103/PhysRevLett.109.128104

② T. Sakaue, T. Saitoh, and H. Wada, “Dragging a polymer in a viscous fluid: steady state and transient”, *Physical Review E*, 査読有 86 巻, 2012, 11804.

DOI: 10.1103/PhysRevE.86.011804

③ H. Wada, “Geometry of twist transport in a rotating elastic rod”, Physical Review E, 査読有, 84 卷, 2011, 042901.

DOI:10.1103/PhysRevE.84.042901

④ T. Sakaue, G. Witz, G. Dietler and H. Wada, “Universal bond correlation function for two-dimensional polymer rings”, EPL (Europhysics Letters), 査読有, 91 卷, 2010, 68001.

DOI:10.1209/0295-5075/91/68002

[学会発表] (計 5 件)

① H. Wada, “Geometry and energetics of twist transport in a rotating elastic rod”, Regional biosoft matter workshop: Nonequilibrium statistical physics in biosoft matter systems, 2011年10月27日, 台北, 台湾

② H. Wada, “Nucleosome dynamics under tension and torsion”, 7<sup>th</sup> international conference on biological physics, 2011年6月21日, サンディエゴ, 米国

③ H. Wada, “Topological flow in twisted open polymers: Plectoneme, belt-trick, and rotational friction”, Statistical physics and topology of polymers with ramifications to structure and function of DNA and proteins, 2010年8月5日, 京都大学 基礎物理学研究所, 京都府

[図書] (計 1 件)

H. Wada and R. R. Netz, “Actively Twisted Polymers and Filaments in Biology”, p.275-p.363, Series in soft condensed matter - vol.4: Nonequilibrium Soft Matter Physics, edited by S. Komura and T. Ohta, World Scientific, Singapore, 2012.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

和田 浩史 (WADA HIROFUMI)

立命館大学・理工学部・准教授

研究者番号: 50456753