

課題番号 : F-17-NU-0130  
利用形態 : 技術相談  
利用課題名(日本語) : AFM を用いた DNA とヒストンの凝集構造の観察  
Program Title (English) : Observation of DNA-histone complex by using AFM  
利用者名(日本語) : 夏目享治、山本哲也  
Username (English) : K., T. Yamamoto  
所属名(日本語) : 名古屋大学物質科学専攻  
Affiliation (English) : Department of Materials Physics, Nagoya University  
キーワード/Keyword : DNA、AFM、ヒストン、形状・形態観察、分析

## 1. 概要(Summary)

真核生物の DNA は、ヒストンタンパク質との複合体であるクロマチンを形成して、核の中に納まっている。クロマチンの単位は、ヌクレオソームと呼ばれる、DNA がヒストンの八量体の周りを 1.65 回巻いた構造である。クロマチンの凝集状態は、ヌクレオソームの間の静電相互作用によってきまっていることが示唆されている。

我々は、クロマチンの凝集状態の塩濃度依存性を調べるために、直接観測と動的光散乱法(DLS)を用いて、水溶液中の DNA の慣性半径を、ヒストンの濃度と塩濃度の関数として測定した。その結果、塩を加えていない水溶液中の DNA については、ヒストン濃度を大きくするにつれて、膨潤したランダムコイル形状から、収縮したグロビュール形状に転移することを実験的に示した。この結果は、DNA はヒストンと複合体を形成していることを示唆している。しかし、ヒストンと DNA がヌクレオソームを形成しているかどうかは不明である。そこで、本研究では、AFM で DNA-ヒストン複合体を直接観測することによって、この複合体がヌクレオソームを形成しているかどうかということを評価することを目的としている。

DNA-ヒストン複合体の AFM 観測を行うために、まず、DNA とヒストンの混合溶液を作成する。作成した溶液をガラス基板に滴下し、窒素パーズして乾燥させることによって、複合体をガラス基板上に堆積させる。これを AFM で観察する。ヌクレオソームは、直径 10 nm、高さ 6 nm の円筒形の構造である。DNA がヒストンの周りをちゃんと巻いているかどうかということを評価するのは困難であるので、複合体の基板からの高さを評価することによって、複合体の構造を評価する。この研究の実施法について、名古屋大学電子工学専攻の加藤剛志准教授に技術相談をした。AFM で DNA-ヒストン複合体の構造を評価するためには、タッピングモードで測定を行い、測定の間複合体の構

造を破壊しないようなプローブを使う必要があるという点をご指摘いただいた。先行研究では、ばね定数 53-68N/m のプローブが用いられていた[1]。名古屋大学では、備え付けのプローブとして、ブルカー社の NCHV(ばね定数 40 N/m、先端半径 8 nm)があり、まずはそれを使って測定を試みることを示唆していただいた。それでもばね定数が大きいときには、ばね定数 26 N/m、先端半径 7 nm の OMCL-160TS(オリンパス)があることも教えていただいた。

## 2. 実験(Experimental)

< 技術相談のため概要のみ記載。以下、空欄。 >

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

< 技術相談のため概要のみ記載。以下、空欄。 >

## 4. その他・特記事項(Others)

・参考文献:

[1] Y. T. Sato, S. Watanabe, *et al.*, *Biophys. J.*, **105**, 1037 (2013).

## 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし。

## 6. 関連特許(Patent)

なし。