

急剧弯曲 DNA 柔韧性的研究进展

杨 琨, 侯 森, 冯喜增

(南开大学生命科学学院, 分子生物学研究所, 生物活性材料教育部重点实验室, 天津 300071)

摘要: 基因调控, 核小体和病毒的包装行为都会涉及 DNA 的急剧弯曲成环。DNA 分子的环化是研究其本身柔韧性的主要方法。目前已经发展出很多研究 DNA 环化的模型, 其中 WLC (worm-like chain) 模型较为成熟。近年来, 在 DNA 环化的重要参数、影响因素以及 DNA 急剧弯曲成环的理论研究等诸多方面都有了新进展。

关键词: DNA 急剧弯曲成环; J 因子; DNA 维持长度 P ; DNA 柔韧性

中图分类号: Q71

0 引 言

双螺旋 DNA 在体内的环化已经成为了 DNA 基础研究中的热点问题。它对于原核的基因控制、真核生物的核小体以及病毒的主要行为非常重要^[1]。在很多原核基因调控复合物中, 100 bp 左右的短 DNA 会急剧弯曲形成平行环或反平行环^[2,3]。DNA 环化使得蛋白质能和远距离的 DNA 结合位点协同作用, 从而提高了蛋白质和 DNA 复合物的稳定性^[4]。在真核生物中也存在 DNA 环化现象^[5-7]。Yasmin 等^[8]近期发现了鼠体内 RXR 受体介导的配基依赖的 DNA 环化。在真核生物的核小体中, 基因组 DNA 全长的 75%~80% 都是急剧弯曲成为 80 bp 长的超螺旋环而存在的^[9], 其结构可以调节其它 DNA 功能位点的可接近性^[10,11]。双链 DNA 在病毒里面也会急剧弯曲, 它的柔韧性对于病毒包装和 DNA 排出有着重要的动力学意义。大量的 DNA 急剧弯曲成环实验研究^[12-14]和理论研究^[12,15-18]表明, DNA 的序列结构与其柔韧性之间存在一定的联系。通过成环实验对 DNA 弯曲性、扭曲性和柔韧性进行研究已经成为现阶段 DNA 实验和理论研究的热点。

经典的理论研究认为双链 DNA 是一种具有部分柔韧性的聚合物。用于描述 DNA 环化的参数主要有两个, 一个是描述 DNA 成环效率的参数 J 因子, 另一个是 DNA 弯曲维持长度 P (the persistence length)。对于 DNA 缠绕性质的研究表明, DNA 可以被认为是有柔韧性的可以缠绕的棒, 它的扭转系数是 $2.4\sim 4.5\times 10^{-19}$ erg·cm (1erg=0.1 mJ)^[15,19-21]。

1 环化的重要参数

J 因子是用于描述短 DNA 片段构象的一个重要的参数。它的定义是在适当的角度和扭转方向下, DNA 的一个末端相对邻近的另一个末端的有效浓度^[21]。 J 因子也可以表示 DNA 环化过程中, 共价连接的单分子环和共价连接的双分子环的物质的量之比, 即成环与双聚化平衡常数的比率。这个比率等同于一个末端在另一个末端附近的 DNA 的有效浓度。对于给定的 DNA 长度, 它反映了 DNA 的柔韧性及其环化的效率, 数值上与 DNA 的维持长度 P 有关。

1.1 J 因子的理论计算

带有粘性末端的 DNA 片段的连接反应会产生很多不同的产物。然而, 在连接反应开始阶段的主要产物为环状单聚物 (CM)、线状双聚物 (LD) 和环状双聚物 (CD)。定义 J 因子的算法是在片段连接反应初期所形成的 CM 的浓度和 LD、CD 浓度之间的比例^[22]:

$$j=2M_0\lim_{t\rightarrow 0}C(t)/D(t) \quad (1)$$

M_0 为片段初始浓度, $C(t)$ 表示 CM 的浓度, $D(t)$ 表示 LD 和 CD 的浓度和。在 DNA 样品末端用磷 32 标记, 反应后用电泳分离。

收稿日期: 2005-12-26

基金项目: 国家自然科学基金重大项目 (90403140)

通讯作者: 冯喜增, 电话: (022)23507022,

E-mail: xzfeng@nankai.edu.cn

1.2 J 因子的实验分析

图 1 表示不同连接反应时间下的连接产物的分布。除了在连接反应开始的阶段以外，大部分的双聚物是以环化双聚物 CD 的形式存在的。当用外推法计算 J 因子时， $D(t)$ 包括线性和环化双聚物两者的浓度。用线性双聚物或用线性和环化双聚物计算出来的 J 因子没有太大的区别，主要是因为线性双

聚物一般出现在连接反应的最开始阶段。如果只用线性双聚物来表示 $D(t)$ 的话，就要在非常小的时间范围内计算 J 因子，但是这样就会使测量非常复杂，产生很大的误差。所以采用不同时间的 J 因子的数值，然后用外推法来反推出反应刚开始时的 J 因子的数值^[22] (图 1)。

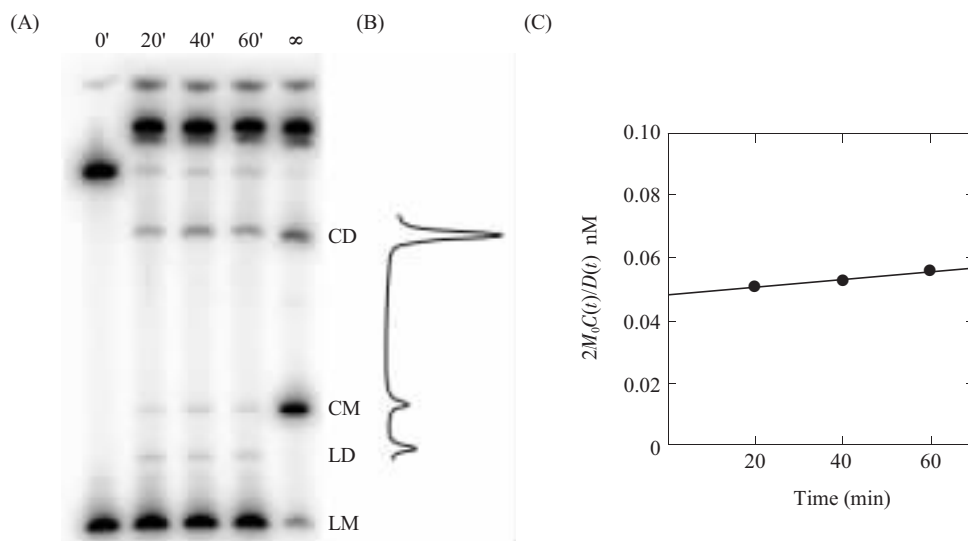


Fig.1 Determination of j -factor from the ligation time course^[22]. (A) Ligation products, withdrawn at specific time intervals, were separated by PAGE; (B) Phosphor Imager scan of the product bands; (C) Extrapolation of $2M_0C(t)/D(t)$ to zero ligation time to obtain the J -factor value

1.3 DNA 的维持长度 P

DNA 分子的构象性质可以用维持长度 P 来描述。维持长度 P 是键长在聚合物链的单位矢量上投影的矢量和。DNA 弯曲维持长度 P 受两个因素的直接影 响：DNA 双螺旋本身的曲率和相邻碱基对之间角度的热力学波动^[15]。通过实验已经证实第二个因素对 DNA 维持长度 P 的影响要远大于第一个因素所产生的影响。DNA 自身的弯曲维持长度 P 为 50 nm (大约是 150 bp)，可以通过实验测定^[14-17,23]。测量出的 P 值反映双螺旋本身的曲率和热力学波动对 DNA 弯曲的贡献^[24-26,28]。当 DNA 长度大于 P 时，很小的力就可以使它弯曲。但是当其长度小于 P 时，DNA 几乎是直的，如果要它弯曲就需要很大的力。

2 关于 DNA 环化的重要模型

近几年已经发展出了一些新的关于 DNA 环化

的理论模型。双链分离波动模型 (strand-separation fluctuation, SSF) 是一个新的解释 DNA 环化的模型。它是通过短暂的将双链 DNA 转变为更有柔性的单链 DNA 来解释环化现象的，并且采用了半定量的计算理论化其模型^[29]。蠕虫模型 (worm-like chain, WLC) 模型则是一个关于 DNA 环化的经典模型^[30]。

蠕虫模型的基本假设是键角 θ (bond angle) 不大于 180 度；键是可以自由旋转的；存在二面角 (dihedral angle) 的等分布。

基于对键角 θ 的限制产生了下式： C_n 是特征比，表示聚合物聚合的程度，它与键角 θ 正相关。其中 $\beta = \cos\theta$ 。

$$C_n = \frac{1+\beta}{1-\beta} - \frac{(\frac{2\beta}{n})(1-\beta^n)}{(1-\beta)^2} \quad (2)$$

当 n 趋向无穷时， C_n 减小到 C (常数)：

$$C_\infty = \frac{1+\beta}{1-\beta} = C \quad (3)$$

WLC 模型的延伸力 f 表示如下^[31]:

$$f = \frac{kT}{P} \left(\frac{1}{4(1-R)^2} - \frac{1}{4} + R \right) \quad (4)$$

R 是伸长比, 即聚合物伸长长度的倒数, kT 是 Boltzmann 温度因子。

维持长度 P (the persistence length) 是描述 WLC 模型延伸力的特征长度^[32]。 L 为平均键长。

$$P = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{L}{1-\beta} \quad (5)$$

维持长度 P 是键长在聚合物链的单位矢量上投影的矢量和。从本质上来说, P 是描述聚合物在解聚前、在给定的方向上延伸了多远。

3 影响 DNA 环化的因素

3.1 短 DNA 片段的长度会影响其 J 因子的大小

随着 DNA 长度的减少, J 因子也会相应减少, 这意味着 DNA 更不易成环。当 DNA 长度小于 400 bp 时, J 因子数值会急剧变化。大于 400 bp 的 DNA 片段的 J 因子则变化不明显。这主要反应了 DNA 的环化受其本身柔韧性的影响。对于长度愈

来愈小的片段来说, 它们的柔韧性表现得就愈突出^[15] (图 2A)。

3.2 扭转力对 J 因子的影响

无论 DNA 末端是粘性的还是平末端, DNA 片段的连接过程都是慢慢的过程。在具体的实验过程中, 片段末端的扭转方向会对短 DNA 片段 J 因子的数值有很大的影响。在闭合 DNA 环中, 如果 DNA 形成超螺旋, 就会使 DNA 环产生额外的扭转力。此力是产生 J 因子波动的根本原因。这个力会使 J 因子随着片段长度的变化而变化 (图 2C)。变化的幅度与 DNA 螺旋重复数相对应。螺旋重复数是与 DNA 序列有关的, 因此, 它可以被视为在 J 因子分析中的一个可以调节的参数^[15]。

当 DNA 片段的长度在 10.5 bp 之间变化时, J 因子会有波动 (图 2B)。

J 因子摆动的周期与 DNA 双螺旋的螺旋周期是相对应的^[15]。从图中可以看出 196~206 bp 约为一个螺旋的长度, 正好是 J 因子的一个摆动周期。空心圆代表实验数据, 实线是理论计算的平均值。从图中可见理论计算和实验结果可以较好地吻合。

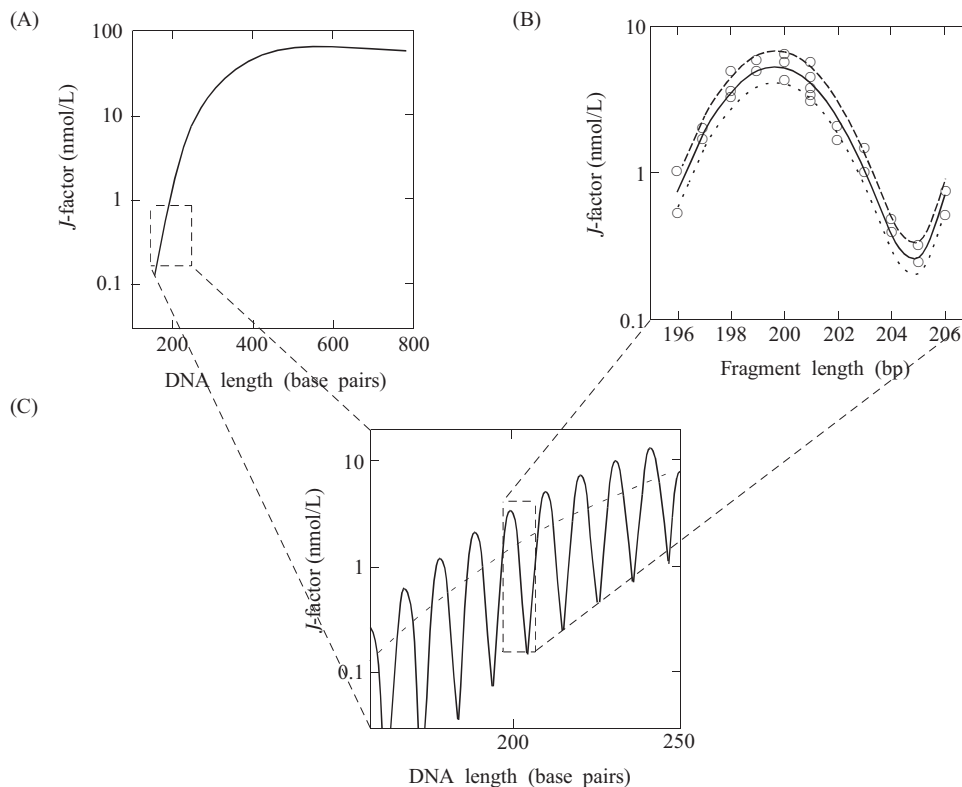


Fig.2 (A) The J -factor for DNA fragments as a function of their length; (B) The J -factor for middle DNA length; (C) The J -factor for small DNA fragments^[15]

3.3 DNA 的维持长度 P

P 很小的改变也会使 J 因子产生较大的变化。当 DNA 长度为 200 bp 时, 维持长度 P 改变 2% (49.5~50.5), 则 J 因子值变化了 25%^[15], 如图 3。

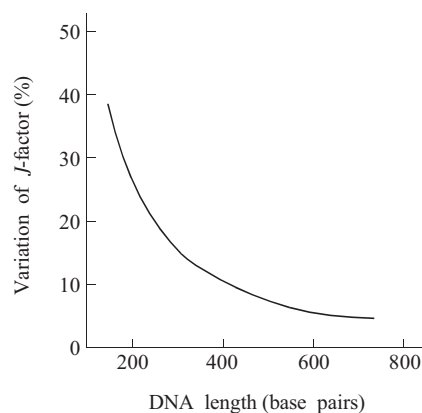


Fig.3 Variation of J -factor for short DNA fragments resulting from a small change of DNA persistence length^[15]

3.4 连接酶的浓度对 J 因子的影响

J 因子会随着酶的浓度变化而改变^[22], 对于较短的 DNA 片段来说的, J 因子数值变化的幅度会比较大。对于较长的 DNA 片段, J 因子数值也会增加, 但幅度要小 (图 4)。

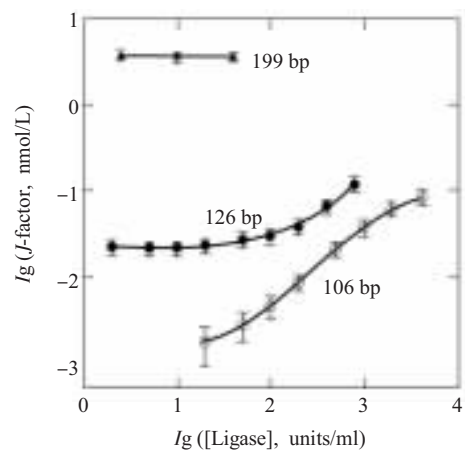
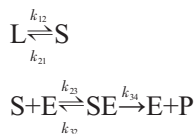


Fig.4 Measured values of J -factors as a function of ligase^[22]

J 因子的大小随着连接酶的浓度变化而变化, 所以需要进一步分析 DNA 环化反应的步骤。DNA 环化反应有三个反应过程^[22]: 线性 DNA 片段变成带有粘性末端的单聚体形式和双聚体形式, 底物和连接酶反应生成酶和底物的复合物, 底物和酶的复合物分解为反应产物和酶。



L 代表线性 DNA 片段, E 代表连接酶, S 代表连接酶的底物, SE 为底物与连接酶的复合物, P 为反应产物。 S 可以认为是带有粘性末端的单聚体形式和二聚体形式。但只有当 $K_{21} \gg K_{23}$ 时, 才可以用 $2K_1/K_2$ 来分析 J 因子。即底物分解的速率要比连接酶与粘性末端的其中一个末端相连的速率要大得多。那么在这种条件下, 产物积累的速率才会与连接酶的浓度成正比。反过来, $K_{21} \ll K_{23}$ 时, 则产物积累速率与连接酶浓度就不成比例了。因为粘性末端初次结合就完成了连接。酶浓度的增加会提高 DNA 片段环化的速率 K_1 ^[22] (图 5A)。

当连接酶浓度增加到一定的值时, 连接酶浓度对于 DNA 双聚化速率 K_2 影响不明显^[22] (图 5B)。

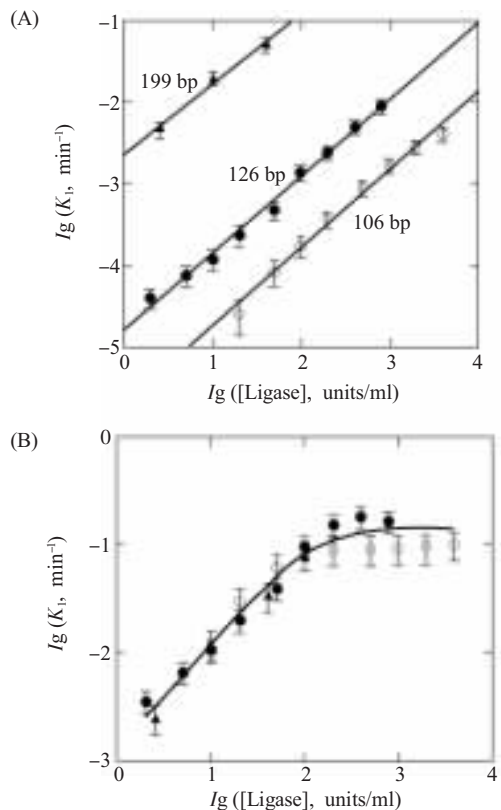


Fig.5 (A) The rate constants of cyclization (K_1) as a function of ligase; (B) The rate constants of dimerization (K_2) as a function of ligase^[22]

以各图的数值为基础可以用 $J = 2K_1/K_2$ 来解释 J 因子为什么会随着酶的浓度变化而改变。当连接酶浓度在 100 units/ml 以下时, 随着酶浓度的增

加, K_1 和 K_2 都在变大, 所以 J 因子数值的变化不是很大。但是当连接酶浓度达到 100 units/ml 以上时, 随着酶浓度的增加, K_1 在变大, K_2 基本保持不变, 所以 J 因子 ($J=2K_1/K_2$) 变化的幅度就很大。

DNA 环化反应中用的连接酶浓度过小会影响最小的 DNA 片段成环, 因为在连接酶失活前, 产生的小环数量很少。另一方面, 因为单聚环的 K_{21} 要比双聚环 K_{21} 大很多倍, 所以 K_1 (the rate of fragment cyclization) 和 K_2 (the rate of dimerization) 可以分开在不同的实验中测定, 其中 K_1 可以用比较高的连接酶浓度来测量。因此 J 因子也可被认为是 DNA 片段环化 K_1 和双聚化 K_2 的比率即 $J=2K_1/K_2$ 。这个公式和 J 因子理论计算的公式有所不同。它要求连接酶的浓度和活力要精确测定。所以, 这种方法会增加实验的工作量和误差。采用在大体积反应体系和电泳前浓缩反应物可以减少上述误差^[22]。

4 对于 DNA 环化理论的挑战

DNA 的小角度弯曲常见于原核的基因控制和真核核小体以及病毒的包装中。很多人认为这一现象是由蛋白质通过大力弯曲 DNA 而产生的, DNA 本身并不能容易地自发成环, 但 Widom 等的最新研究成果却提出了相反的观点。Widom 等^[33]指出 89~105 bp DNA 环的内在扭曲性比理论值高出 400 倍。原因不是它们本身有永久的弯曲, 而是 DNA 的柔性被极大地提高了。通过实验结果得出, 随机 DNA 环化要比目前 DNA 弯曲理论推测的结果容易 100~10 000 倍, 而且位于核小体的 DNA 序列环化就更容易 100 000 倍^[33]。说明 DNA 自身具有比传统观点所认为的更大的柔韧性。

在环化实验中, 具有互补末端的 DNA 片段很快形成非共价连接的互补环和线状寡聚物平衡的形式。Widom 等认为连接酶浓度对于 DNA 的环化过程并没有影响; 在没有连接酶的体系中, DNA 结构上的改变引起两个粘性末端自发地进行短暂的配对。Widom 等的 5 个样品的 J 因子数值都比经典理论计算的数值要大, 而且要大几个数量级 (图 6A)。图 6 的理论假设是只有当 DNA 连接末端以 0 度接触角接近时, 连接才能进行。Widom 等认为这个条件过于局限, 所以算出的 J 因子的值比较小^[1]。但是 Shimada-Yamakawa 理论^[17]

(图 6B) 允许相反的限制: 在连接末端的接触角上没有任何限制。在图 6B 中, 使用 DNA 维持长度 $P=50$ nm 时, 预期的 J 因子接近但是还不能和 94 bp DNA 的数据吻合, 然而对于长片段则过高估计了 J 因子。使用一个较大的维持长度 $P=55$ nm, 这个理论对于长 DNA 的 J 因子勉强适合, 但是离 94 bp DNA 的实验数据偏离得更远了。这说明这个理论同样与数据不吻合。尽管它的假设前提很宽松, 允许连接反应在没有角度限制的情况下进行, 但还是不能解释 94 bp DNA 的数据^[1]。所以 widom 等认为要有更新的关于 DNA 成环的理论来解释这个很惊人的现象。

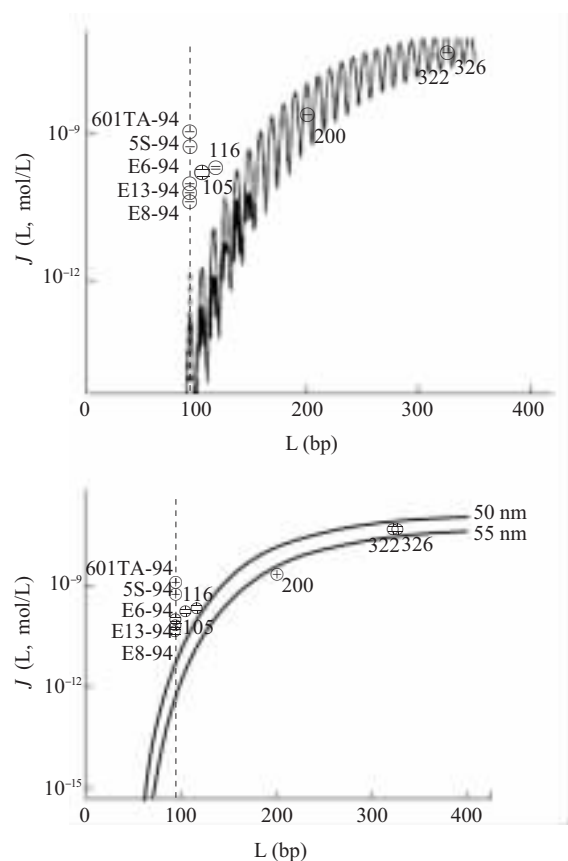


Fig.6 (A) Measured J factor greatly exceed theoretical predictions; (B) Theoretical prediction for cyclization with no constraints on angles of end-end joining^[1]

Vologodskii 等^[22]重新研究了 105~130 bp 长度的 DNA 片段的环化效率。他们发现实验结果和 Widom 等的结果有很大的出入。他们认为这些片段的环化效率没有偏离基于 WLC 理论的预测数值。他们发现 100 bp DNA 片段的 J 因子数值和 WLC 的理论计算数值非常一致, 并且指出 Widom 等的结果和他们的不同, 是因为过高的连接酶浓度的影响。为了测定 J 因子, 粘性末端的连接率必须

慢于解离率。尽管 Widom 等认为他们在研究短 DNA 片段单分子环化时连接酶浓度是合理的,但是 Vologodskii 等指出他们没有注意到对于在 DNA 片段双聚化时同样的粘性末端所对应的连接酶浓度的过高。在 Widom 等的研究中,他们的 GGCC 粘性末端是更稳定的,因此它们的解离率从本质上说是更慢的^[2]。DNA 片段环化构象的弹性力应该加速解离的过程,然而事实上,粘性末端 GGCC 的熔化温度比 AGTC 的要高 20 度左右。他们的分歧还有待于后续的研究才能更好地解释 DNA 环化效率的高低。

5 展 望

Widom 等人的实验证实了 DNA 具有很好的柔韧性——94 bp 的 DNA 序列可以自发成环。由于研究中的 DNA 是随机成环的,没有蛋白质的介入,它与蛋白质诱导的 DNA 急剧弯曲不同。DNA 自发急剧成环的发现能够合理地解释基因调控中一些自相矛盾的观点。DNA 通过环化作用增加局部基因调节蛋白的浓度对基因调节具有重要作用,然而,先前的理论认为 DNA 的韧性较强,导致其不足以自发成环,无法行使上述基因调节的功能^[9]。对于这个自相矛盾的理论,以前的解释是体内 DNA 由于特异性蛋白质的作用克服了 DNA 弯曲的实现^[9]。然而实验结果却说明了这些 DNA 成环可以自发发生。随后人们又预想 DNA 的自发成环将极大地增加调节蛋白的浓度,既然这个浓度大大超过了调节蛋白的经典浓度^[4,34],所以 DNA 的自发成环大大地增加了调节蛋白结合的程度和速率。

94 bp DNA 的自发成环及它们超出经典理论计算的 J 因子表明 DNA 成环的结构可以用很小的能量来稳定。在测量 J 因子中,当一个给定的 DNA 环化成 10 nm 大小的头对尾的环时,可以估算出来其反应平衡常数以及相应的自由能的损失^[9]。94 bp 的 DNA 片段测量的 1.1 nmol/L 的 J 因子等同于 8 cal/mol 或更少的自由能。这么少的能量消耗可以通过蛋白质与 DNA 仅仅形成几个离子键或疏水键而实现。基于这个基础,可以推测可急剧弯曲的 DNA 和蛋白质的复合物可以通过很小的蛋白质和 DNA 的相互作用而得到稳定。

随机 DNA 序列具有重要的永久弯曲结构和 DNA 弯曲在急剧弯曲领域还不能用现有的理论所解释,是由理论推导出的结论和实验结果之间产生

差异的主要原因。Widom 等根据其实验结果认为现有的证据不支持 DNA 序列具有永久弯曲结构这种解释,更重要的是永久弯曲结果不能解释 DNA 扭曲性极大的增加^[33]。因此,需要一种 DNA 急剧弯曲成环的新理论来解释所得的实验结果。与理论值相比变大的 J 因子说明,既然 DNA 出现了更急剧的弯曲,它肯定是找到了一种比现有理论更加减少能量消耗的办法。DNA 在高分辨率核糖体晶体结构^[9]中与众不同的局部扭曲的发现,可能早就预示着 DNA 这种弯曲行为的存在。更进一步说,理论和实验结果的分歧也许代表了机械弹性理论线性近似法的失败。也许这种理论是从别的 DNA 序列中得来,或是它适用于完全不同的 DNA 弯曲模型,例如 DNA 局部锁定。对这种急剧成环 DNA 的结构分析应进行进一步的实验分析。

J 因子的增大会伴随着相应成环速率的变大。在 Brownian 的 DNA 成环的动力学模拟中,随机成环速率大的 DNA 比弯曲维持长度 P 小的 DNA 更容易出现在细胞的基因调节过程之中。在研究 DNA 弯曲的领域中,此种动力学模拟适用于线性杆模型^[7]。实验的结果说明这些环会很快地形成。在调节系统中一个更快的成环速率对于成环中减少随机噪声是非常重要的^[35]。

不同 DNA 序列的成环能力差别说明成环 DNA 的序列在进化过程中会发生改变。考虑到蛋白质和 DNA 以及蛋白质和蛋白质之间结合的亲和力,一个整体复合物结构的稳定会有一个必需的区间。基于此,可以认为有一种新的基因突变——突变改变的是环化 DNA 的蛋白质结合位点以外的序列。此突变将会通过 DNA 序列的改变对成环 DNA 内部本身弯曲能力产生重要影响,极大地影响基因的激活或者沉默能力。

不同 DNA 序列弯曲能力的差异可以定量地说明核小体的定位能力的变化。也就是说可以解释核小体优先在哪个 DNA 序列上先形成环^[1]。

在体内研究中,Widom 等的实验结果——短片段 89~105 bp 的 DNA 急剧弯曲成环说明:本质上任何 DNA 都有能力形成环状的复合物,而且不同序列 DNA 的弯曲和扭曲性对于 DNA 复合物稳定性的贡献也相差很大。随着对 DNA 急剧成环研究的深入,扩大 DNA 环化的研究领域就是一个更加有趣的工作了。虽然到现在为止,DNA 急剧成环的研究更多的是在原核生物中开展,但是最近有研究表明依赖于鼠 RXR 受体影响的配体 DNA 的

环化可以用来识别基因组上的 172 位点^[33]。这项研究表明在真核系统中成环的基因调节复合物可能比想象的更常见,对真核生物更重要。

综上所述,DNA 环化实验对于 DNA 急剧弯曲结构的研究是非常灵敏的^[36]。通过对短 DNA 片段环化的研究,可以了解 DNA 本身的柔韧性,进而探索结合蛋白在基因表达、调控中的作用和 DNA 弯曲在核小体中的作用。

参考文献:

- [1] Cloutier TE, Widom J. Spontaneous sharp bending of double-stranded DNA. *Cell*, 2004,14:355~362
- [2] Gralla JD. Transcription control lessons from an *E.coli* promoter data base. *Cell*, 1991,66:415~418
- [3] Schleif R. DNA looping. *Annu Rev Biochem*, 1992,61:199~223
- [4] Rippe K, von Hippel PH, Langowski J. Action at a distance: DNA-looping and initiation of transcription. *Trends Biochem Sci*, 1995,20:500~506
- [5] Blackwood EM, Kadonaga JT. Going the distance: a current view of enhancer action. *Science*, 1998,281:60~63
- [6] Zeller RW, Griffith JD, Moore JG, Kirchhamer CV, Britten RJ, Davidson EH. A multimerizing transcription factor of sea urchin embryos capable of looping DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995,92:2989~2993
- [7] Su W, Jackson S, Tjian R, Echols H. DNA looping between sites for transcriptional activation: self-association of DNA-bound Sp1. *Genes Dev*, 1991,5:820~826
- [8] Yasmin R, Yeung KT, Chung RH, Gaczynska ME, Osmulski PA, Noy N. DNA-looping by RXR tetramers permits transcriptional regulation "at a distance". *J Mol Biol*, 2004,343:327~338
- [9] Richmond TJ, Davey CA. The structure of DNA in the nucleosome core. *Nature*, 2003,423:145~150
- [10] Lu Q, Wallrath LL, Elgin SC. The role of a positioned nucleosome at the *Drosophila melanogaster* hsp26 promoter. *EMBO J*, 1995,14:4738~4746
- [11] Schild C, Claret FX, Wahli W, Wolffe AP. A nucleosome-dependent static loop potentiates estrogen-regulated transcription from the *Xenopus vitellogenin B1* promoter *in vitro*. *EMBO J*, 1993,12:423~433
- [12] Crothers DM, Drak J, Kahn JD, Levene SD. DNA bending, flexibility, and helical repeat by cyclization kinetics. *Methods Enzymol*, 1992,212:3~29
- [13] Shore D, Langowski J, Baldwin RL. DNA flexibility studied by covalent closure of short DNA fragments into circles. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981,78:4833~4837
- [14] Taylor WH, Hagerman PJ. Application of the method of phage T4 DNA ligase-catalyzed ring-closure to the study of DNA structure. II. NaCl-dependence of DNA flexibility and helical repeat. *J Mol Biol*, 1990,212:363~376
- [15] Vologodskii M, Vologodskii A. Contribution of the intrinsic curvature to measured DNA persistence length. *J Mol Biol*, 2002,317:205~213
- [16] Hagerman PJ, Levene SD. DNA bending, flexibility, and helical repeat by cyclization kinetics. *Annu Rev Biophys Chem*, 1988,17:265~286
- [17] Shimada J, Yamakawa H. Ring-closure probabilities for twisted wormlike chains. Application to DNA. *Macromolecules*, 1984,17:689~698
- [18] Zhang Y, Crothers DM. High-throughput approach for detection of DNA bending and flexibility based on cyclization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,100:3161~3166
- [19] Moroz JD, Nelson P. Entropic elasticity of twist-storing polymers. *Macromolecules*, 1998,31:6333~6347
- [20] Bryant Z, Stone MD, Gore J, Smith SB, Cozzarelli NR, Bustamante C. Structural transitions and elasticity from torque measurements on DNA. *Nature*, 2003,424:338~341
- [21] Shore D, Baldwin RL. Energetics of DNA twisting 1. Relation between twist and cyclization probability. *J Mol Biol*, 1983,170(4):957~981
- [22] Quan D, Smith C, Shiffeldrim N, Vologodskia M, Vologodskii A. Cyclization of short DNA fragments and bending fluctuations of the double helix. *PNAS*, 2005,120(15):5397~5402
- [23] Zhang Y, Crothers DM. Statistical mechanics of sequence-dependent circular DNA and its application for DNA cyclization. *Biophys J*, 2003,84:136~153
- [24] Bensimon D, Dohmi D, Mezard M. Stretching a heteropolymer. *Europhys letters*, 1998,42:97~102
- [25] Nelson P. Sequence-disorder effects on DNA entropic elasticity. *Phys Rev Letters*, 1998,80:5810~5812
- [26] Katritch V, Vologodskii A. The effect of intrinsic curvature on conformational properties of circular DNA. *Biophys J*, 1997,72:1070~1079
- [27] Podtelezchnikov AA, Mao C, Seeman NC, Vologodskii AV. Multimerization-cyclization of DNA fragments as a method of conformational analysis. *Biophys J*, 2000,79:2692~2704
- [28] Schellman JA, Harvey SC. Static contributions to the persistence length of DNA and dynamic contributions to DNA curvature. *Biophys Chem*, 1995,55:95~114
- [29] Yan J, Marko JF. Localized single-stranded bubble mechanism for cyclization of short double helix DNA. *Phys Rev Lett*, 2004,93:108~109
- [30] Wiggins PA, Phillips R, Nelson PC. Exact theory of kinkable elastic polymers. *Phys Rev E*, 2005,71:021909-1~021909-19
- [31] Bustamante C, Marko J, Siggia E, Smith S. Entropic elasticity of lambda-phage DNA. *Science*, 1994,265:1599~1600
- [32] Yamakawa H. In Helical Wormlike Chains in Polymer Solutions. New York: Springer, 1997
- [33] Cloutier TE, Widom J. DNA twisting flexibility and the

- formation of sharply looped protein-DNA complexes. *PNAS*, 102(10):3645~3650
- [34] Merlitz H, Rippe K, Klenin KV, Langowski J. Looping dynamics of linear DNA molecules and the effect of DNA curvature: a study by Brownian dynamics simulation. *Biophys J*, 1998,74:773~779
- [35] Vilar JMG, Leibler S. DNA looping in gene regulation: from the assembly of macromolecular complexes to the control of transcriptional noise. *J Mol Biol*, 2003,331:981~989
- [36] Quan D, Vologodskaya M, Kuhn H, Frank-Kamenetskii M, Vologodskii A. DNA and cyclization of short DNA fragments. *Biophys J*, 2005,88:4137~4145

THE FLEXIBILITY OF SHARPLY BENT DNA

YANG Kun, HOU Sen, FENG Xi-zeng

(The Key Laboratory of Bioactive Materials Ministry of Education, Institute for Molecular Biology, College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: DNA sharply bending is essential for gene regulation as well as the package of nucleosomes and viruses. The major process to study DNA instinctive flexibility is DNA cyclization assay. Up to date, many new models have been developed for DNA cyclization research. And the best one is the worm-like chain model. With the deep development in this field, there are lots of advanced progress in important parameters about DNA cyclization assay, factors that influence DNA cyclization and DNA sharp bending field.

Key Words: DNA sharp bending; J factor; DNA persistence length P ; DNA flexibility

This work was supported by a grant from The National Natural Sciences Foundation of China (90403140)

Received: Dec 26, 2005

Corresponding author: FENG Xi-zeng, Tel: +86(22)23507022, E-mail: xzfeng@nankai.edu.cn