

## 特邀综述

## 单分子磁镊旋转操控和基因转录调控动力学\*

张志鹏<sup>1)2)</sup> 刘帅<sup>1)2)</sup> 张玉琼<sup>1)2)</sup> 熊影<sup>2)3)</sup>韩伟静<sup>2)</sup> 陈同生<sup>1)</sup> 王爽<sup>2)3)†</sup>

1) (华南师范大学生物光子学研究院, 广州 510631)

2) (松山湖材料实验室, 东莞 523808)

3) (中国科学院物理研究所, 北京 100190)

(2023年7月4日收到; 2023年8月15日收到修改稿)

基因转录调控是生命体调节基因表达的重要过程, 是保证遗传信息可控传递和维持基因组稳定性的关键步骤. 单分子技术的发展为分子水平上探索基因转录调控动力学机制提供了新的研究范式, 有力地推动了基因转录调控规律方面的研究进展. 本文着重介绍了依据单分子磁镊旋转操控技术发展起来的操控超螺旋 DNA 的技术, 借助超螺旋 DNA 的“放大”特点, 实现了对 DNA 双螺旋动态打开过程的高通量、单碱基精度的测量; 随后, 介绍了单分子磁镊旋转操控技术在基因转录调控动力学研究中的应用情况, 通过实时监测转录泡结构, 实现对转录起始、延伸和终止等阶段的动力学表征, 建立了一系列新的转录调控模型; 最后, 介绍了单分子磁镊旋转操控和单分子荧光成像技术联用方案, 为研究复杂体系中的基因转录调控动力学机制提供了新的范式和范例.

**关键词:** 单分子磁镊旋转操控技术, 超螺旋 DNA, 基因转录调控, 单分子动力学

**PACS:** 87.15.kj, 87.14.G-, 87.14.gk, 87.80.Nj

**DOI:** 10.7498/aps.72.20231089

## 1 引言

生物物理学是物理学与生命科学相互交叉的一个重要学科, 旨在运用物理学思维或方法解决生命现象中的物理学或生物学问题, 从物理学角度理解生命现象和规律, 推动物理学与生命科学共同发展.

20世纪50年代, 弗朗西斯·克里克、詹姆斯·沃森、罗莎琳德·富兰克林等物理学家发现脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 生命体的遗传物质<sup>[1,2]</sup>, 承载着遗传信息, 开启了在分子水平上从物理学角度理解生命现象和规律的新学科——分

子生物物理学. 在此基础上, 进一步提出了分子生物学中心法则 (central dogma of molecular biology)<sup>[3]</sup>, 阐述了分子水平上遗传信息传递的方向性, 指出了生命现象中的若干重要生命过程, 包括 DNA 复制——负责遗传信息的自身扩增, 基因转录和翻译——负责遗传信息从 DNA 到 RNA 再到蛋白质的传递规律, 奠定了分子水平上理解生命现象的基础, 成为了分子生物物理学的重要组成部分.

法国生物学家雅克·莫诺, 首次发现了大肠杆菌体内的某些蛋白质受其他蛋白质表达水平调控的现象<sup>[4,5]</sup>, 建立了蛋白质参与调节基因转录的分子模型, 并提出了基因转录过程以信使 RNA (messenger RNA) 为媒介来实现蛋白质的表达, 这

\* 国家自然科学基金 (批准号: 12004420, 32071228, 12004271, 12274308, 62135003)、中国科学院战略先导科技专项 (B类)(批准号: XDB37000000)、中国科学院青年创新促进会 (批准号: 2021009)、广东省重点领域研发计划 (批准号: 21202107221900001, 2022B0303040003) 和广东省基础与应用基础研究基金 (批准号: 2019A1515110186) 资助的课题.

† 通信作者. E-mail: [shuangwang@iphy.ac.cn](mailto:shuangwang@iphy.ac.cn)



王爽, 中国科学院物理研究所副研究员. 2008 年于吉林大学获得材料物理学学士学位, 2014 年于中国科学院物理研究所获得凝聚态物理博士学位. 2015 年至 2019 年在法国法国雅克莫诺研究所 (Institut Jacques Monod) 和巴黎高等师范学院 (Ecole Normale Supérieure) 从事博士后研究. 目前主要研究方向是基因转录调控的单分子动力学, 相关研究成果发表在 *Nat. Commun.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 和 *Nucleic Acids Res.* 等期刊, 主持国家自然科学基金项目 2 项, 中国科学院青年创新促进会项目 1 项.

一观点既印证了分子生物学中心法则, 也推动了分子水平上基因转录调控研究的发展. 随后, 人们借助多学科研究方法探索基因转录调控相关的动力学过程, 包括运用 X 射线衍射 (X-ray diffraction, XRD) 或冷冻电子显微镜 (cryogenic electron microscopy, cryo-EM) 方法解析基因转录过程关键蛋白质——RNA 聚合酶 (RNA polymerase, RNAP) 及其与其他生物大分子形成的复杂复合物的三维结构<sup>[6–10]</sup>、应用传统生物化学方法检测基因转录调控相关的生物大分子的生物学功能<sup>[11–14]</sup>、以及应用单分子方法解析基因转录调控相关生物大分子的运行机制<sup>[15–20]</sup>等, 从多学科角度建立了基因转录调控相关的分子机制和模型, 深化了对基因转录调控规律的理解.

## 2 单分子磁镊旋转操控技术

单分子方法是近些年发展起来的物理学方法<sup>[21,22]</sup>, 通过实时观测单个生物大分子的运动学行为、微观结构变化以及随时间和空间的演变等物理学参量, 来刻画生命现象和过程, 为揭示生命的奥秘提供分子动力学方面的实验依据. 单分子技术分为单分子力学操控技术和单分子荧光成像两大类. 其中单分子力学操控技术包括磁镊 (magnetic trap)<sup>[23–25]</sup>、光镊 (optical trap)<sup>[26–28]</sup> 和原子力显微镜 (atomic force microscopy)<sup>[29–31]</sup> 等技术, 这些操控技术通常以微球或探针等为媒介标记生物大分子, 借助磁场、光场或原子间相互作用来操控生物大分子, 通过测量生物大分子的末端距离, 来表征生物大分子微观结构变化的信息, 从而可以用来研究生物大分子之间相互作用所引起的微观结构变化, 以及受外力调控和响应等. 单分子荧光成像技术通过对感兴

趣的生物大分子标记荧光探针, 再利用多种显微成像技术对荧光探针进行成像, 进而追踪生物大分子随时间和空间分布的信息, 该类技术包括单分子荧光共振能量转移技术 (single-molecule Förster resonance energy transfer, smFRET)<sup>[32–34]</sup>、单分子荧光共定位技术 (colocalization single-molecule spectroscopy, CoSMoS)<sup>[35,36]</sup> 和高分辨成像技术 (super-resolution imaging, SRI)<sup>[37–39]</sup> 等. 单分子荧光成像技术适用于离体和原位测量生物大分子的时空分布. 单分子技术是探索生物大分子之间相互作用关系的有力研究手段, 并且单分子力学操控技术和荧光成像技术可以联合使用, 同步观测生物大分子复合物的力学相互作用和各分子组分随时间或空间分布等信息, 为了研究复杂生物大分子体系的运行机制提供更加全面的信息<sup>[40–42]</sup>.

如图 1 所示, 单分子磁镊技术以微米级的超顺磁性微球 (后文简称为磁球) 为媒介, 借助生物素——链霉亲和素或地高辛——抗地高辛等抗原抗体相互作用, 把生物大分子 (一般是 DNA) 的一端连接磁球, 另一端连接在微流体样品池的玻璃表面<sup>[21,43]</sup>. 通过施加磁铁来对超顺磁性微球施加拉力, 其受力方向沿磁场梯度方向, 拉力范围在零点几至上百皮牛 (pN, piconewton,  $1 \text{ pN} = 10^{-12} \text{ N}$ ), 涵盖了生物体内许多力学相互作用尺度, 适用于诸多生物大分子之间力学相互作用的研究<sup>[44–47]</sup>. 磁镊的测量精度决定于磁球的定位精度, 受拉力大小的影响, 拉力越大, 精度越高, 甚至达到亚纳米精度. 磁镊能够同时操控视野里的所有磁球样品, 数目可达到 100 以上, 具备高通量测量的优势. 此外, 磁镊也可以通过旋转磁铁来旋转磁球进而旋转所连接的生物大分子, 实现对生物分子的旋转操控.

DNA 作为生命的遗传物质, 其所承载的遗传信息在复制和传递等过程中, 涉及到 DNA 结构改

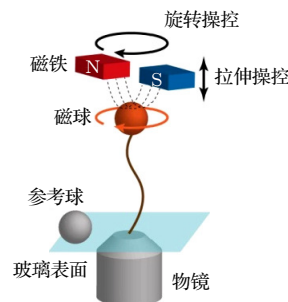


图 1 单分子磁镊操控技术示意图

Fig. 1. Schematic for single-molecule magnetic trap.

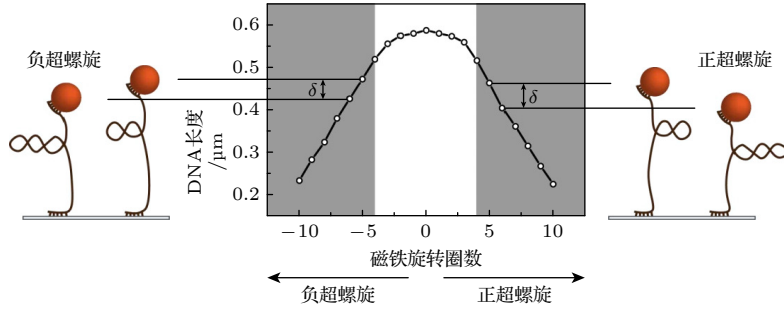


图 2 单分子磁镊旋转操控 DNA 超螺旋

Fig. 2. Manipulation of DNA supercoils via single-molecule magnetic trap.

变. 生理条件下, 基因组 DNA 是处于负超螺旋状态的, 负超螺旋是沿着 DNA 右手螺旋的反方向旋转 DNA 而形成, 反之, 则形成正超螺旋 DNA. 人们研究了旋转操控对 DNA 结构的影响和调控, 探索生理条件下超螺旋 DNA 的力学性质. 借助单分子磁镊技术通过旋转磁铁来旋转操控磁球, 进而操控 DNA 形成正或负超螺旋, 再通过改变拉力来测量超螺旋 DNA 长度变化, 解析了超螺旋 DNA 的力学性质, 发现增大拉力可以使负超螺旋 DNA 变性, 即 DNA 双螺旋被打开 [45,48]. 单分子磁镊技术可以对 DNA 施加可控的超螺旋和拉力, 是模拟生理条件下 DNA 超螺旋结构简单有效的研究方法.

超螺旋 DNA 具有一种测量精度“放大效应”. 当拉力  $F < 0.5$  pN 时, 通过旋转磁铁来操控线性 DNA, 如图 2 所示, DNA 长度随磁铁逆时针或顺时针旋转圈数的增加而减小, 并呈现出两段 DNA 长度线性变化区域 (灰色), 即 DNA 长度等比例地随磁铁旋转圈数发生变化, 说明在 DNA 上逐步形成均匀大小的超螺旋 [49]. 两段 DNA 长度线性变化区域左右对称, 其斜率在 50—60 nm/turn, 即单个超螺旋的尺寸. 若通过操控磁铁将 DNA 旋转状态调节到两个线性变化区域内, 在磁铁旋转圈数保持不变的情况下, 如果 DNA 双螺旋被打开, 则根据 (1) 式可以得出 DNA 的超螺旋数目会发生相应的变化:

$$\Delta Lk = \Delta Tw + Wr, \quad (1)$$

其中,  $\Delta Lk$  是环绕数 (linking number), 即磁铁旋转圈数, 当磁铁不旋转时,  $\Delta Lk = 0$ ;  $\Delta Tw$  是扭转数 (twist number), 即 DNA 双螺旋数目;  $Wr$  是缠绕数 (writhe number), 即 DNA 超螺旋数目. 若  $\Delta Tw = -1$ , 即打开 1 个自然螺旋, 由 (1) 式可以得出  $Wr = +1$ , 即产生 1 个正超螺旋, 那么从图 2 可以看到, 在负超螺旋的线性区域内将发生 DNA

长度增大, 而在正超螺旋的线性区域内将发生 DNA 长度减小, 其变化幅度  $\delta = 50\text{--}60$  nm. 在生理条件下, DNA 一般处于 B 型构象, 每一个自然螺旋的物理尺寸约为 3.4 nm, 包含 10.5 对碱基 (base pair, bp), 那么超螺旋 DNA 打开 1 对碱基将产生 5—6 nm 的长度变化, 即通过 DNA 超螺旋结构特性, 将 DNA 碱基对打开的长度变化从 0.34 nm 放大为 5—6 nm. 当拉力  $F = 0.3$  pN, DNA 长度为 2 kb (kilo base pair) 时, 超螺旋 DNA 的布朗涨落  $\sigma$  约为 40 nm, 涨落的特征时间  $\tau$  约为 0.1 s. 若数据采集时间为  $T$ , 则该测量时间内磁球的布朗涨落降低为  $\sigma/(T/\tau)^{1/2}$ . 若设定该值为 5 nm, 则得到  $T = 6.4$  s, 即时间分辨率为 6.4 s 时, 上述超螺旋 DNA 将给出单碱基的空间测量精度 [50]. 减小线性 DNA 长度, 可以在保证单碱基空间测量精度的同时, 提高时间分辨率 [51].

除了单分子磁镊旋转操控技术以外, 光镊也被用于实现对生物大分子的旋转操控研究中, 通过加工微纳米尺度的圆柱体来标记生物大分子, 借助线偏振光操控圆柱体旋转, 进而实现对生物大分子的旋转操控 [18]. 此外, 单分子操控技术也用于探索 DNA 的力学性质. 通过对单个 DNA 分子拉伸, 解析 DNA 长度随拉力而变化的关系, 发现 DNA 从普通的右手螺旋的 B 型结构向过拉伸的 S 型 DNA 结构转变 [44,52], 展示了拉力调控下的 DNA 相变规律等.

### 3 单分子磁镊旋转操控技术研究基因转录动力学

基因转录是分子生物学中心法则的重要步骤之一, 主要由蛋白质分子机器——RNAP 负责将蕴含在基因组 DNA 上的遗传信息转换成 RNA 序

列, 作为后续蛋白质翻译步骤的模板, 高效可控的基因转录过程不但决定了后续蛋白质的表达水平, 也影响着基因组的稳定性<sup>[53]</sup>. 转录过程中, RNAP 作用于基因组 DNA, 在其内部打开 DNA 双螺旋形成转录泡结构, 以其中一条 DNA 单链为模板开始合成 RNA, 实现遗传信息从 DNA 向 RNA 的传递. 随着 RNAP 沿基因组 DNA 进行一维运动, 转录泡和 RNA 合成位点也随之位移, 从而将完整的基因信息转变成 RNA 序列. RNAP 的运动行为, 包括与 DNA 作用产生的转录泡结构以及沿基因组 DNA 的一维运动等, 与其基因转录的生物学功能密切相关, 体现了转录分子机器的物理学行为和生物学功能的交叉耦合. 此外, 基因转录过程不仅包括基本的 RNAP/DNA 相互作用, 还涉及与转录调控因子和其他生命过程相关的生物大分子之间的相互作用, 例如与基因组上发生的复制过程的关键蛋白质——DNA 聚合酶 (DNA polymerase) 之间的相互作用等<sup>[54,55]</sup>.

### 3.1 转录起始动力学

基因转录过程一般分为起始、延伸和终止 3 个阶段, 每个阶段表现出不同的转录泡结构. 如前所述, 单分子磁镊操控的超螺旋 DNA 具备单碱基精度、高通量检测 DNA 双螺旋打开的功能, 因此, 尝试运用该方法通过测量转录泡的动态变化过程, 来研究转录各个阶段的运行机制.

在转录起始阶段, 一般认为 RNAP 搜索、识别并结合启动子 (promoter) 区域, 形成封闭复合物 (RNAP-promoter closed complex, RPc), 由于此过程中未打开 DNA 双螺旋结构, 因此超螺旋 DNA

长度无变化 (如图 3)<sup>[49]</sup>. 进一步, RNAP 特异性作用于启动子区域进而打开 DNA 双螺旋形成转录泡结构, 称为开放复合物 (RNAP-promoter open complex, RPo), 在负超螺旋 DNA 上表现为 DNA 长度增加约 50 nm, 而在正超螺旋 DNA 上表现为 DNA 长度降低约 80 nm. 两个数值存在差别, 说明引起 DNA 长度变化的因素除了 DNA 双螺旋打开还有 DNA 弯折, 进而得出 DNA 弯折引起 DNA 长度降低 15 nm, RPo 状态将打开 1.2 个 DNA 双螺旋, 即约 13 bp<sup>[49]</sup>. 真核体系中, TFIIH 因子负责解旋 6 个碱基的 DNA 双链, 对应超螺旋 DNA 长度变化约 30 nm, 随后招募真核 RNA 聚合酶, 形成开放复合物 RPo<sup>[56]</sup>.

随后, RNAP 尝试利用溶液中的核苷三磷酸 (nucleoside triphosphate, NTP) 开始合成 RNA, 表现为转录泡尺寸逐步增大. Revyakin 等<sup>[57]</sup> 运用单分子磁镊旋转操控方法, 依次增加 NTP 的种类, 在正、负超螺旋状态下都观察到了转录泡尺寸逐渐增大的现象, 称为转录起始复合物 (RNAP-promoter initiation complex, RPitc); 若提供全部 4 种 NTP, 则可以观察到转录泡尺寸从 RPo 状态持续增大, 随后突然减小到 1 个自然螺旋的大小, 说明 RNAP 进入转录延伸状态 (RNAP-DNA elongation, RDe), 直到转录泡最终恢复初始状态, 说明发生转录终止 (termination). 另外, 单分子荧光方法发现处于 RPitc 状态的 RNAP 的上游结构域与 DNA 位置固定不动, 而下游结构域与 DNA 之间发生相对位移, 位移程度随 NTP 种类增加而增大, 与单分子磁镊的结果一致, 共同证明了转录起始阶段的 DNA 蜷缩模型<sup>[57,58]</sup>. 这一模型也暗示, 下游

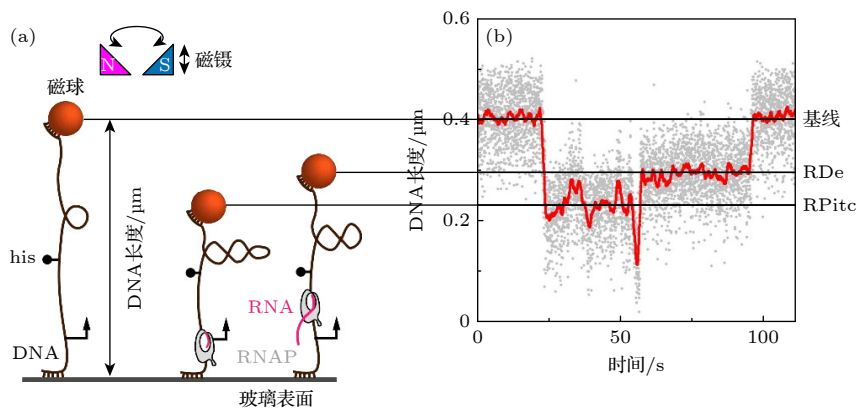


图 3 单分子磁镊旋转操控方法研究转录动力学 (a) 研究方法示意图; (b) 典型转录曲线 (起始 (RPitc)、延伸 (RDe) 和终止)

Fig. 3. Transcription kinetics characterized via single-molecule magnetic trap: (a) Schematic of the methodology; (b) a typical transcription trajectory showing initiation (RPitc), elongation (RDe) and termination.

DNA 打开并累积到 RNAP 内部的过程会导致 RNAP 内部的应力积累, 可能阻碍 RPitc 状态的 RNAP 向前运动, 而促使 RNAP 向后运动, 发生转录回溯现象 (backtracking). 为了证明这一可能性, Wang 等<sup>[59]</sup>运用单分子磁镊旋转操控方法实时追踪了转录起始的动力学过程, 观测到了一个区别于 RPitc 的 RNAP 状态, 其表现为转录泡尺寸缩小并持续相当长的时间, 说明 RNAP 发生了转录回溯, 并且该回溯状态的 RNAP 受 GreA 因子调控, 使其转录泡尺寸恢复到 RPitc 状态.

### 3.2 转录延伸动力学

RNAP 经历转录起始阶段的一系列中间态过程 (包括 DNA 蜷缩和转录回溯等) 后, 进入到转录延伸阶段, 持续地转录基因序列, 晶体结构结果显示延伸阶段的转录泡尺寸稳定在 10 bp 左右, 约等于 1 个自然螺旋大小<sup>[60]</sup>. 单分子磁镊旋转操控方法也适用于操控和测量转录延伸过程的转录泡尺寸, 并能够根据转录泡尺寸变化及相关的时间参量, 来解析转录延伸的动力学机制. Zhang 等<sup>[61]</sup>借助单分子磁镊旋转操控方法, 实时追踪了延伸阶段转录泡的动态变化过程, 发现转录泡尺寸与晶体结构的结果一致, 并且受转录因子 NusA 调控, 表现为延伸过程中转录泡尺寸增大约 2 bp, 而转录因子 NusG 抵消了 NusA 的这一效应, 说明 NusA 和 NusG 因子之间存在竞争相互作用, 这一结果与冷冻电镜结果一致<sup>[62]</sup>.

### 3.3 转录终止动力学

原核生命体系中的转录终止分为两大类: 内源性转录终止 (intrinsic transcription termination) 和外源性转录终止 (extrinsic transcription termination)<sup>[63]</sup>. 内源性转录终止依赖于基因组 DNA 上的终止子 (terminator) 特征序列实现, 无须额外蛋白质干预; 外源性转录终止则依赖于外源蛋白质的干预, 这与真核生命体系的情况一致. 在真核生命体系中, 转录终止均依赖于蛋白质干预来实现, 主要分为两大类<sup>[64]</sup>: poly(A) 依赖的转录终止过程, 由 poly(A) 信号和 Rat1/Xrn2 复合物共同执行; Sen1 依赖的转录终止过程, 由 Nrd1, Nab3 和 Sen1 等蛋白质复合物实现, 负责真核生命体内短非编码 RNA (short non-coding RNA) 的终止<sup>[65]</sup>. 值得一提的是, 人类体内存在与 Sen1 同源的蛋白质——

Senataxin (SETX), 具备类似的转录终止功能, 并且与人类中枢神经系统疾病密切相关<sup>[12]</sup>.

单分子磁镊旋转操控方法适用于多物种基因转录相关的研究, 除了上述介绍的原核体系的基因转录过程, 单分子磁镊旋转操控方法还适用于真核体系的转录过程研究. 2015 年, Fazal 等<sup>[66]</sup>运用单分子光镊方法研究的真核转录起始过程, 由于真核转录起始需要十多种转录因子辅助, 因此该研究体系的效率很低. 随后, Wang 等<sup>[67]</sup>构建了一种特殊的 DNA 泡结构, 克服了离体研究真核转录起始效率低的技术瓶颈, 将单分子磁镊旋转操控方法推广到真核转录研究体系, 实现了高通量、高精度研究真核转录的动力学研究. 由于该方法越过了真核转录起始过程, 因此仅适用于研究真核转录延伸和终止等阶段的动力学过程. 进一步, Wang 等<sup>[67]</sup>运用单分子磁镊旋转操控方法在体外实验中研究了 Sen1 依赖的转录终止过程, 发现 Sen1 通过扩散、识别并与 RNAP 形成相对稳定的中间态复合物来实现转录终止, 并解析了该转录终止过程中的动力学参数, 该研究为单分子磁镊旋转操控方法研究真核转录动力学提供了新的研究范例.

### 3.4 复杂体系的转录调控动力学

从空间分布考虑, 转录是基因组 DNA 上发生的一种生命过程, 除了与基因组 DNA 及相关转录因子之间发生相互作用外, 还不可避免地与其他发生在基因组 DNA 上的其他生命过程产生关联, 即与其他在基因组 DNA 上工作的蛋白质机器发生相互作用, 成为了一种相对复杂的基因转录调控方式. RNAP 与其他蛋白质分子机器相互作用广泛存在于生命体中, 涉及对复杂体系中多个蛋白质组分的结构变化、运动行为等参量的测量, 很难借助单一的研究方法实现.

为了解决复杂体系基因转录调控动力学研究的难题, 研究人员发展了单分子力学操控和单分子荧光成像技术联用研究平台<sup>[40,68-70]</sup> (如图 4), 通过实时观测转录泡的动态变化来追踪 RNAP 的转录动力学过程, 同时观测荧光标记的转录调控因子在时间和空间中的分布, 解析转录因子与 RNAP 之间的相互作用与转录动力学过程的关联. Graves 等<sup>[70]</sup>在体外实验中构建了转录关联 DNA 损伤修复 (transcription-coupled DNA repair, TCR) 的简化体系, 运用单分子磁镊旋转操控实时展示

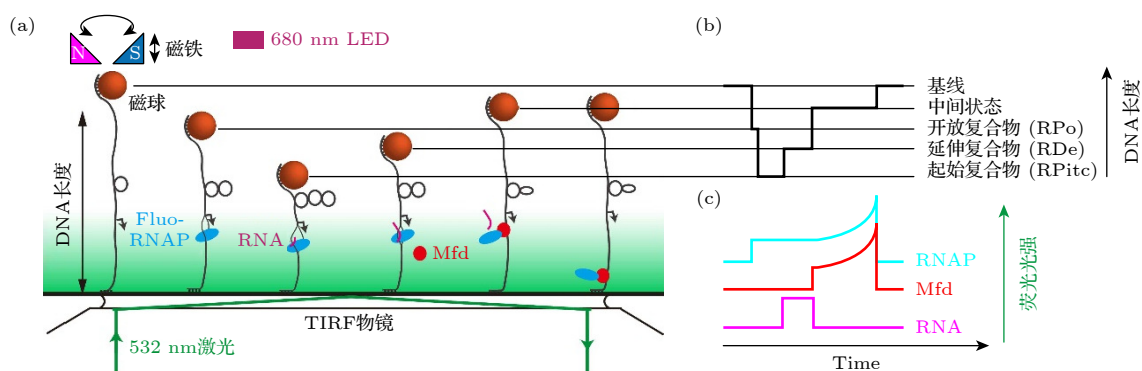


图 4 单分子磁镊操控技术和单分子荧光成像技术联用方案 (a) 方案示意图; (b) 磁镊监测转录动力学过程; (c) 单分子荧光方法同步观测 RNAP、Mfd 和 RNA 的时空分布<sup>[68]</sup>

Fig. 4. Schematic for combination of single-molecule magnetic trap and single-molecule fluorescence imaging: (a) Schematic of the assay; (b) transcription kinetics characterized via single-molecule magnetic trap; (c) simultaneous detection of RNAP, Mfd and RNA via single-molecule fluorescence assay<sup>[68]</sup>.

RNAP 转录的动态过程, 同时借助单分子荧光方法分别追踪该转录动态过程中 RNAP, RNA 和 Mfd(TCR 调控因子) 的动力学行为, 发现 RNAP 存在于整个转录调控过程中, RNA 仅存在于转录延伸阶段直到 Mfd 出现, Mfd 出现后与 RNAP 形成稳定的中间态复合物, 并沿 DNA 行走直至解离. 进一步, Fan 等<sup>[41]</sup> 引入 UvrA, UvrB 和 UvrC 等下游 TCR 调控因子, 运用单分子磁镊旋转操控和单分子荧光成像联用的方法, 研究了 TCR 调控过程中 Mfd 识别 RNAP 后的动力学行为, 发现 UvrAB 被快速招募并解离 Mfd/RNAP 复合物, 随后 UvrAB 保持结合在 Mfd/RNAP 解离位点 (即 DNA 损伤位置) 附近, 因而提高 UvrAB 搜寻 DNA 损伤的效率以及后续招募 UvrC 切除损伤等过程. 这两项研究详细阐述了 Mfd, UvrA, UvrB 和 UvrC 等与 RNAP 相互作用的动力学过程, 从单个分子水平探索了 TCR 调控机理, 为深入研究复杂生命过程中的分子机理提供了单分子尺度的研究范例, 是单分子磁镊旋转操控和单分子荧光成像联用的方法的重要应用.

## 4 结 论

本文主要介绍了单分子磁镊旋转操控技术研究基因转录调控动力学的方案. 单分子磁镊旋转操控技术通过实时监测转录泡的动态变化来表征转录调控的动力学过程, 具备单碱基测量精度和高的数据采集通量, 是研究基因转录调控动力学的有力研究手段. 其测量的时间精度受限于磁球涨落, 为

秒的量级, 这与一般生物反应的时间尺度相当, 但若能对该测量的时间精度进一步提高, 将能够更加精准地测量生物反应过程, 或有望对更加快速的生物反应过程进行观测. 原理上, 缩短超螺旋 DNA 长度可以增大 DNA 刚度, 从而降低磁球涨落, 进而提高其时间测量精度; 另外, 减小磁球尺寸也可以有效地降低磁球涨落, 进而提高时间测量精度. 此外, 其他提高时间精度的方案也有待开发. 单分子磁镊旋转操控技术与单分子荧光成像技术的联合使用策略, 将该研究手段的应用范围从简单体系拓展到了更为复杂的转录调控体系, 可以胜任多种类型因子调控下的基因转录动力学过程, 也适用于 DNA 双链打开和旋转相关的生物反应过程, 为理解复杂体系的生命现象和规律提供新的研究示例. 本文介绍了单分子磁镊旋转操控技术和单分子荧光成像方法的联合使用策略, 该策略可进一步增加单分子荧光照明和成像波段, 增加对复杂体系中更多组分的荧光成像, 实现同时观测复杂体系多个组分相互作用的功能. 并且介绍了若干单分子技术的应用示例, 该示例解决了生命科学领域里的一系列重要科学问题, 建立了新的转录调控模型, 为全面理解转录调控规律奠定了分子机制基础.

## 参考文献

- [1] Watson J D, Crick F H C 1953 *Nature* **171** 737
- [2] Watson J D, Crick F H C 1953 *Nature* **171** 964
- [3] Crick F 1970 *Nature* **227** 561
- [4] Monod J, Changeux J P, Jacob F 1963 *J. Mol. Biol.* **6** 306
- [5] Monod J, Wyman J, Changeux J P 1965 *J. Mol. Biol.* **12** 88
- [6] Zhang G, Campbell E A, Minakhin L, Richter C, Severinov

- K, Darst S A 1999 *Cell* **98** 811
- [7] Gnatt A L, Cramer P, Fu J, Bushnell D A, Kornberg R D 2001 *Science* **292** 1876
- [8] Chen X, Yin X, Li J, Wu Z, Qi Y, Wang X, Liu W, Xu Y 2021 *Science* **372** eabg0635
- [9] Chen X, Qi Y, Wu Z, et al. 2021 *Science* **372** eaba8490
- [10] Huang K, Wu X X, Fang C L, et al. 2021 *Science* **374** 1579
- [11] Komissarova N, Becker J, Solter S, Kireeva M, Kashlev M 2002 *Mol. Cell* **10** 1151
- [12] Skourti-Stathaki K, Proudfoot N J, Gromak N 2011 *Mol. Cell* **42** 794
- [13] Hazelbaker D Z, Marquardt S, Wlotzka W, Buratowski S 2013 *Mol. Cell* **49** 55
- [14] Kim S, Beltran B, Irnov I, Jacobs-Wagner C 2019 *Cell* **179** 106
- [15] Abbondanzieri E A, Greenleaf W J, Shaevitz J W, Landick R, Block S M 2005 *Nature* **438** 460
- [16] Chakraborty A, Wang D, Ebright Y W, et al. 2012 *Science* **337** 591
- [17] Howan K, Smith A J, Westblade L F, Joly N, Grange W, Zorman S, Darst S A, Savery N J, Strick T R 2012 *Nature* **490** 431
- [18] Ma J, Bai L, Wang M D 2013 *Science* **340** 1580
- [19] Koh H R, Roy R, Sorokina M, Tang G Q, Nandakumar D, Patel S S, Ha T 2018 *Mol. Cell* **70** 695
- [20] Rosen G A, Baek I, Friedman L J, Joo Y J, Buratowski S, Gelles J 2020 *Proc. Natl. Acad. Sci.* **117** 32348
- [21] Neuman K C, Nagy A 2008 *Nat. Methods* **5** 491
- [22] Roy R, Hohng S, Ha T J 2008 *Nat. Methods* **5** 507
- [23] Gosse C, Croquette V 2002 *Biophys. J.* **82** 3314
- [24] Cnossen J P, Dulin D, Dekker N H 2014 *Rev. Sci. Instrum.* **85** 103712
- [25] Huhle A, Klaue D, Brutzer H, Daldrop P, Joo S, Otto O, Keyser U F, Seidel R 2015 *Nat. Commun.* **6** 5885
- [26] Ashkin A, Dziedzic J M, Bjorkholm J E, Chu S 1986 *Opt. Lett.* **11** 288
- [27] Ashkin A, Dziedzic J M 1987 *Science* **235** 1517
- [28] Neuman K C, Block S M 2004 *Rev. Sci. Instrum.* **75** 2787
- [29] Rief M, Gautel M, Oesterhelt F, Fernandez J M, Gaub H E 1997 *Science* **276** 1109
- [30] Yu H, Siewny M G W, Edwards D T, Sanders A W, Perkins T T 2017 *Science* **355** 945
- [31] Jiao F, Cannon K S, Lin Y C, Gladfelter A S, Scheuring S 2020 *Nat. Commun.* **11** 5062
- [32] Ha T, Enderle T, Ogletree D F, Chemla D S, Selvin P R, Weiss S 1996 *Proc. Natl. Acad. Sci.* **93** 6264
- [33] Weiss S 1999 *Science* **283** 1676
- [34] Lerner E, Cordes T, Ingargiola A, Alhadid Y, Chung S, Michalet X, Weiss S 2018 *Science* **359** eaan1133
- [35] Friedman L J, Chung J, Gelles J 2006 *Biophys. J.* **91** 1023
- [36] Friedman L J, Gelles J 2015 *Methods* **86** 27
- [37] Thompson M A, Lew M D, Moerner W 2012 *Annu. Rev. Biophys. Biom.* **41** 321
- [38] Betzig E, Patterson G H, Sougrat R, Lindwasser O W, Olenych S, Bonifacino J S, Davidson M W, Lippincott-Schwartz J, Hess H F 2006 *Science* **313** 1642
- [39] Bates M, Huang B, Dempsey G T, Zhuang X 2007 *Science* **317** 1749
- [40] Seol Y, Neuman K C 2017 *Combined Magnetic Tweezers, Micro-mirror Total Internal Reflection Fluorescence Microscope for Single-molecule Manipulation and Visualization Single Molecule Analysis* (New York: Springer) pp297–316
- [41] Fan J, Leroux-Coyau M, Savery N J, Strick T R 2016 *Nature* **536** 234
- [42] Comstock M J, Whitley K D, Jia H, Sokoloski J, Lohman T M, Ha T, Chemla Y R 2015 *Science* **348** 352
- [43] Lionnet T, Allemand J F, Revyakin A, Strick T R, Saleh O A, Bensimon D, Croquette V 2011 *Cold Spring Harb. Protoc.* **2012** 133
- [44] Smith S B, Finzi L, Bustamante C 1992 *Science* **258** 1122
- [45] Strick T R, Allemand J F, Bensimon D, Bensimon A, Croquette V 1996 *Science* **271** 1835
- [46] Chen H, Yuan G, Winardhi R S, Yao M, Popa I, Fernandez J M, Yan J 2015 *J. Am. Chem. Soc.* **137** 3540
- [47] Guo Z, Hong H, Yuan G, Qian H, Li B, Cao Y, Wang W, Wu C X, Chen H 2020 *Phys. Rev. Lett.* **125** 198101
- [48] Strick T, Allemand J F, Bensimon D, Croquette V 1998 *Biophys. J.* **74** 2016
- [49] Revyakin A, Ebright R H, Strick T R 2004 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101** 4776
- [50] Revyakin A, Ebright R H, Strick T R 2005 *Nat. Methods* **2** 127
- [51] Yu L, Winkelman J T, Pukhrambam C, Strick T R, Nickels B E, Ebright R H 2017 *eLife* **6** e32038
- [52] Smith S B, Cui Y, Bustamante C 1996 *Science* **271** 795
- [53] Roeder R G 2019 *Nat Struct. Mol. Biol.* **26** 783
- [54] Pomerantz R T, O'Donnell M 2010 *Science* **327** 590
- [55] Merrikkh H, Machón C, Grainger W H, Grossman A D, Soutanas P 2011 *Nature* **470** 554
- [56] Tomko E J, Fishburn J, Hahn S, Galburt E A 2017 *Nat Struct. Mol. Biol.* **24** 1139
- [57] Revyakin A, Liu C, Ebright R H, Strick T R 2006 *Science* **314** 1139
- [58] Kapanidis A N, Margeat E, Ho S O, Kortkhonjia E, Weiss S, Ebright R H 2006 *Science* **314** 1144
- [59] Lerner E, Chung S, Allen B L, et al. 2016 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **113** 6562
- [60] Wang D, Bushnell D A, Huang X, Westover K D, Levitt M, Kornberg R D 2009 *Science* **324** 1203
- [61] Zhang Y, Han W, Wang L, Wang H, Jia Q, Chen T, Wang S, Li M 2023 *J. Phys. Chem. B* **127** 2909
- [62] Zhu C, Guo X, Dumas P, Takacs M, Abdelkareem M, Broeck A V, Saint-André C, Papai G, Crucifix C, Ortiz J, Weixlbaumer A 2022 *Nat. Commun.* **13** 1546
- [63] Ray-Soni A, Bellecourt M J, Landick R 2016 *Annu. Rev. Biochem.* **85** 319
- [64] Kim M, Vasiljeva L, Rando O J, Zhelkovsky A, Moore C, Buratowski S 2006 *Mol. Cell* **24** 723
- [65] Arndt K M, Reines D 2015 *Annu. Rev. Biochem.* **84** 381
- [66] Fazal F M, Meng C A, Murakami K, Kornberg R D, Block S M 2015 *Nature* **525** 274
- [67] Wang S, Han Z, Libri D, Porrua O, Strick T R 2019 *Nat. Commun.* **10** 1545
- [68] Klein H L, Ang K K, Arkin M R, et al. 2019 *Microbial. Cell* **6** 65
- [69] Wang S, Zheng H Z, Zhao Z Y, Lu Y, Xu C H 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 168703 (in Chinese) [王爽, 郑海子, 赵振业, 陆越, 徐春华 2013 物理学报 **62** 168703]
- [70] Graves E T, Duboc C, Fan J, Stransky F, Leroux-Coyau M, Strick T R 2015 *Nat. Struct. Mol. Biol.* **22** 452

INVITED REVIEW

# Rotation manipulation of single-molecule magnetic trapping and gene transcription regulation dynamics\*

Zhang Zhi-Peng<sup>1)2)</sup> Liu Shuai<sup>1)2)</sup> Zhang Yu-Qiong<sup>1)2)</sup> Xiong Ying<sup>2)3)</sup>Han Wei-Jing<sup>2)</sup> Chen Tong-Sheng<sup>1)</sup> Wang Shuang<sup>2)3)†</sup>1) (*College of Biophotonics, South China Normal University, Guangzhou 510631, China*)2) (*Songshan Lake Materials Laboratory, Dongguan 523808, China*)3) (*Institute of Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China*)

( Received 4 July 2023; revised manuscript received 15 August 2023 )

## Abstract

Gene transcription regulation is a key step for gene expression in all organisms and responsible for the transmission of genetic information and genome integrity. As one of the most important mechanisms in gene transcription, an RNA polymerase (RNAP) specifically interacts with and unwinds genome DNA to form a transcription bubble where a nascent RNA transcript is polymerized, taking one of the unwound DNA strands as its template. The RNAP translocates along the DNA to transcribe the whole gene by carrying the transcription bubble. In such a way, an RNAP completes its biological task of gene expression by physically acting as a molecular machinery. Thus, an RNAP molecule can be considered as a research object for physicists who are willing to uncover the mechanisms of life processes in a physical view. To achieve this, single-molecule method has been invented and used widely. As one of these methods, single-molecule magnetic trapping manipulates biological molecules by applying extension force or torque to the magnetic beads tethered through biological molecule to pre-coated glass surfaces by manipulating the position or rotation of a pair of magnets. A linear DNA molecule can be manipulated in such a way to generate plectonemes, i.e. DNA supercoils, under an extension force of 0.3 pN ( $1 \text{ pN} = 10^{-12} \text{ N}$ ), possessing the feature that the number of unwound base pairs of a supercoiled DNA can be observed by the changes in the number of supercoils reflected by the DNA extension changes. Thus, the DNA unwound by RNAP, i.e. the transcription bubble, during transcription can be observed in this way. By monitoring the kinetics of the transcription bubble in real time, this method thus allows single-molecule detection with single-base resolution and a high-throughput data collection fashion in the kinetic studies of transcription. Owing to the advantages of the manipulation of DNA supercoils with single-molecule magnetic trapping, one can mimic the mechanistic feature of DNAs in vivo and characterize the kinetics of transcription under such conditions. This method can also be combined with single-molecule fluorescence method which can be applied to studying the mechanism of transcription regulation while monitoring the behaviors of fluorescently labeled biological molecules that interact with functional RNAP molecules, providing examples for studying the mechanisms of transcription regulations in more complex systems.

**Keywords:** single-molecule magnetic trapping, supercoiled DNA, gene transcription regulation, single-molecule kinetics

**PACS:** 87.15.kj, 87.14.G–, 87.14.gk, 87.80.Nj

**DOI:** 10.7498/aps.72.20231089

\* Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 12004420, 32071228, 12004271, 12274308, 62135003), the Strategic Priority Research Program (B) of the Chinese Academy of Sciences, China (Grant No. XDB37000000), the Youth Innovation Promotion Association of Chinese Academy of Sciences, China (Grant No. 2021009), the Key-Area Research and Development Program of Guangdong Province, China (Grant Nos. 21202107221900001, 2022B0303040003), the Basic and Applied Basic Research Foundation of Guangdong Province, China (Grant No. 2019A1515110186).

† Corresponding author. E-mail: [shuangwang@iphy.ac.cn](mailto:shuangwang@iphy.ac.cn)



## 单分子磁镊旋转操控和基因转录调控动力学

张志鹏 刘帅 张玉琼 熊影 韩伟静 陈同生 王爽

### Rotation manipulation of single-molecule magnetic trapping and gene transcription regulation dynamics

Zhang Zhi-Peng Liu Shuai Zhang Yu-Qiong Xiong Ying Han Wei-Jing Chen Tong-Sheng Wang Shuang

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 72, 218701 (2023) DOI: 10.7498/aps.72.20231089

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7498/aps.72.20231089>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

单分子动力学研究大肠杆菌单链结合蛋白与单链DNA的结合过程

Binding process between E.coli SSB and ssDNA by single-molecule dynamics

物理学报. 2018, 67(8): 088201 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20180109>

单分子器件电输运中基于量子干涉效应的调控策略

Regulation strategies based on quantum interference in electrical transport of single-molecule devices

物理学报. 2022, 71(6): 067303 <https://doi.org/10.7498/aps.71.20211819>

基于单分子成像技术研究 $\lambda$ -DNA分子穿越微米通道端口的电动力学特性

Electrodynamic characteristics of  $\lambda$ -DNA molecule translocating through the microfluidic channel port studied with single molecular fluorescence imaging technology

物理学报. 2020, 69(16): 168202 <https://doi.org/10.7498/aps.69.20200074>

用单分子技术研究Sso7d与DNA的相互作用

Interaction between Sso7d and DNA studied by single-molecule technique

物理学报. 2018, 67(14): 148201 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20180630>

单分子尺度的光量子态调控与单分子电致发光研究

Single-molecule electroluminescence and its relevant latest progress

物理学报. 2018, 67(22): 223301 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20181718>

单分子光学探针揭示易混聚合物受限纳米区域的动力学

Single-molecule probes revealed dynamics of confined nano-regions in miscible polymer blends

物理学报. 2019, 68(14): 148201 <https://doi.org/10.7498/aps.68.20190423>