

文章编号: 1004-7220(2023)02-0242-06

盐离子、聚乙二醇与力对双根 DNA 扭转的影响

周雨乐, 高媛媛, 肖波涛

(华南理工大学 生物科学与工程学院, 广州 510006)

摘要:目的 研究不同盐离子浓度、聚乙二醇浓度和力对双根 DNA 扭转超螺旋结构的影响。方法 以 10 kb DNA 为研究对象,利用磁镊的流动腔实验探究不同浓度盐离子(Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+})、聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)和不同大小的力对双根 DNA 扭转编织体长度随圈数变化的影响。结果 双根 DNA 扭转结构对盐离子浓度敏感,对 PEG 不敏感。离子浓度越大,编织体长度随圈数变化越平缓,且 Mg^{2+} 的静电屏蔽饱和浓度远低于单价阳离子。拥挤环境对 DNA 的影响主要为轮廓长度压缩。在 4 pN 以上力作用下 DNA 扭转结构更为稳定,2 pN 以下超螺旋结构波动较大。结论 DNA 的编织体结构与力学性质受所处溶液离子浓度和力的影响。研究结果有助于进一步探究染色质扭转受溶液环境影响的机制,并为拓扑异构酶在不同溶液条件下的作用效果提供参考。

关键词: DNA 扭转; 离子浓度; 拥挤环境; 力; 磁镊

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2023.02.006

Effects of Salt Ions, Polyethylene Glycol and Force on Twisted Structure of Double DNAs

ZHOU Yule, GAO Yuanyuan, XIAO Botao

(School of Biology and Biological Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of different salt ion concentration, polyethylene glycol (PEG) and force on structure of double DNAs braids. **Methods** Taking the 10 kb DNA as the research object, the effects of different concentrations of salt ions (Na^+ , K^+ , Mg^{2+}), PEG and different forces on variation of relative extension of twisted double DNAs with rotation turns were investigated by flow chamber experiment of magnetic tweezers. **Results** The structure of double DNAs braids was sensitive to salt ion concentration but insensitive to PEG. With the increase of ion concentration, the extension of braids changed more gently with the rotation turns, and the electrostatic shielding saturation concentration of Mg^{2+} was much lower than that of the monovalent cation. The effect of crowded environment on DNA was mainly the compression of contour length. The twisted structure of DNA was more stable under high force (above 4 pN), and fluctuated greatly under low force (lower than 2 pN). **Conclusions** The braiding structure and mechanical properties of DNA are affected by ion concentration in the solution and forces. The results may help to elucidate the mechanism of chromatin torsional torque affected by solution environment, and provide references for the function of topoisomerase under different solution conditions. **Key words:** DNA braiding; ions concentration; crowded environment; force; magnetic tweezers

收稿日期: 2022-06-30; 修回日期: 2022-08-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(11772133)

通信作者: 肖波涛, 教授, E-mail: xiaob@scut.edu.cn

双根 DNA 扭转缠绕常发生于 DNA 复制过程中。在细胞内, 双链 DNA 边解旋边复制, 由于 DNA 自身的螺旋结构, 随着复制叉的前进, 母链或两条子链可能会扭转产生超螺旋^[1]。母链自身的超螺旋会对 DNA 的复制进程产生阻碍, 两条子链缠绕的超螺旋可能会导致细胞无法顺利分裂。Wang 等^[2]研究发现, 在真核细胞中, 双根 DNA 扭转超螺旋的扭矩与核小体数量成正比, 且大于单根 DNA (含有核小体) 自身的扭转扭矩, 使得超螺旋更容易发生在复制叉前段, 有助于两条子链分离和细胞分裂。扭矩在这一过程中很重要, 体现出分子的扭转刚度, 是 DNA 超螺旋结构的力学性质之一^[3]。扭矩会影响超螺旋的结构和形态, 进而影响 DNA 复制时超螺旋更倾向发生的位置。有两种拓扑异构酶能够帮助细胞分别解开单根或双根 DNA 的超螺旋, 但扭矩可能会影响酶的作用位点和效果^[1,4]。

在不同的溶液环境中, 细胞内离子浓度会随着外界环境的渗透压改变而变化, 进而影响 DNA 所处的离子环境^[5-6]。DNA 上有各种位点可以与金属离子相互作用, 并且金属离子的配位会对 DNA 的构象、稳定性、电负性产生巨大影响^[7-8]。例如, 多价阳离子与 B-DNA 大沟表面的磷酸骨架结合会导致 DNA 向离子结合方向弯曲^[9]; 而不同核酸链之间的碱基配对与金属离子结合时, 可能会形成一些特殊结构如 G-四倍体等^[7]。渗透压的变化也会以物理影响的方式直接作用于细胞核^[10]。当核空间位阻和受力的参数改变时, 会改变基因组结构。细胞可感知生理学环境, 且外力可转化为胞内信号^[11]。当 DNA 分子的形态结构因离子环境或渗透压变化而改变时, 扭转超螺旋的力学参数也将相应产生变化, 并且胞外基质可通过物理性质的改变调节细胞的增殖与分化能力^[12-13]。

除离子外, 细胞内包含的生物大分子, 如多糖和蛋白质等, 创造了细胞内的拥挤环境, 也会对 DNA 结构产生一定影响^[14]。这些生物分子占据细胞体积的 20%~40%, 总浓度最高可达到 0.4 mg/L^[15]。体外研究时常用聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 模拟拥挤环境^[16-17]。已有研究发现, PEG 会导致单根 DNA 分子的压缩, 且与一定浓度的 Mg^{2+} 存在拮抗作用^[18]。

目前, 对双根 DNA 扭转超螺旋结构和力学性质

的研究, 仅限于改变一定的 Na^+ 溶液浓度以及一部分理论计算^[19]。对于其他盐离子、拥挤环境以及力对双根 DNA 扭转的影响都尚未清晰, 需要更多实验结果验证。研究盐离子和拥挤环境对双根 DNA 扭转结构的影响以及各种环境下不同力时超螺旋的稳定状态, 是探讨细胞分裂时 DNA 拓扑结构问题的基础。本文通过单分子磁镊实验, 对比分析不同价键盐离子 (Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+}) 和不同浓度 PEG 对双根 DNA 扭转时长度随圈数变化趋势的影响, 并探究溶液环境对双根 DNA 超螺旋稳定性的影响。研究结果为未来分析染色质在不同生理条件下的扭转超螺旋结构打下基础。

1 材料与方法

1.1 磁镊系统

作为单分子研究常用的技术方法之一, 磁镊包含计算机软件、光学成像、磁铁及压电陶瓷控制模块 [见图 1(a)]。

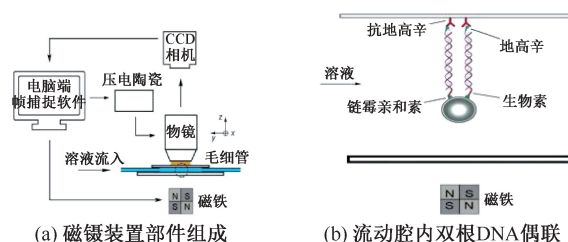


图 1 磁镊和流动腔示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the magnetic tweezers and flow chamber (a) Components of the magnetic tweezer device, (b) Coupling of the double DNAs in flow chamber

1.2 构建带标签 DNA

采用 Pushion 高保真 PCR 试剂盒, 扩增出两端分别带有生物素和地高辛标签的 10 kb DNA, 模板为 485 02 bp 的噬菌体 lambda DNA (GenBank # NC001416)。使用 QIA 快速提纯试剂盒纯化 PCR 产物, 并进行核酸琼脂糖凝胶电泳实验检验扩增和纯化效果。将成功纯化后的 4 管 DNA 样品用 Nanodrop 测量浓度, 平均浓度为 $(9.4 \pm 0.5) \text{ ng}/\mu\text{L}$ 。

1.3 流动腔制备

流动腔由载玻片、表面功能化的盖玻片、玻璃毛细管、3D 打印的塑料薄片和一个底部切口的离心管构成, 利用蜡和热熔胶密封及固定。功能化的盖玻片表面依次孵育了硅烷 (APTES)、戊二醛 (4%),

A-D 蛋白 (anti-digoxigenin Fab 片段), 并最终用牛血清白蛋白溶液 (bovine serum albumin, BSA) 封闭。该功能化玻片可稳定偶联 DNA 的地高辛标签端, DNA 的生物素标签端可与表面包被了链霉亲和素 (Streptavidin) 的磁性微珠 (Dynabeads® M-280) 结合 [见图 1(b)]。

1.4 双根 DNA 的筛选与两分子间距离的估算

由于 DNA 与磁珠和底板的连接随机发生, 故需要先筛选平行连接的双根 DNA-磁珠体系, 并计算两 DNA 分子之间的距离。

1.4.1 蠕虫链模型拟合 在计算机视野中找到正在做布朗运动的磁珠作为目标珠, 静止不动的磁珠作为参考珠, 测量不同力下目标珠分子的长度, 并代入蠕虫链模型 (worm-like chain, WLC) 公式进行拟合^[20]:

$$f = \frac{\kappa_B T}{l_p} \left(\frac{1}{4 \left(1 - \frac{X}{l_c}\right)^2} - \frac{1}{4} + \frac{X}{l_c} \right) \quad (1)$$

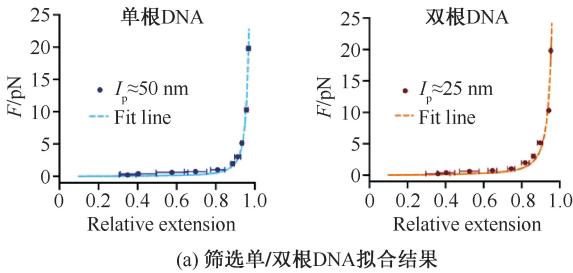
式中: f 为 DNA 分子受到的拉力; k_B 为玻尔兹曼常数 (Boltzmann constant); T 为温度; l_p 为待测 DNA

分子的持续长度 (persistence length); l_c 为待测 DNA 分子的轮廓长度 (contour length); X 为实验中测得的分子长度。拟合结果表明, 单根、双根 DNA 分子的理论持续长度分别约为 50、25 nm, 故筛选双根分子作为实验对象 [见图 2(a)]。

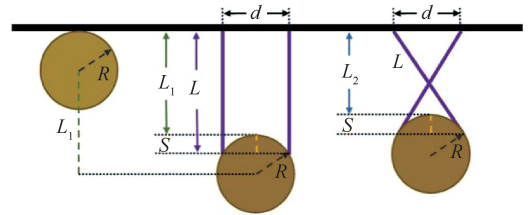
1.4.2 计算两 DNA 分子间距离 DNA 分子在 19.8 pN 力下被拉直, 操控磁铁控制磁珠使该待测分子旋转半圈后, 两 DNA 分子间距离 (d) 估算公式如下:

$$\begin{aligned} L &= L_1 + S \\ L^2 &= (L_2 + S)^2 + d^2 \\ R^2 &= \left(\frac{d}{2}\right)^2 + (R - S)^2 \\ d^2 &= (L_1 + S)^2 - (L_2 + S)^2 \end{aligned} \quad (2)$$

式中: L 为 DNA 分子的轮廓长度; L_1 为磁镊测得的分子长度 (即目标磁珠和参考磁珠的相对位置差); L_2 为目标珠旋转后磁镊测得的分子长度; R 为磁珠半径, $R = 1.4 \mu\text{m}$; S 为 DNA 分子与磁珠的结合点到磁珠顶端平面的垂直距离 [见图 2(b)]。



(a) 筛选单/双根 DNA 拟合结果



(b) 两分子间距离几何关系示意图

图 2 双根 DNA 筛选及两分子间距离估算

Fig. 2 Screening of double DNAs and estimation of molecule distances (a) Single/double DNAs fitting results,

(b) Schematic diagram for geometric relationship of the distance between two molecules

2 结果

2.1 单价阳离子对双根 DNA 扭转的影响

在 3 pN 力下, 将流动腔中原有的 PBS 溶液用 1 mL NaCl 或 KCl 配制的缓冲液替换掉, 然后将力降至 2 pN 开始扭转。结果表明, 换液顺序并不会影响实验结果, DNA 分子扭转结构对溶液 Na^+ 浓度的感应可逆 [见图 3(a)]。

随着扭转圈数增加, 双根 DNA 分子形成的编织体长度逐渐减小。 Na^+ 浓度越低时, 编织体长度减小得越快; Na^+ 浓度越高时, 编织体长度减小得越

慢。该结果提示, 编织体长度的变化趋势与离子浓度呈负相关。这是由于双根 DNA 分子在外力驱动下接触、缠绕产生超螺旋时, 溶液中 Na^+ 浓度影响了两双链 DNA 分子之间的作用关系。 Na^+ 浓度较低时, 如 10 mmol/L 左右, 两 DNA 分子会由于更强的静电斥力而趋向于远离彼此。反之, 两 DNA 分子会更趋向于接近彼此, 此时在外力作用下, 编织体部分的直径会相对较小, 两分子缠绕更为紧密 [见图 3(b)]。因此, Na^+ 浓度越大时, 编织体长度变化更慢, 趋势更为平缓。

K^+ 作为细胞内又一重要的单价阳离子, 参与调

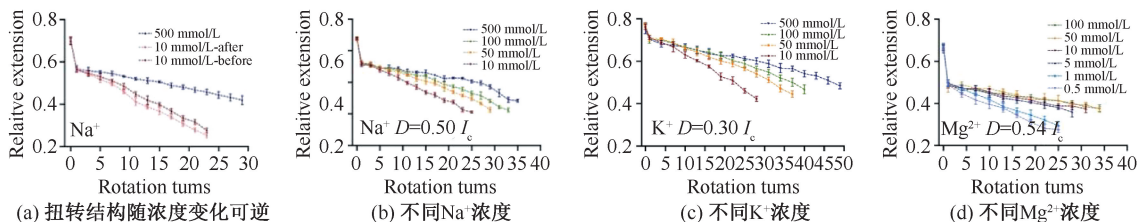


图3 盐离子浓度对双根 DNA 不同扭转圈数下相对分子长度的影响

Fig. 3 Effects of salt ion concentration on relative extension of double DNAs braids with different rotation turns (a) The twisted structure is reversible with different concentrations, (b) Different concentrations of Na^+ , (c) Different concentrations of K^+ , (d) Different concentrations of Mg^{2+}

注:图中分子的相对长度数据均来源于磁镊,每个数据点经过至少5次重复测量。

节细胞内外液的渗透压及酸碱平衡。当溶液中主要离子更换为 K^+ 时,其编织体随扭转圈数增加而减小的趋势与 Na^+ 没有明显的区分。在相同的浓度时,同样扭转圈数下其编织体的相对长度与 Na^+ 环境中情况基本相同[见图 3(c)]。

2.2 二价阳离子(Mg^{2+})对双根 DNA 扭转的影响

Mg^{2+} 作为细胞内重要的二价阳离子,参与细胞内生化反应、物质交换、信息传递。一般情况下,大肠杆菌细胞内 Mg^{2+} 浓度为 $1\sim 2\text{ mmol/L}$,故本文探究的 Mg^{2+} 最低浓度为 0.5 mmol/L 。用 3 pN 力将 DNA 拉起换液,依次将 1 mL 的 $0.5\sim 500\text{ mmol/L}$ MgCl_2 实验缓冲液注入流动腔。

结果表明,与单价离子影响相似,随着扭转圈数增加,双根 DNA 分子形成的编织体的长度逐渐减小。 Mg^{2+} 浓度越高时,编织体长度减小得越慢,变化趋势越平缓; Mg^{2+} 浓度越低时,编织体长度减小得越快,变化趋势越陡峭。当 Mg^{2+} 的浓度达到 10 mmol/L 时,再增加浓度也不会对这种趋势产生明显的影

响。当 Mg^{2+} 浓度降到细胞内水平,即 1 mmol/L 和 0.5 mmol/L 时,出现了明显的分界点,此时编织体长度随圈数减小的幅度突然变大,能够明显地区分于 5 mmol/L 以上的情况[见图 3(d)]。由于 Mg^{2+} 是二价离子,DNA 与其结合后力学性质的感应更为敏感,故在较低浓度下,静电屏蔽效应效果就已经足够显现出来。

2.3 PEG 浓度对双根 10 kb DNA 扭转的影响

体外实验中常用聚乙二醇(PEG)模拟拥挤环境,含有一定浓度的 PEG 的溶液会诱导 DNA 缩合,使其轮廓长度变短[见图 4(a)]。当在相同的力 (10.3 pN) 下,当溶液中 PEG 浓度从 0 逐渐更换至 200 mg/mL 时,虽然 DNA 受外力拉伸,但长度依然会有一些的变化,会缩短一些[见图 4(b)]。

相应地,探究不同 PEG 浓度下 DNA 分子的凝聚力(F_c)。研究表明, $f=F_c$ 时,双根 DNA 分子会抵抗外力作用发生瞬间凝聚,成为无法测量长度的球团状。当溶液中 PEG 浓度分别为 100 、 200 、

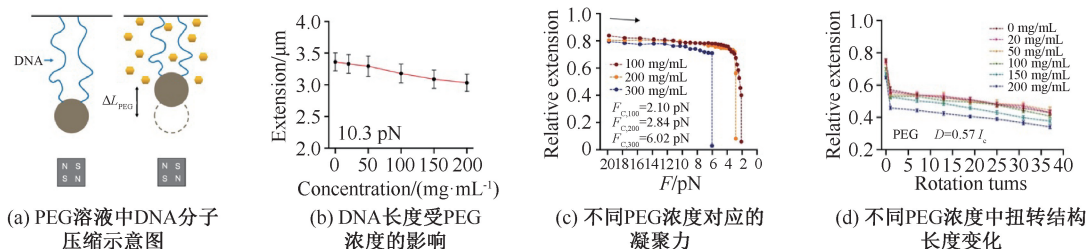


图4 PEG 对 DNA 的压缩及扭转性质的影响

Fig. 4 Effects of PEG on the compression and torsion properties of DNA (a) Schematic diagram of DNA molecule compression in PEG solution, (b) DNA extension affected by PEG concentration, (c) Compression force at different PEG concentrations, (d) Extension variation of twisted structure at different PEG concentrations

注:每个数据点经过至少5次重复测量。

300 mg/mL 时,双根 DNA 分子的凝聚能力分别为 2.10、2.84、6.02 pN。在 PEG 溶液中,溶液波动或 DNA 扭转长度变短导致磁性微珠受力稍有改变时, DNA 分子易凝聚,故后续扭转实验中 PEG 浓度最高仅换至 200 mg/mL[见图 4(c)]。

在不同浓度的 PEG 溶液中,双根 DNA 扭转编织物的长度变化趋势非常接近。随着溶液中 PEG 浓度增加,编织物长度随圈数减小的速度几乎一样,无论 PEG 浓度高或者低,其编织物长度与圈数的相对关系都保持不变[见图 4(d)]。这与不同浓度金属离子对双根 DNA 扭转结构的影响不同。显然,PEG 并不能影响两 DNA 分子在相互接触、缠绕形成超螺旋时彼此之间的力学关系,PEG 模拟的拥挤环境对 DNA 的影响仅为压缩其轮廓长度。

2.4 力对双根 10 kb DNA 扭转的影响

在不同力下, DNA 的超螺旋结构会受到一定的影响。本文发现, DNA 分子对的长度与力的大小呈正相关。当离子浓度稳定不变,改变力时,第 0 转到第 1 转的长度 ΔX_{0-1} 变化规律为:在小力(0.75 pN)下, ΔX_{0-1} 最大;在大力(8.25 pN)下, ΔX_{0-1} 最小。在小力下, DNA 分子状态较为松弛,被磁珠带着扭转时,没有较大的力去限制分子的形变,且扭转后 DNA 分子受力情况改变,磁珠位移相对容易,故扭转前后长度变化较明显;在大力下, DNA 分子趋于紧绷,磁珠旋转时,较大的力限制了磁珠的垂直空间位移,故扭转前后长度变化较小。此外,当溶液离子浓度稳定不变时,其长度随圈数变化的趋势相近,曲线较为平行。大力下,双根 DNA 扭转超螺旋结构的稳定性较好,曲线波动极小。小力下,双根 DNA 扭转超螺旋编织体稳定性较差,曲线波动明显, DNA 在小力下处于不规则卷曲状态,甚至随着扭转可能发生一些额外的缠绕或打结(见图 5)。

本文结果提示,对于双根 DNA 扭转超螺旋,盐浓度和力能够在一定程度上影响结构和力学性质,但拥挤环境(PEG)对其影响仅为轮廓长度的压缩。

3 讨论

本文利用单分子技术磁镊,研究了 3 种可能改变扭矩的因素(盐离子浓度、PEG 浓度和力)对双根 DNA 扭转结构的影响。两分子间距离决定了第 1

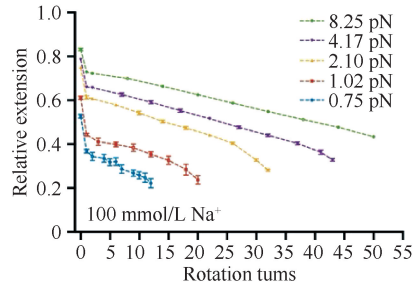


图 5 相同离子浓度不同力下双根 DNA 扭转编织体长度随扭转圈数的变化

Fig. 5 Variation of the relative extension of double DNAs braids with the number of rotation turns under different forces with the same ion concentration

注:每个数据点经过至少 5 次重复测量,误差值与力呈反比。

转时变化的长度,在不同分子间距离条件下的双根 DNA 分子,都显示出扭转结构和性质对于 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 浓度变化相似的响应,即较低浓度下,扭转编织体长度随扭转圈数增加会更快缩短。其区别是,在以单价离子 Na^+ 、 K^+ 为主要研究对象时,10 mmol/L 是 1 个较低的浓度,此时电荷屏蔽作用较弱, DNA 糖-磷酸骨架上携带的负电荷充分暴露,结合的阳离子数量极少,在垂直和水平方向充分伸展,有效直径变大,此时两根 DNA 在外力作用下被迫缠绕时,由于其电负性相斥、自身有效直径较大,产生的编织体直径更大。然而在以 2 价离子 Mg^{2+} 为主要研究对象时,10 mmol/L 约是该情况下的静电屏蔽饱和浓度, DNA 糖-磷酸骨架上携带的负电荷基本被 Mg^{2+} 中和,即再增加离子浓度不会使双根 DNA 的扭转结构和性质产生明显变化。

PEG 作为体外拥挤环境的模拟剂,具有良好的水溶性和有机相溶性,与细胞内大分子物质如蛋白质等对核酸造成的拥挤效果类似,即都会产生空间位阻效应。本文中使用的 PEG 浓度范围为 0 ~ 200 mg/mL,相对分子质量为 2 000。已有研究表明,不同分子量 PEG 与不同浓度 Mg^{2+} 对 DNA 的压缩作用可能存在协同或拮抗作用^[18]。然而,在双根 DNA 扭转的拓扑结构上是否也存在类似的效应,还有待研究。

4 结论

受力、扭转圈数和溶液离子浓度影响的 DNA 分子扭转能够体现出分子的扭转刚度。分子扭转刚

度越大,越不易被扭转;反之越容易被扭转。研究双根 DNA 分子的扭转能为理解 DNA 复制、转录等提供理论基础,有助于进一步探究改变 DNA 拓扑结构的酶的作用机制。在细胞中,DNA 扭转将会决定超螺旋会更容易出现在复制叉前还是复制叉后,并且影响拓扑异构酶的作用,这是细胞顺利分裂的关键影响因素之一。对于真核细胞染色质在生理环境中的单分子力学研究已经表明,核小体的存在使得超螺旋更易发生在母链,但不同溶液环境对该过程力学性质的影响尚不清晰。未来将以此为基础,对染色质的超螺旋和拓扑异构酶进行研究,并为研究不同溶液环境中核酸拓扑结构对细胞增殖分化造成的影响做基础铺垫。

参考文献:

- [1] VALDÉS A, CORONEL L, MARTÍNEZ-GARCÍA B, *et al.* Transcriptional supercoiling boosts topoisomerase II-mediated knotting of intracellular DNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(13): 6946-6955.
- [2] LE TT, GAO X, PARK SH, *et al.* Synergistic coordination of chromatin torsional mechanics and topoisomerase activity [J]. *Cell*, 2019, 179(3): 619-631. e15.
- [3] LAM PM, ZHEN Y. Extension, torque, and supercoiling in single, stretched, and twisted DNA molecules [J]. *J Chem Phys*, 2015, 143(17): 174901.
- [4] KESZTHELYI A, MINCHELL N, BAXTER J. The causes and consequences of topological stress during DNA replication [J]. *Genes*, 2016, 7(12): 134.
- [5] SZATMÁRI D, SÁRKÁNY P, KOCSIS B, *et al.* Intracellular ion concentrations and cation-dependent remodelling of bacterial MreB assemblies [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 12002.
- [6] WANG C, FAN S, XU N, *et al.* Structural basis of DNA recognition of tomato yellow leaf curl virus replication-associated protein [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 205: 316-328.
- [7] LONG MP, ALLAND S, MARTIN ME, *et al.* Molecular dynamics simulations of alkaline earth metal ions binding to DNA reveal ion size and hydration effects [J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2020, 22(10): 5584-5596.
- [8] MÖLLER M, SCHOTANUS K, SOYER JL, *et al.* Destabilization of chromosome structure by histone H3 lysine 27 methylation [J]. *PLOS Genetics*, 2019, 15(4): e1008093.
- [9] SHAMSI MH, KRAATZ HB. Interactions of metal ions with DNA and some applications [J]. *J Inorg Organomet P*, 2013, 23(1): 4-23.
- [10] RAFIEI N, CORDOVA M, NAVARRE WW, *et al.* Growth phase-dependent chromosome condensation and heat-stable nucleoid-structuring protein redistribution in *Escherichia coli* under osmotic stress [J]. *J Bacteriol*, 2019, 201(23): e00469-19.
- [11] 邵佳琦, 李娟, 林军. 巨噬细胞力学信号转导通路的研究进展 [J]. *医用生物力学*, 2023, 38(2): 408-414. SHAO JQ, LI J, LIN J. Advances in mechanotransduction pathway of macrophage [J]. *J Med Biomech*, 2023, 38(2): 408-414.
- [12] MANNING GS. The response of DNA length and twist to changes in ionic strength: Twist-stretch coupling of unconstrained DNA [J]. *Biopolymers*, 2015, 103(4): 223-226.
- [13] 张颖, 王钰岚, 王楷群, 等. 基质刚度调节细胞-细胞外基质间黏附对肿瘤细胞迁移影响的模型研究 [J]. *医用生物力学*, 2021, 36(4): 604-611. ZHANG Y, WANG YL, WANG KQ, *et al.* Influences of cell-ECM adhesion on migration of tumor cells regulated by ECM stiffness: A model study [J]. *J Med Biomech*, 2021, 36(4): 604-611.
- [14] CHUNG S, LERNER E, JIN Y, *et al.* The effect of macromolecular crowding on single-round transcription by *Escherichia coli* RNA polymerase [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(3): 1440-1450.
- [15] MIYOSHI D, SUGIMOTO N. Molecular crowding effects on structure and stability of DNA [J]. *Biochimie*, 2008, 90(7): 1040-1051.
- [16] CRISTOFALO M, MARRANO CA, SALERNO D, *et al.* Cooperative effects on the compaction of DNA fragments by the nucleoid protein H-NS and the crowding agent PEG probed by magnetic tweezers [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2020, 1864(12): 129725.
- [17] PASTRÉ D, HAMON L, MECHULAM A, *et al.* Atomic force microscopy imaging of DNA under macromolecular crowding conditions [J]. *Biomacromolecules*, 2007, 8(12): 3712-3717.
- [18] CHENG C, JIA JL, RAN SY. Polyethylene glycol and divalent salt-induced DNA reentrant condensation revealed by single molecule measurements [J]. *Soft Matter*, 2015, 11(19): 3927-3935.
- [19] BRAHMACHARI S, GUNN KH, GIUNTOLI RD, *et al.* Nucleation of multiple buckled structures in intertwined DNA double helices [J]. *Phys Rev Lett*, 2017, 119(18): 188103.
- [20] MARKO JF. Supercoiled and braided DNA under tension [J]. *Phys Rev E*, 1997, 55(2): 1758-1772.