



Title	核小体クロマチンの分画化とリボソームシストロン
Author(s)	花崎, 憲子
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31857
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	花崎憲子
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4035 号
学位授与の日付	昭和 52 年 7 月 27 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	核小体クロマチンの分画化とリボソームシストロン
論文審査委員	(主査) 教授 坂本 幸哉 (副査) 教授 橋本 一成 教授 北川 正保

論文内容の要旨

〔目的〕

有核細胞の核中に存在する核小体の分離精製が可能になったのは、ごく近年のことである。その中でも核小体クロマチンは、核小体を単離精製するだけで他の部位のクロマチンとわけることができ、リボソームRNA遺伝子(rDNA)に富み、その産物のリボソームRNA(rRNA)の精製が比較的容易で、rDNAの反復配列の特性等、動物細胞の遺伝子の発現制御機構の研究上種々の利点を持っている。そこで、まず核小体クロマチンの分画化を試み、rDNAに富むクロマチン分画を得、動物細胞の遺伝子の特性を明らかにすることを目的とした。

〔方法及び成績〕

- ① 核小体クロマチンの調製…単離した核小体を Polyvinylsulphate (PVS) で処理し、続いて、20mM Dithiothreitol を用いてリボ核蛋白顆粒をできる限り抽出除去した。次に、核小体を 10mM Tris-HCl buffer pH 8.0 中で超音波処理してこわし、遠沈により、上清に可溶化したクロマチンを得た。
- ② 庶糖密度勾配遠心によるクロマチンの分画化…可溶化したクロマチン分画を 0.17 ~ 1.7M の庶糖密度勾配遠心にかけ、ほぼDNA含量の等しい二つのピークを得た。このパターンは、クロマチンを可溶化する音波処理の時間が 20 秒でも 40 秒でも同じであった。速く沈降するピーク II は、ゆっくり沈降するピーク I より RNA 含量が多かった。また、遠心によるピーク II の DNA 成分のプロファイルは、RNA 成分のプロファイルとは異なった。これは、リボ核蛋白顆粒がピーク II と一緒に沈降するにすぎず、ピーク II が速く沈降する原因ではないことを示唆している。さらに、リボ核蛋白顆粒を酵素分解した後でもピーク II が存在したので、この推論が正しいことがわかった。

- ③ 分画化したクロマチン中のリボソームRNA遺伝子の含量…分画化した核小体クロマチンDNA中のリボソームRNA遺伝子の含有百分率を、³²PでラベルしたrRNAとDNAのhybridization法で調べると、ピークⅠはピークⅡの約10倍の値を示した。
- ④ CsCl法によるリボソームRNA遺伝子のDNAの分析…分画化したクロマチンDNAをさらにCsCl平衡密度勾配遠心法で精製し、分析した。リボソームRNA遺伝子のDNAの浮遊密度に関するプロフィールは、各分画間では本質的に変りはなかった。CsCl法で分画化したDNAをさらにDNA・RNAのhybridization法で調べ、ピークⅠはピークⅡに比べ、より多くのリボソームRNA遺伝子を含有していることを、高度に精製したDNAで確かめた。
- ⑤ 分画化したクロマチンDNAに存在するsatellite DNA…マウス細胞の核小体中には、AT含量に富む単純な反復配列DNAであるsatellite DNAが約25%含まれている。分画化したクロマチンよりDNAを抽出した後、CsCl法でsatellite DNAの含量を調べると、ピークⅡは、ピークⅠの約1.5倍のsatellite DNAを含んでいたにすぎない。つまり、ピークⅠのリボソームRNA遺伝子の周辺にも、satellite DNAが存在することを示唆している。

〔総括〕

- ① 動物細胞の遺伝子発現制御機構を研究するための第一段階として、エールリッヒ腹水癌細胞より単離した核小体のクロマチンを分画化し、リボソームRNA遺伝子に富む分画を得ることを目的とした。
- ② 核小体クロマチンは、蔗糖密度勾配遠心法で、ゆっくり沈降するピークⅠと、速く沈降するピークⅡにわかれた。リボソームの前駆体であるリボ核蛋白顆粒はピークⅡにくるが、この顆粒が、クロマチンに付随しているためにピークⅡが速く沈降するのではないことを確かめた。
- ③ リボソームRNA遺伝子の含有量を各分画で調べると、ピークⅠでは、ピークⅡの約10倍の百分率を示した。
- ④ CsCl平衡密度勾配遠心法で、さらに、リボソームRNA遺伝子のDNAを分析した。浮遊密度に関しては各分画間に差はなかったが、このように精製されたDNAでも、リボソームRNA遺伝子の百分率では、上記のような顕著な差が存在していることを確認した。
- ⑤ マウスの核小体DNAに大量に含まれているsatellite DNAは、ピークⅠよりは、ピークⅡに多く含まれるが、リボソームRNA遺伝子がピークⅠに濃縮されている程の顕著な分布の差は認められなかった。したがって、satellite DNAは核小体クロマチンDNA上に広く散在し、ピークⅠのリボソームRNA遺伝子の周辺にも存在することを示唆した。

論文の審査結果の要旨

前核細胞の場合は、遺伝子をとりまく蛋白は、殆んどない場合が多いが、真核細胞では、核蛋白複合体を形成している。従って、遺伝子の発現機構は、両者の間ではかなり異なるものと思われる。哺

乳動物の様に多数の遺伝情報を持ったクロマチンから特定の遺伝子のみを単離することは、先づ不可能であるが、リボソームRNA遺伝子に限り、その様な目的に適しており、本研究では活発に転写しているリボソーム RNA 遺伝子の分画化に成功した。このクロマチン分画の特性を究明し、あるいは、それを鋳型として動物細胞のクロマチンの転写機構解明の大きな手がかりが得られたわけであり、その生物学的意義は大きい。