

Title	Synchrotron X-ray Scattering Study of Chromatin Condensation Induced by Monovalent Salt
Author(s)	藤原, 悟
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/37039
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【8】

氏名・(本籍)	ふじ 藤	わら 原	さよる 悟
学位の種類	工	学	博 士
学位記番号	第	8 8 7 7	号
学位授与の日付	平成元年10月26日		
学位授与の要件	基礎工学研究科 物理系専攻 学位規則第5条第1項該当		
学位論文題目	Synchrotron X-ray Scattering Study of Chromatin Condensation Induced by Monovalent Salt (1価の塩によるクロマチン凝縮のシンクロトロンX線散乱法による研究)		
論文審査委員	(主査) 教授	三井 利夫	(副査) 教授 葛西 道生 教授 柳田 敏雄 助教授 植木 龍夫

論文内容の要旨

クロマチンは、ヒストン蛋白質およびDNAから構成されるが、in vitroにおいて、溶液のイオン強度増大に伴い構造変化をおこすことが知られている。低イオン強度におけるクロマチンの構造、イオン強度増大に伴う構造変化の様式、クロマチン構成成分の1つヒストンH1の構造変化における役割、について知るために、ラット胸腺より調製した、構成成分のそろったnativeなクロマチンおよびH1を除去したクロマチンのそれぞれについて、種々のNaCl濃度において、シンクロトロン放射を用いたX線溶液散乱実験を行った。

散乱曲線の断面-ギニエプロットから、種々のNaCl濃度におけるnativeなクロマチンの断面の慣性半径(R_c)および単位長当りの分子量(Mc)を求めた。 R_c および Mc の値の変化から、クロマチンは、低イオン強度下においていわゆる“10nm”フィラメントに対応する構造をとること、構造変化はNaCl濃度1mM付近ではじまり、その変化はフィラメントの半径の増大およびフィラメント軸方向の凝縮が同時におこる変化であることが結論された。また、NaCl濃度40mM以上においてクロマチンの会合がおこることが示唆された。

H1を除去したクロマチンについても同様の解析を行い、NaClの存在しないときH1除去クロマチンはnativeなクロマチンよりも乱れた構造をとること、NaCl濃度が大きいときは、nativeクロマチンとは全く異なる構造変化(同一フィラメント内のヌクレオソームの不規則な会合)をおこすことを示した。

つぎに、クロマチンの構造変化の際のヌクレオソームの配列の変化について知るため、モデルによる散乱曲線の解析を行った。クロマチンを同一のサブユニット(ヌクレオソームに対応する)から成る鎖

とみなし、サブユニットの配列の乱れを考慮したモデルを用いた。解析の結果、“10nm”フィラメント構造は、非常にflexibleな繊維構造、いわゆる“beads-on-a-string”構造として記述できた。NaCl濃度増大による構造変化は、この“beads-on-a-string”構造から、中間的なlooseならせん構造を経て、凝縮したならせん構造の“30nm”フィラメントの変化として記述しうることが示された。解析の結果はまた、このならせん構造はかなり不規則で、フィラメント全体としては、NaCl濃度50mMにおいても折れ曲りやすいものであることも示唆した。

論文の審査結果の要旨

真核生物のDNAは細胞核の中にクロマチン（染色質）として格納されている。クロマチンは基本的にはDNAとヒストン蛋白質からなる長い鎖状超分子であるが、核内では複雑な高次構造体を形成している。この高次構造形成の第一段階はいわゆる10nmフィラメントから30nmフィラメントへの転移と考えられている。本論文は溶液中でのこの転移の様相をX線小角散乱法によって研究したものである。

この種の実験の困難は、溶液中でクロマチンが超分子間の会合を起こしやすいことである。また大きい超分子なので極めて小角の散乱を測定しなくてはならない。本実験では会合を避けるために非常に薄いクロマチン溶液が用いられた。これに伴って散乱X線が弱くなるので、入射X線としてシンクロトロン放射中の強いX線を用いた。その結果、従来より信頼度の高いデータを得ている。主な結論は次の如くである。

- (1) 10nmフィラメントが溶液中ではたして現実に存在するかどうかに疑問の点があったが、極めて低い塩濃度で確かに存在することを示した。
- (2) 塩濃度をふやすと、まず外径30nm位の不安定ならせん様構造ができ、その後外径を変えずにらせんが圧縮されて比較的しっかりしたならせん構造ができる。
- (3) ヒストンH1を除いた系では、塩濃度をあげると、同一クロマチン超分子内での不規則な分子会合が起り、分子が団子状になる傾向がある。

以上のように本論文はクロマチンの基本的性質について確かな知見を報じており、学位論文として価値あるものと認める。