

# 放射光によるヒト染色体の構造解析

前島一博

国立遺伝学研究所 構造遺伝学研究センター 〒411-8540 静岡県三島市谷田1111

**要旨**

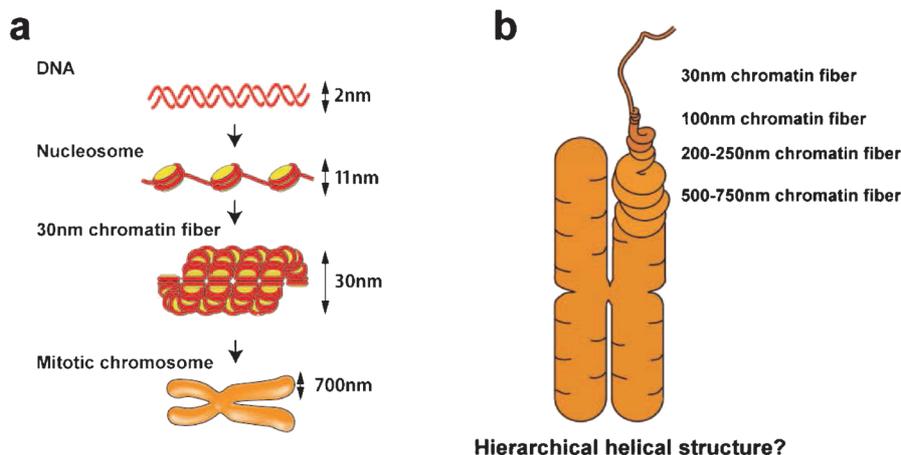
全長2 mにも及ぶヒトゲノムDNAは「人体の設計図」であり、細胞の間期においては直径約十数ミクロンの「細胞核」に収納されている。そして細胞が分裂する際、わずか数十分のうちに長さ数ミクロンの46本の「分裂期染色体」に束ねられる。生物学の教科書では、DNAがヒストタンパク質に巻かれて「ヌクレオソーム」となり、このヌクレオソーム線維が規則正しく束ねられて「クロマチン線維」と、更なる階層構造をつくる様子が図示されている。しかしながら、最近の筆者らのSPring-8の放射光を用いた構造解析の結果、従来の階層構造モデルとは異なり、分裂期染色体がヌクレオソーム線維の不規則な折り畳みで構成されていることが明らかになった。また、このような不規則な収納は細胞の間期においても存在していることを示した。本稿ではゲノムDNAの収納原理について、最近の筆者らの知見を紹介したい。

**はじめに**

私たちヒトの体は約60兆個の細胞からできている。そして、その1個1個の細胞に全長約2 mにも達するDNAが収められている。この約60兆個の細胞はもともと1個の細胞、受精卵に由来する。2の46乗が約70兆であるから、1個の細胞が約46回分裂すると私たちの体の細胞数に匹敵する。そして細胞が分裂する際、DNAは切れたり、絡まったりするのを防ぐために凝縮し、分裂期染色体と呼ばれる46本のDNAの束になる（Fig. 1aとFig. 6a）。この染色体は、塩基性の色素に良く染まるため、19世紀末からそ

の存在が知られてきた。ではどのようにして染色体は形成されるのだろうか。DNAは直径2 nmのマイナス電荷を帯びたとっても細い糸であるが、これをそのまま小さく束ねようとすると、反発が起きてうまくいかない。このため、ヒストン（H2A, H2B, H3, H4が2セットずつから構成されるタンパク質複合体）と呼ばれるプラスに帯電した「糸巻き」に巻かれることで、直径約11 nmのヌクレオソーム線維を作り（Fig. 1a）、DNAのマイナス電荷の約50%を打ち消している。

1976年、イギリスケンブリッジのKlug（1982年ノーベル化学賞受賞）らは、このヌクレオソーム線維が、リン



**Fig. 1** (Color online) (a) In the textbook model, a long DNA molecule is wrapped around a basic core histone octamer that consists of H2A, H2B, H3 and H4 histone proteins, and forms a nucleosome. The nucleosome had long been assumed to be folded into 30-nm chromatin fibers before the higher-order organization of mitotic chromosomes occurs. The images are reproduced with minor modifications from Ref. 8. (b) According to a hierarchical helical folding model, the 30-nm chromatin fiber is progressively folded into larger fibers having diameters of 100–150 and 200–250 nm to form final mitotic chromosomes.

カーヒストンを伴って、らせん状に規則正しく折り畳まれて、直径約30 nmのクロマチン線維が形成されることを提唱した<sup>1)</sup> (Fig. 1a)。現在広く受け入れられている染色体構造の定説では、このクロマチン線維がらせん状に巻かれて約100 nmの線維をつくり、つぎに200–250 nm、さらには500–750 nmのように、規則正しいらせん状の階層構造を形成するとされてきた<sup>2)</sup> (Fig. 1b)。実際、分子生物学の最も有名な教科書である「細胞の分子生物学」では、過去25年以上にわたってこの定説が掲載されており、また高等学校の生物 II の教科書にも記載されている。

## ヒト染色体の X 線小角散乱解析 (SAXS)

2005年頃、理化学研究所に勤務していた筆者は、染色体が階層構造で形成されているとすると、どのようにすればその規則性を検出できるだろうか、と考えていた。筆者は大学院生の頃、中性子小角散乱解析を使って、DNA-タンパク質複合体の構造の規則性を調べた経験があった<sup>3)</sup>。ご存知のように小角散乱解析とは、X線や中性子線を使って、物体の規則性構造を解析する手段である<sup>4)</sup> (Fig. 2a)。タンパク質のような水溶液中の物体も解析することができるため、生物試料に適した手法である。このため、筆者はせっかく理研に在籍しているので、SPring-8の放射光を使って SAXS をおこなえば、染色体の30-nm、100-nm、200-nm 線維などの階層構造を調べることができるのではないだろうか、と考えた。幸い、様々な方の協力により、2006年頃から SPring-8 BL45XU でヒト染色体の SAXS 構造解析を開始することができた。

通常、ヒト培養細胞の SAXS 測定をおこなうと、細胞内に多量に存在する小胞などの膜構造が30–40 nmの強い散乱ピークを持ち、これがノイズになってしまう。このため、筆者は大量のヒト培養細胞 (HeLa 細胞) を分裂期に導入し、そこから大量の分裂期染色体を分離精製した。そして精製したヒト染色体を弱い遠心力で石英ガラスのキャピラリーに詰め、染色体の塊を作り、そこに放射光を照射することにした (Fig. 2b)。ここでは、従来の電子顕微鏡のサンプル作製で行うような化学固定やアルコール脱水などを行っていない。SPring-8 BL45XU の放射光源をヒト染色体に1秒間程度照射させ、出てきた散乱パターンを記録した。散乱シグナルは同心円状に広がる。シグナルを円周平均し、プロットすると~30、~11、~6 nmのピークが再現良く検出できた<sup>5)</sup> (Fig. 2c)。数回連続して X 線を照射しても、この散乱パターンに変化がなかったため、染色体構造に対する放射線ダメージはないと思われる。この測定では、小角側200 nm 位までの範囲で30 nm以上の構造は見られなかった。

実は染色体の SAXS 測定をおこなったのは筆者がはじめてではない。古い文献を調べてみると、約30年前、Klug の共同研究者の Langmore と Paulson が分裂期染色

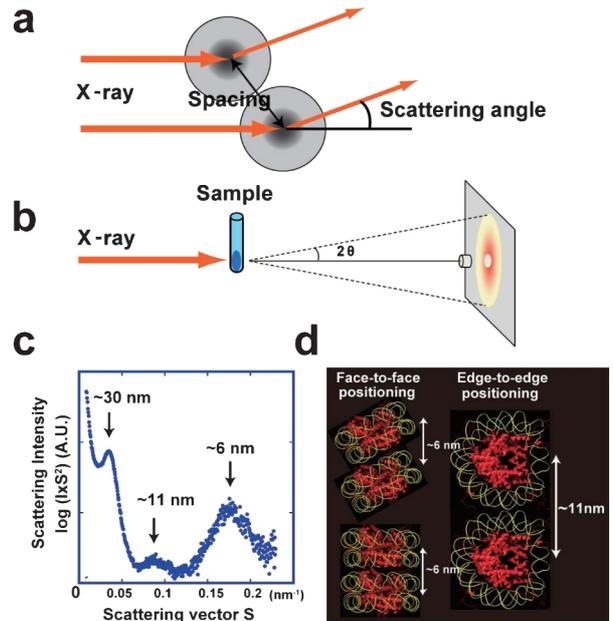


Fig. 2 (Color online) (a) When non-crystal materials are irradiated with X-rays, small-angle scattering generally reflects the size and spacing of internal structures. (b) Experimental setting: a chromosome pellet in a quartz capillary tube was exposed to a synchrotron radiation beam and the scattering patterns were recorded with a CCD camera or imaging plate. (c) Typical SAXS patterns of mitotic HeLa chromosomes. Three peaks at ~6, ~11 and ~30 nm were detected (arrows). (d) Two types of nucleosome positioning: face-to-face, with ~6-nm spacing, and edge-to-edge, with ~11-nm spacing. The nucleosome model image (yellow, DNA; red, core histones). Panels (a) and (b) were reproduced from Ref. 11 with permission. Panels (c) and (d) were reproduced from Ref. 5 with permission.

体に対する SAXS 測定を行い、同様に~30、~11、~6 nmのピークが見られることをすでに報告していた<sup>6)</sup>。彼らの実験は実験室の X 線発生装置を用いていたため、染色体に対して、丸1日以上 of X 線照射が必要であった。また、小角分解能も40–50 nm程度であり、30 nmピークの検出が限界であった。彼らの解釈では、6 nmと11 nmのピークは、ヌクレオソームの face-to-face 配置および edge-to-edge 配置に由来すると述べていた<sup>6)</sup> (Fig. 2d)。そして彼らは、30 nmのピークは30 nmクロマチン線維が並んでいることに由来すると提言していた。このデータが長年の間、染色体内に規則的に折りたたまれたクロマチン線維が存在するという説の強力な証拠になっていた。

筆者は過去の SAXS 測定の追試に成功したことになる。そして2007年頃、筆者は SAXS 測定で染色体に30 nm以上のピークは検出できなかったため、染色体は30 nmクロマチン線維が不規則に折り畳まれているのだろう、と考察していた。

## ヒト分裂期細胞のクライオ電子顕微鏡観察

同じ頃、筆者はドイツ EMBL のグループと共に、生きのままに近い状態の細胞を観察できるクライオ電子顕微鏡を用いて、分裂している HeLa 細胞を解析していた<sup>7,8)</sup>。通常の電子顕微鏡では試料を真空中にさらすために、試料が化学固定・アルコール脱水・樹脂包埋・切片作製そして染色という複雑なプロセスを経る必要がある。しかし、こうした試料作製の過程は細胞内のさまざまな分子を人工的に凝集させたり、抽出させたりしてしまう可能性がある<sup>9)</sup>。クライオ電子顕微鏡では、このような処理を一切行わず「生きている」状態を保存するために、細胞を高圧下で急速凍結し、凍結した細胞を極低温下（-150度）で薄く切り（切片化）、その切片を極低温下でそのまま観察を行うのが特徴である。筆者らがクライオ電子顕微鏡を用いて分裂期細胞を観察した結果、ヌクレオソーム線維の存在を示す「11 nm の構造」を確認することはできたが、「30 nm の構造」を観察することはできなかった<sup>7,8)</sup>。驚いたことに、SAXS で検出できた 30 nm のピークがクライオ電顕では検出できなかったのである。

## ヒト分裂期染色体には 30 nm クロマチン構造はほとんど存在しない

SAXS とクライオ電顕の解析結果は一致しなかった。なぜだろうか？ クライオ電顕では、厚さ 50 nm 程度の薄い切片を観察するため、染色体のごく一部しか解析できない。また、特異的な染色をおこなわないため、得られた画像の濃淡（コントラスト）が極めて薄いなど、いくつかの技術上の問題があったので、これらが原因とも考えられた。先に述べたように、2007年頃、筆者は染色体の中には 30 nm クロマチン線維が存在していると信じて疑わなかったため、なおさらクライオ電顕の解析の方に問題があると思っていた。

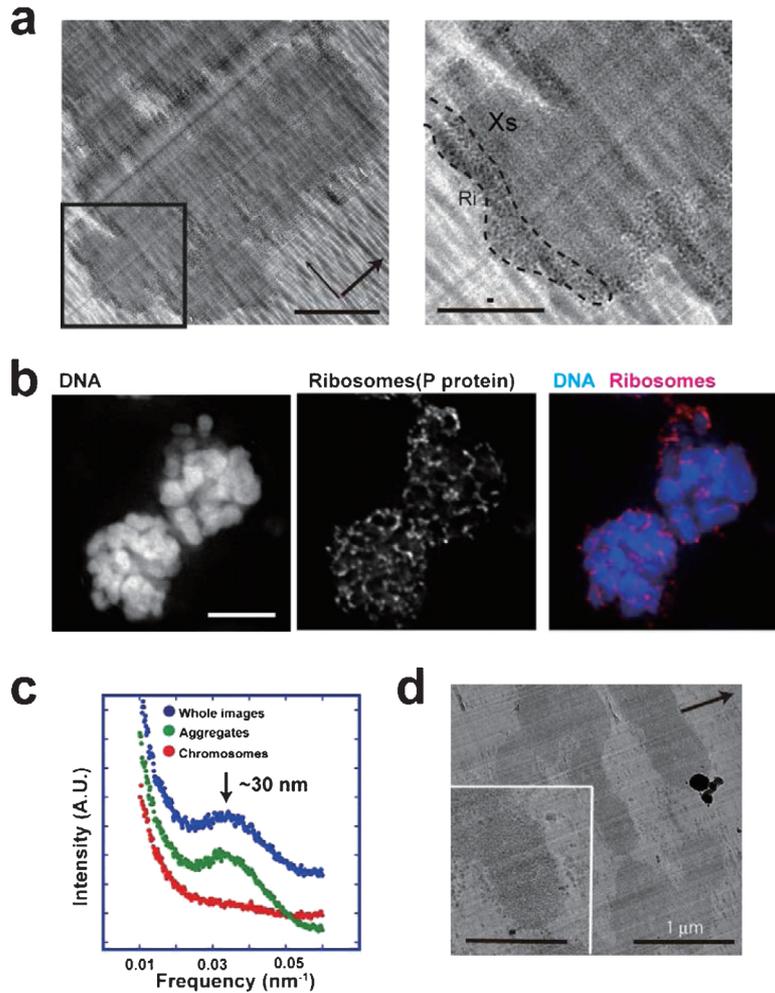
その一方で、SAXS 測定には、精製したヒト染色体を用いていたため、その精製したヒト染色体をクライオ電顕で観察してみることにした。すると、驚いたことに、電子密度の高い粒子の凝集体（黒い粒々）が染色体表面に観察された<sup>5)</sup>（Fig. 3a）。その大きさから、これらの粒子はリボソームだと考えられた。この予測はリボソームに対する抗体を用いた免疫染色とウェスタンブロッティングで確かめられた（Fig. 3b）。この凝集体に含まれているリボソームは、規則的な間隔で並んでいるようであった。このリボソームの間隔の周期性を調べるため、クライオ電顕イメージ（Fig. 3a）のパワースペクトル（フーリエ変換）解析を行った（Fig. 3c）。染色体領域を選択的に解析したところ、30 nm のピークは検出できなかった（Fig. 3c）。これはクライオ電顕の研究の結果と一致する。しかし、リボソームの凝集領域は～30 nm の顕著なピークを示した（Fig. 3c）。

この結果は、SAXS における 30 nm のピークがリボソームの凝集体に由来する可能性を示唆している<sup>5)</sup>。

リボソームの凝集体が本当に 30 nm の SAXS ピークの正体であるのかを確かめるため、ポリアミンおよび EDTA を含む等張のバッファー（buffer A）で染色体を洗い、リボソームの凝集体を取り除いた。このバッファーは、染色体の大きさや形を維持することができる。この処理をした後、もとのバッファーに再懸濁した。この処理によって、リボソーム凝集体の大半を染色体表面から取り除くことができた<sup>5)</sup>（Fig. 3d）。予想通り、パワースペクトルおよび SAXS での 30 nm ピークはほぼ完全に消失した（Fig. 4a）。消失しなかった他のピークは主にヌクレオソームの内部構造に由来するものであり、変化しなかった（Fig. 4a）。さらに抽出したリボソームは 30 nm 周辺に鋭いピークを示すので（Fig. 4a 右パネル）、30 nm の SAXS ピークは染色体本体ではなく表面のリボソームの凝集体に由来するということが明らかになった（Fig. 4b）。したがって、筆者の 2007年当時の思惑（偏見・先入観）に反して、筆者らは、分裂期染色体には 30 nm クロマチン構造はほとんど存在しないと結論した<sup>5)</sup>。

## ニワトリ赤血球核の解析と計算機シミュレーション

筆者らは、分裂期染色体には 30 nm クロマチン構造はほとんど存在しないと結論した。しかし、本当に SAXS やクライオ電顕で 30 nm クロマチン線維を観察できるのだろうか、という疑問が残る。この疑問に答えるためには、ポジティブコントロールが必要である。筆者らは 30 nm クロマチン線維のポジティブコントロールとして、ニワトリの赤血球細胞を用いた<sup>5)</sup>。過去の報告で、ほぼ完全に転写が不活化されている細胞であるニワトリの赤血球細胞の核には「本当」の 30 nm クロマチン線維が含まれていると示唆されていた（なぜ存在するかについては後述）<sup>10)</sup>。赤血球細胞に対して SAXS 解析を行った結果、30 nm の鋭いピークと～11 nm、～6 nm の 2 つの目立ったピークが観察された（Fig. 4c）。またクライオ電顕によっても、ニワトリ赤血球細胞核内に 30 nm クロマチン線維と思われる構造が観察できた（Fig. 4d）。さらに、クロマチン領域に対してパワースペクトル解析を行い、約 30 nm の周期的な構造を発見した。これらの結果は、以前報告されていた結果と一致するものであった<sup>10)</sup>。また、ニワトリの赤血球にはリボソームは検出できなかった。以上のことから、30 nm クロマチン線維が実際に存在すれば、SAXS とクライオ電顕で観察が可能であると言える<sup>5)</sup>。それでは、なぜニワトリの赤血球のような細胞で、「本当」の 30 nm クロマチン線維が存在するのだろうか（ちなみに私たちの赤血球には核がない）。このような終末分化した細胞は分裂していない。クロマチン線維の形成のため、線維内のヌクレオソ-

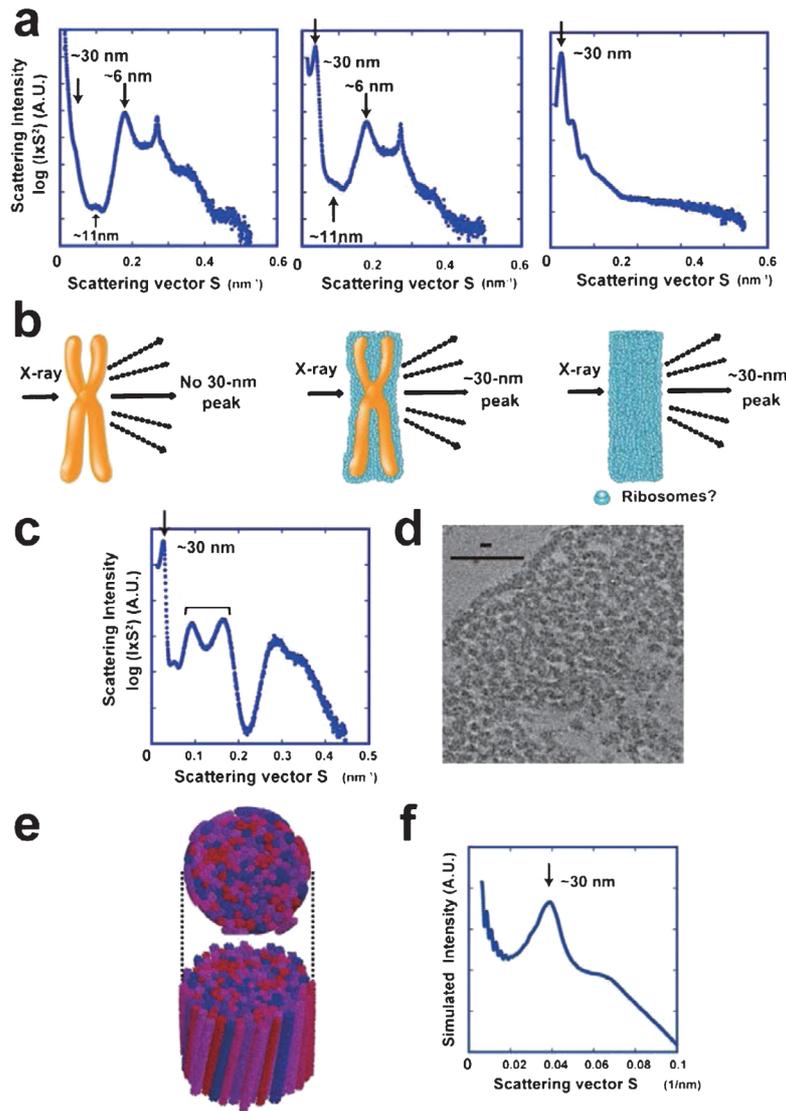


**Fig. 3** (Color online) (a) Cryo-EM image of the chromosome clusters (cross-sections). Many black dots were observed on the chromosome surface. Note that knife marks (thick arrow) and compression marks (thin arrow) were observed. Bars indicate 1  $\mu\text{m}$ . An enlarged image of the region outlined with a box is depicted on the right. A black dot region is surrounded by a broken line (Ri). A chromosome part is marked as 'Xs'. Long and short bars indicate 0.5  $\mu\text{m}$  and 30 nm, respectively. (b) Immunostaining with anti-P antibody against a ribosomal component suggested that the peripheral black dots were ribosome aggregates. DNA (DAPI), a ribosome and merged images of two chromosome clusters are shown. Bar indicates 10  $\mu\text{m}$ . (c) Power spectrum (Fourier transform) analyses of the aggregated regions, the chromosome regions and whole cryo-EM images. A 30-nm peak (arrow) was seen in the aggregated region (green dots) and whole images (blue dots). (d) Removal of ribosome aggregates. Isolated chromosomes were washed in buffer A (polyamine + EDTA) and then returned to IB containing 5 mM  $\text{Mg}^{2+}$ . Cryo-EM showed that this treatment removed most of the aggregates. Note that knife marks (arrow) were observed. Bar indicates 1  $\mu\text{m}$ . The inset shows an enlarged image. Long and short bars indicate 0.5  $\mu\text{m}$  and 30 nm, respectively. Panels (a)–(d) were reproduced from Ref. 5 with permission.

ムの選択的な結合を可能にする特異的な蛋白質や、ヒストン修飾を介した特別なメカニズムが存在し、規則正しい30 nmクロマチン線維を形成しているのだろう。そして、おそらく、遺伝子発現を不活化しているのだろう<sup>11)</sup>。

一方、SAXSに詳しい読者は、SAXSではサイズのバリエーションがある物体の場合、ピークとして検出できないのではないかと、という疑問を抱かれるかもしれない。これに対して、JASRI城地による計算機シミュレーションによって、緩い30 nm線維として直径方向(15%)及びねじれ方向(15%)にばらつきを許しても(Fig. 4e)散乱結果は30 nmの鋭いピークを示すことができた<sup>5)</sup>(Fig.

4f)。加えて、細胞内のクロマチンにはスクレオソームの欠損、リンカーの長さや翻訳後修飾のばらつきなどが見られるが、スクレオソームの欠損のような欠陥によって容易に30 nmクロマチン線維が構成できなくなることが報告されている<sup>12)</sup>。以上のことから、筆者らは分裂期染色体に「緩い」30 nmクロマチン線維が存在する可能性は排除できないものの、少なくとも分裂期染色体の大部分では存在しないだろうと考えている。

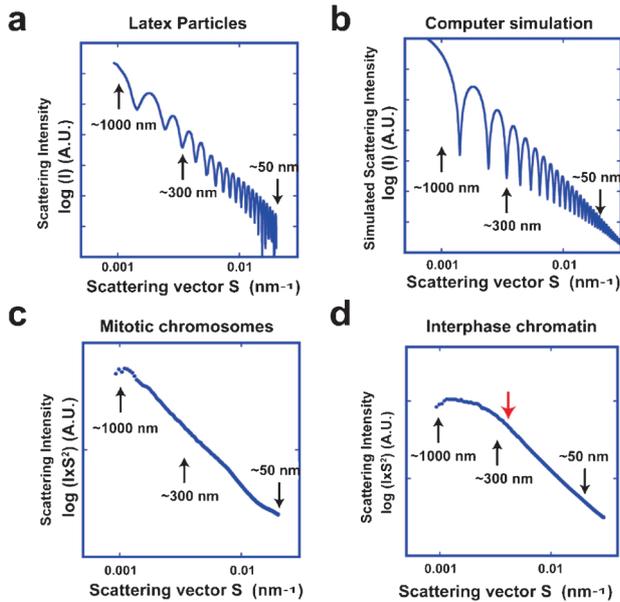


**Fig. 4** (Color online) (a) In SAXS analysis, only the 30-nm peak disappeared after removal of ribosome aggregates (left), whereas the other peaks remained. A ribosomal fraction from *Xenopus* egg extracts (kindly provided by Dr T Hirano, RIKEN) produced a 30-nm peak (arrow) on SAXS (right). (b) Model explaining the results: the 30-nm peak in SAXS comes from regularly spaced aggregates of ribosomes, and not from the chromosomes themselves. (c) The chicken erythrocyte nuclei produced a sharp 30-nm peak (arrow). In addition, two peaks of  $\sim 11$  and  $\sim 6$  nm were prominent (brackets). (d) Dot-like 30-nm structures in the chicken erythrocyte nucleus were observed by cryo-EM. Long and short bars indicate 200 and 30 nm, respectively. (e) Compact bundles of 30-nm fibers, with variations in their diameter ( $\pm 15\%$ ) and torsion ( $\pm 15\%$ ), were computationally modeled. The upper image is the top view, and the bottom is the side view. (f) The modeled 30-nm fiber bundles produced a peak at  $\sim 30$  nm. Panels (a)–(f) were reproduced from Ref. 5 with permission.

## 放射光極小角散乱 USAXS による 分裂期染色体の構造解析

今までの実験により 30 nm のクロマチン構造は検出されないことがわかったが、分裂期染色体にさらに大きな規則的な構造があるのかという疑問は残っていた。そのため、SAXS によって染色体領域全体を調べることができるよう測定が必要であった。この目的のため、筆者らは、SPring-8 BL29XUL で、西野（現北大）らによって開発されたコヒーレント X 線回折顕微鏡 CXDM の装置を利用

することにした<sup>13)</sup>。この装置は本来小角散乱のためのものではないが、系全体が真空中にあり、ノイズも低く、高い小角分解能が得られる。実際、西野と筆者らは、この装置を用いて、単一のヒト染色体の CXDM によるイメージングに成功していた<sup>13)</sup>。この装置を用いて、極小角散乱測定 (USAXS) をおこなうためには、サンプルを真空中に設置する必要がある。このため、筆者はヒト染色体を詰めた石英ガラスのキャピラリーを接着剤で密封し、キャピラリー内の溶液の蒸発を防ぐことにした。この装置の USAXS での性能を確かめるため、 $\sim 1000$  nm のラテック

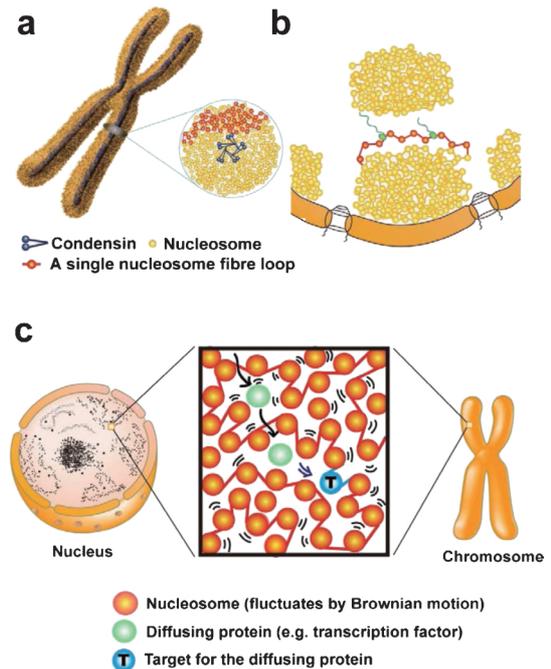


**Fig. 5** (Color online) (a) USAXS study of latex particles with diameters of  $\sim 1000$  nm showed clear fringes over a wide range ( $\sim 50$ – $1000$  nm). The profile is plotted as  $\log(I)$  versus  $\log(S)$ . (b) A computer simulation of latex particles with diameters of  $\sim 1000$  nm produced a pattern highly similar to that measured. (c) USAXS of human mitotic chromosomes, no notable structures around 100–150 or 200–250 nm were detected. (d) USAXS of human interphase chromatin, no notable structures  $\sim 100$ – $150$  or  $200$ – $250$  nm were detected in HeLa interphase nuclei. Beyond the  $\sim 275$  nm range (red arrow), the slope in interphase chromatin decreased in magnitude. Panels (a)–(d) were reproduced from Ref. 5 with permission.

ス粒子をコントロールとして測定したところ、 $\sim 50$ – $1000$  nm の範囲でフリンジのパターンが表れることがわかった<sup>5)</sup> (Fig. 5a)。このフリンジやその傾きは、城地の計算機シミュレーションで予測された散乱パターンとほぼ等しかったため (Fig. 5b)、この装置の測定可能範囲は染色体全体の大きさをカバーすることが確かめられた。この装置を用いて、USAXSを実際に行ったところ、 $\sim 50$ – $1000$  nm の範囲に規則的な構造は検出されなかった<sup>5)</sup> (Fig. 5c)。さらに、染色体の散乱パターンが広範囲において散乱強度と散乱ベクトル (構造の大きさの逆数) との間でべき乗則に従っていることが見出された。この散乱特性から、ヌクレオソーム線維がフラクタルな性質を持ちながら不規則に折りたたまれていることが示唆された (Fig. 6a)。この考えと一致して、最近、ヒト間期クロマチンのフラクタル構造の証拠も得られている (フラクタルグロービュール)<sup>14)</sup>。

### 細胞間期のクロマチン構造

これまでは分裂期染色体に焦点をあててきた。それでは、間期の細胞核内のクロマチンは一体どのような構造になっているのだろうか。筆者らは、間期核内での主なクロマチ



**Fig. 6** (Color online) (a) Chromosomes consist essentially of irregularly folded nucleosome (beads on a string) fibers. Condensins (blue) hold the nucleosome fibers (red) globally around the chromosome centre. Locally, the nucleosome fiber is folded in an irregular or disordered manner, forming loop structures that are collapsed towards the chromosome centre (blue). (b) In the interphase nucleus, there are numerous compact chromatin domains like “chromatin liquid drops” (yellow balls). Red, transcribed nucleosome; Green, RNA polymerase and RNA. (c) In the cells, nucleosome fibers (Red balls and lines) are irregularly folded. The nucleosomes are fluctuating. This nucleosome dynamics facilitates chromatin accessibility. The nucleosome fluctuation is the basis for scanning genome information. Panels (a) was reproduced from Ref. 5 with permission.

ン構造を知るために、リボソームを除いた間期の HeLa 細胞の単離核の SAXS を調べた<sup>11)</sup>。すると、ニワトリ赤血球核の結果とは異なり、 $30$  nm の構造は検出されなかった<sup>11)</sup>。このことは、分裂期染色体と同様に、ヒト細胞間期クロマチンには  $30$  nm のクロマチン線維が存在しないことを示唆している<sup>11)</sup>。この結果と一致して、クライオ電子顕微鏡による観察では、ほとんどの高等真核生物の間期核において規則的な  $30$  nm クロマチン線維が見られていない<sup>15)</sup>。また最近、Bazett-Jones のグループは、ヌクレオソーム線維を観察できる解像度を持つ電子分光結像法 (ESI) により同様の結果を示した<sup>16,17)</sup>。クライオ電子顕微鏡や電子分光結像法は、いずれも電子顕微鏡に基づく手法であり、核の全体ではなくごく限られた領域しか観察できない。SAXS の研究は、これらの手法で得られた結果にさらなる確証を与えるものである。また、USAXS 測定においても、 $50$ – $1000$  nm の範囲において、間期クロマチンに周期的な構造は観察されなかった<sup>11)</sup> (Fig. 5d)。間期クロマチンの局所的な領域では、 $30$  nm 線維や他の規則的

な階層構造が存在している可能性は否定できないが、SAXSやUSAXSの結果から、間期クロマチンの大部分においては、ヌクレオソーム線維が不規則に折り畳まれていると考えられる<sup>11)</sup> (Fig. 6b)。次に、筆者たちは分裂期染色体と間期クロマチンのUSAXSの散乱プロファイルと比較した。面白いことに、275 nmより短い長さスケールの範囲で同じような特性を示した (Fig. 5d)。このことから、分裂期染色体と間期クロマチンはこの範囲内において類似した構造を持つと考えられる<sup>11)</sup> (Fig. 6aとb)。まとめると、間期クロマチンと分裂期染色体はマクロスケールでは大きく異なる形態を示しているけれども、両者とも30 nmクロマチン線維を形成しておらず、ヌクレオソーム線維が不規則に折り畳まれ、凝縮した構造を持っていると考えられる (Fig. 6aとb)。

## ヌクレオソーム線維の自由で柔軟な収納が遺伝情報の検索に重要である

このような細胞内の不規則なヌクレオソーム線維の収納はどのようなメリットを持つだろうか。ヌクレオソーム線維が規則正しい線維構造や階層構造を作っていると、いざ、遺伝情報を検索し、使用する際、多くの部分が隠されてしまうことになる。昔よく使われたカセットテープでは、きれいに巻き取られていたため、選曲をするのにテープを早回しする必要があったことを覚えている方も多いと思われる。一方、ある程度のいい加減さを持って不規則に収納されていると、物理的な束縛が少ないため、個々のヌクレオソームが動ける余地も増え、遺伝情報の検索にとっては便利なことが多いと考えられる。

最近、筆者らは生きた細胞の中で、このヌクレオソームの動き(ゆらぎ)を観察することに成功した<sup>18)</sup> (Fig. 6c)。蛍光タンパク質を結合したヒストンを細胞の中で発現させることにより、細胞内でのヌクレオソームの動きを測定することができた。その結果、細胞内ではヌクレオソームがダイナミックに揺らいでおり、30ミリ秒の間に50–60 nm動くことが分かった。また、モンテカルロ法という計算機シミュレーションなどを用いて、ヌクレオソームのゆらぎがその中のタンパク質の動きを促進させていることを突き止めた<sup>18)</sup>。筆者らはこのヌクレオソームのゆらぎはブラウン運動によって起きていると考えており、遺伝情報探索のエネルギー的な観点からも興味深いと思われる (Fig. 6c)。また、このヌクレオソームのゆらぎによって、ゲノムDNAは隠されることなく、ある頻度で外に露出すると考えられる。このように、筆者らの研究から、細胞内のヌクレオソームのゆらぎは、タンパク質の運動とDNAへのアクセスの両面において重要であることがわかった<sup>18)</sup> (Fig. 6c)。

## 終わりに

今回、筆者らはSPring-8の放射光を用いたSAXS解析の結果、間期の核のクロマチンや分裂期染色体がヌクレオソーム線維の不規則な折り畳みで構成されていることを明らかにした。現在、単離したクロマチンを用いて、より精密な構造解析をおこなっている。SAXS解析はこれからも生体高分子の重要な構造解析手段で有り続けるだろう。

## 謝辞

本研究を共におこなって頂いたすべての共同研究者の皆さまに感謝致します。とりわけ、SPring-8 BL45XU 伊藤博士・引間博士、BL29XUL 西野博士(現北大)・高橋博士(現阪大)、JASRI 城地博士、EMBL Eltsov 博士、理研・今本主任研究員・石川主任研究員のサポートに深く感謝致します。また、SAXS測定 of 初期、理研・藤澤博士(現岐阜大)と早川博士(現ソニー)にもお世話になりました。お礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) J. T. Finch and A. Klug: Proc Natl Acad Sci U S A **73**, 1897 (1976).
- 2) J. Sedat and L. Manuelidis: Cold Spring Harb Symp Quant Biol **42 Pt 1**, 331 (1978).
- 3) C. Ellouze, H. K. Kim, K. Maeshima, E. Tuite, K. Morimatsu, T. Horii, K. Mortensen, B. Norden and M. Takahashi: Biochemistry **36**, 13524 (1997).
- 4) R.-J. Roe: (2000).
- 5) Y. Nishino, M. Eltsov, Y. Joti, K. Ito, H. Takata, Y. Takahashi, S. Hihara, A. S. Frangakis, N. Imamoto, T. Ishikawa and K. Maeshima: Embo J **31**, 1644 (2012).
- 6) J. P. Langmore and J. R. Paulson: J Cell Biol **96**, 1120 (1983).
- 7) M. Eltsov, K. M. Maclellan, K. Maeshima, A. S. Frangakis and J. Dubochet: Proc Natl Acad Sci U S A **105**, 19732 (2008).
- 8) K. Maeshima, S. Hihara and M. Eltsov: Curr Opin Cell Biol **22**, 291 (2010).
- 9) K. Maeshima, S. Hihara and H. Takata: Cold Spring Harb Symp Quant Biol **75**, 439 (2010).
- 10) C. L. Woodcock: J Cell Biol **125**, 11 (1994).
- 11) Y. Joti, T. Hikima, Y. Nishino, F. Kamada, S. Hihara, H. Takata, T. Ishikawa and K. Maeshima: Nucleus **3**, 404 (2012).
- 12) P. M. Diesinger and D. W. Heermann: Biophys J **97**, 2146 (2009).
- 13) Y. Nishino, Y. Takahashi, N. Imamoto, T. Ishikawa and K. Maeshima: Physical Review Letters **102**, 18101 (4 pages) (2009).
- 14) E. Lieberman-Aiden, E. Lieberman-Aiden, N. L. van Berkum, L. Williams, M. Imakaev, T. Ragoczy, A. Telling, I. Amit, B. R. Lajoie, P. J. Sabo, M. O. Dorschner, R. Sandstrom, B. Bernstein, M. A. Bender, M. Groudine, A. Gnirke, J. Stamatoyannopoulos, L. A. Mirny and E. S. Lander: J. Dekker., Science **326**, 289 (2009).
- 15) S. Fakan and R. van Driel: Semin Cell Dev Biol **18**, 676 (2007).

- 16) E. Fussner, R. W. Ching and D. P. Bazett-Jones: Trends Biochem Sci **36**, 1 (2011).
- 17) E. Fussner, M. Strauss, U. Djuric, R. Li, K. Ahmed, M. Hart, J. Ellis and D. P. Bazett-Jones: EMBO Rep (2012).
- 18) S. Hihara, C. G. Pack, K. Kaizu, T. Tani, T. Hanafusa, T. Nozaki, S. Takemoto, T. Yoshimi, H. Yokota, N. Imamoto, Y. Sako, M. Kinjo, K. Takahashi, T. Nagai and K. Maeshima: Cell Rep **2**, 1645 (2012).

## 著者紹介



## 前島一博

国立遺伝学研究所・構造遺伝学研究センター・教授

E-mail: kmaeshim@nig.ac.jp

専門：細胞生物学，生物物理学

## 【略歴】

1999年，大阪大学大学院医学研究科博士課程修了，2004年までスイス・ジュネーブ大学・研究員。理化学研究所研究員・専任研究員を経て09年から現職。理化学研究所客員研究員。

## Structural study of human chromosomes by synchrotron radiation beam

**Kazuhiro MAESHIMA** Structural Biology Center, National Institute of Genetics, Mishima, Shizuoka 411-8540, Japan

**Abstract** How is 2-m-long genomic DNA organized into a mitotic chromosome or nucleus? The nucleosome fiber has long been assumed to be folded into a 30-nm chromatin fiber, and further helically folded larger fiber. To investigate the bulk structure of mitotic chromosomes, we performed small-angle X-ray scattering (SAXS) at SPring-8. No structural feature larger than 11 nm was detected, even on a chromosome-diameter scale ( $\sim 1 \mu\text{m}$ ). We also found a similar scattering pattern in interphase nuclei of HeLa cells in the range up to  $\sim 275$  nm. Our findings suggest a common structural feature in interphase and mitotic chromatins: compact and irregular folding of nucleosome fibers occurs without a 30-nm chromatin structure.