

**【目的】**細胞の分裂期染色体の凝縮は、複製されたゲノムクロマチンを姉妹染色分体へと分離する驚異的な自己組織化過程であり、この過程の不具合は染色体異常、さらには細胞のがん化に直結する。この染色体の構築には、巨大なタンパク質複合体コンデンシン I、II やトポイソメラーゼ II  $\alpha$  の関与が知られているが、長いゲノム DNA からどのように染色体が構築されるのか？その原理は依然不明な点が多い。従来の定説によるモデルでは、まず負電荷を持つゲノム DNA が正電荷に富むヒストンに巻かれた構造であるヌクレオソームを作る。そしてヌクレオソームが規則正しく配置された 30 nm 線維、さらにはらせん状に折り畳まれた階層構造を形成するとされてきた。しかし、前島らのクライオ電子顕微鏡や、SPring-8 の放射光散乱を用いた解析では、ヒト分裂期染色体には 30 nm 線維を含めた階層構造が存在せず、ヌクレオソームの線維が不規則に折り畳まれていることが明らかになった。その後、同様な知見は様々な電顕技術を用いて他グループでも確認されている。このように不規則に折り畳まれたクロマチンは、規則的構造に縛られている場合に比べて物理的束縛が少なく、よりダイナミックに動く予想された。実際、前島らが、生きた分裂期細胞内においてまばらに蛍光標識したヌクレオソーム 1 分子の動きを斜光照明顕微鏡で観察したところ、個々のヌクレオソームが 50 ms の短い時間にも数十 nm と大きく揺らいでいることが分かった。すなわち分裂期を含め細胞のクロマチンは不規則でダイナミックな構造であることが明らかになった。本研究では、分裂期染色体凝縮過程をヌクレオソーム動態変化として捉え、1 分子ヌクレオソームイメージングを用いて、染色体の個々のヌクレオソームの動きの変化を経時的に測定、解析することを目的とする。さらに、染色体凝縮に必須な因子とされているコンデンシン I、II の迅速除去操作を組み合わせ、これらの因子が染色体内のヌクレオソームの動きをどのようにコントロールしているのか？新しい観点から染色体構築過程を明らかにする。

**【方法】**細胞周期の間期のクロマチン、分裂期染色体の個々のヌクレオソームの動態を 1 分子イメージング技術で可視化した。具体的にはヒト HeLa 細胞、あるいは HCT116 細胞に HaloTag を融合させたヒストン H2B を安定的に発現させた。H2B-Halo を少量の HaloTag リガンド TMR で標識し、斜光照明顕微鏡で個々のヌクレオソームをイメージングした。輝点の中心を正確に決定し、ヌクレオソームの動きのトラッキングを行った。トラッキングデータより個々のヌクレオソームがどのくらい拡散するのかを知る指標である平均二乗変位 MSD を算出し、動態を解析した。

**【結果】**イメージングを用いて、間期クロマチンが主に熱ゆらぎによって揺らいでいることを示唆し、この局所的なヌクレオソーム運動が間期を通じてほぼ一定であることを明らかにした。一方、分裂期の染色体のクロマチンは、間期のそれよりも拘束され、動きが抑えられていることが分かった。さらに、コンデンシンはそのクロマチンの拘束を担っていることを示した。

分裂期染色体のヌクレオソームのゆらぎ

