

京都大学	博士（生命科学）	氏名	Prieto, Eloise Infante
論文題目	Nanometer-scale analysis of chromatin structures: the effects of histone tails, histone charge, and linker histone H1 on salt-induced compaction and higher-order folding		
（論文内容の要旨） Histones are highly conserved proteins among eukaryotes that are essential for organizing and compacting their genome into the nucleus. The structural and functional roles of histone tails, histone charge, and linker histones were addressed by nanometer-scale analyses of reconstituted nucleosome arrays. (1) Atomic force microscopy (AFM) revealed that the reconstituted nucleosomes with human tailless histones failed to aggregate at high salt condition and were unable to promote formation of 30-nm fibers upon the addition of linker histone H1. (2) AFM also showed that the nucleosomes reconstituted with acetylated human core histones and <i>S. pombe</i> core histones also failed to form high salt-induced aggregates but were able to form distinct thick fibers (higher-order structures) in the presence of histone H1. (3) However, H1-induced fibers using acetylated and <i>S. pombe</i> core histones had smaller widths than those with the non-acetylated human histones. (4) AFM analysis showed that the gyration radii of the nucleosome arrays composed of tailless, acetylated, and <i>S. pombe</i> core histones were larger compared with the gyration radii of full length, non-acetylated human reconstituted nucleosome arrays. (5) Similarly, the nearest neighbor distance (NND) distribution of nucleosomes was larger in the tailless, acetylated, and <i>S. pombe</i> nucleosomes. These demonstrate that the removal of histone tails or decreasing core histone charge would increase repulsion between nucleosomes, exhibiting the electrostatic mechanism of chromatin folding. These results also illustrate the critical roles of core histone tails, core histone charge, and linker histone H1 in the formation of higher-order chromatin structures particularly, the 30-nm fiber. In order to investigate the <i>in vivo</i> effect of linker histone H1 on the chromatin structure, human linker histone H1 was expressed in <i>S. pombe</i>, a yeast with no linker histone genes in its genome. Although human H1 was able to bind to the yeast chromatin, it did not change the <i>S. pombe</i> nucleosome repeat length (NRL). This suggests that the <i>S. pombe</i> NRL is the shortest possible one with or without the linker histone, H1. Interestingly, the expression of H1 decreased the growth rate of <i>S. pombe</i>, suggesting that the H1-containing chromatin structure itself become ‘rigid’ and transcriptional activities decreased without changing the NRL. At this moment, how the yeast NRL is determined remains unknown.			

(論文審査の結果の要旨)

真核生物のゲノムDNAは細胞に秩序正しく収納されているが、同時にゲノムの複製やゲノム内遺伝子の発現という生命の基本的現象を遂行している。したがって、このゲノムDNAの収納機構は調節可能な動的なものである。この収納機構に根本的に関わっているのが、進化的に非常に保存された4種類の「コアヒストン」と呼ばれる塩基性タンパク質である。コアヒストンはゲノムDNAを規則正しく巻き付け直径11ナノメートルの「ヌクレオソーム」と呼ばれる基本単位を形成するが、本論文は、コアヒストンの持つ正電荷がヌクレオソーム形成に如何に影響するかを生化学と構造生物学の手法を組み合わせで明らかにしたものである。

筆者は、(1) 種によってヌクレオソームとヌクレオソームの間隔が異なること、特に、ヒトでは～180塩基対、分裂酵母では～150塩基対と差があること、(2) コアヒストンのN-末端のアミノ酸配列は比較的揺らいでいること、特に、ヒトのコアヒストンは分裂酵母のコアヒストンに比べてより正電荷を帯びていること、に着目し、(1) 「ヌクレオソーム同士は高塩濃度下においては凝集する」という実験的事実、(2) 「一連の連なったヌクレオソームはリンカーヒストンH1の存在下に直径30ナノメートルのファイバーを形成する」という実験的事実を利用して、各種の異なる正電荷を持ったコアヒストンを用いて生化学的に再構成したヌクレオソームのナノメートルスケールの構造を、原子間力顕微鏡法で解析した。

得られた結果は(1) 分裂酵母のコアヒストンを用いて再構成したヌクレオソームは高塩濃度下においては凝集できず、リンカーヒストンH1存在下において形成されるファイバーは～20ナノメートルと、ヒトのコアヒストンを用いて形成されるものより細い。(2) N-末端を欠損したヒトのコアヒストン、あるいはアセチル化により正電荷を減少させたヒトのコアヒストンを用いて再構成したヌクレオソームは、分裂酵母のコアヒストンを用いて再構成したヌクレオソームと非常に似た振る舞いをする、というものであった。

以上の結果を、「正電荷の少ないコアヒストンからなるヌクレオソームは負電荷が大きく、ヌクレオソーム間の電氣的反発の増大に起因する」と解釈した。本論文では「ヌクレオソームとヌクレオソームの間隔の種間における違い」の原因は解明されなかったが、コアヒストンの電荷の差がヌクレオソームの動態に大きく影響することを明らかにしたもので、意義がある。

よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

また、平成25年1月28日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日