染色体の機能と高次微細構造

— DNA の高次構造の分化と制御 —

東京大学 渡 部 真[※]
理 学 部

はじめに

分子遺伝学は、いまや一つの峠を越したという声を聞くことが多くなった。分子遺伝学の当面の課題を、¹⁾遺伝情報の記憶と複写および書き込みと読み出しなど、情報処理の機構の解明に限り、その機構を担う実体を、²⁾基本的に把握することを第一の目標とするならば、そのためのくい打ち工事はひとまず終ったという意味であろう。しかし、それらの支柱を結びあわせて、さらに「分子組織系としての遺伝機構」また「構造と機能の発生の分子的機構」、すなわち種々の素過程およびその分子の実体が組織化され、時間的空間的に統合されて機能を果たしていく、その機構を解明することは、²⁾第二の目標として、特に遺伝学的应用面との相互浸透を隔てる、大きな未知の真空地帯として残されている。なかでも、遺伝情報伝達の制御機構に関する分子論は、生体機能のほとんどすべてに結びつく結節点として、最も重要である。

特に多くの応用的分野からの要請が、この方面の研究の発展を求めている。以下、この種の研究の一例として、高等生物染色体の機能と構造に関する若干のモデルを中心に、問題点を整理してみたい。

1. 染色体の機能

いま1個の細胞を、完全に自動化された一つの生産工場にたとえるならば、この工場の材料倉庫から加工工程、組立工程、検査工程、運搬工程など、あらゆる現場で動作している自動装置の、制御用コンピューターや工程管理用コンピューターに関する、すべての管理プログラムを記憶している大容量の外部記憶装置に、染色体を対比させることができる。

たとえば、DNA という情報テープがかなり短い長さを単位として、定方向へ分節的に複製されることや、

テープの末端を⁴⁾継ぎ合わせるスプライサーの働きが最近わかってきた。これらのしくみによって、細胞工場の管理プログラムのライブラリーは、細胞分裂に際してそっくりその全体が複製され、一部の交換や挿入、⁴⁾継ぎ換えなどの編成換え (chromosomal rearrangement) を受けながら、新しい細胞工場へ移管され、次の生産活動への入力となる。一方、生産現場への動作指令や個々のプログラムは、情報のブロック (operon) ごとに高速な記憶装置へ転送され、各工程のコンピューターや工作機械へ配分される。この高速記憶媒体であるメッセンジャーRNA (m-RNA) への、情報の書き込み (transcription) のためのサーボ系 (RNA ポリメラーゼ) や、オペロンの読み出しの始動・停止・継続の指令の実体が、明らかになりつつある。さらに、各現場の最初の生産物である蛋白質が、リボゾームという制御用コンピューターを自蔵した自動工作機械によって、m-RNA に記憶されているプログラムに従って生産される (translation)。

この工程のサーボ機構 (ポリゾーム・t-RNA・各種酵素系) や、始動・停止の指令を与えるテープマークの実体、またプログラム自体のコード体系 (codon) が、⁴⁾ほぼ完全に解明された。

もっとも、細胞という自動生産工場は、本来その製品の部品材料はもち論、各工程に必要な工作機械やコンピューターをはじめ、工場の建造施設すらも、自らの工場内で自家生産しなければならない。まだ完全には実現を見ていない、理想的な完全自動工場ですら、単一もしくはある限られた種類の製品だけを生産するのに過ぎないことを思うと、1個の細胞の全工程を管理しているプログラムは極めて複雑で、必要な情報の量は、膨大なものと考えざるを得ない。しかも1個の細胞は、分裂サイクルを通じて、完全なプログラム制御がなされるように、全プログラムを用意しているに相違ない。特に多細胞の高等生物では、1個の受精卵が内蔵していた遺伝情報のライブラリーが、複製倍加されて娘細胞へ順次配分されていくうちに、各細胞が受けとった共通のライブラリーのうちの特定のプログ

Chromosomal Functions and Ultrastructure: Supercoiling Organization of DNA;

※ Makoto WATANABE: Faculty of Science, University of Tokyo.

ラム(ルーチン)を、個別的に読み出して、各細胞固有の形態や機能および生産物を産み出して行く。すなわち細胞の分化(differentiation)である。この場合、極めて膨大な容量の記憶装置から、特定のルーチンを判別して誤りなく取り出すための、情報検索(information retrieval)の機能は、いったいどのように行なわれているのだろうか。

このばく大な遺伝情報は、情報ファイルとして組織的に集められ、通常1細胞につき1個の大格納庫に一括して保管されている。この情報ファイルが、細胞工場の現場(細胞質)から、ひとつながりの2重膜をもって隔離されている場合を、真正核(eukaryon)と呼び、高等動物をはじめ、原生動物や大部分の藻類、および菌類の細胞核がそれに相当する。一方、遺伝情報の量の少ない(下等な)生物である細菌類と、藍藻類など一部の藻類では、情報ファイルは特に膜で隔離されずに、細胞工場全体に分散しており、顕微鏡で明瞭に識別できる真正核のような形態をとらないので、形態的には核様体、一般には前核(prokaryon)と呼ばれている(図1)。

図1. 枯草菌の超薄切片の電子顕微鏡写真
(Ryter, Jacob 1963)
N: 核様体 m: メソゾーム

前核生物では、遺伝情報の情報ファイルの一部が、機械的に取りはずされて独立に複製され、細胞外へ運び出されたり、また細胞外から運び込まれた記憶媒体が、細胞内の情報ファイルの一部と入れ換えられたりする。溶原ファージによる形質導入、および細菌どうしの接合や形質転換であり、またそれらに伴う遺伝子の組み換えである。その過程は、コンピューターのファイリング・システムから、一部の穿孔テープを継ぎ換えたり、運動中にファイル・リール、データー・セル、ディスク・パック、カード・デッキなど、ファイルの一部を交換する操作を連想させる。しかしこの場合も、特定のファイルの内容を判別して誤りなく取り出し、またもとにもどすための、情報検索の実際のしくみは、まだ明らかではない。

情報容量が、前核生物の $10^3 \sim 10^4$ 倍に相当する真

正核生物⁵⁾では、事態はますます複雑である。真正核生物の多くは、内容の異なる2組みの情報ライブラリーを、1個の細胞工場へ持ち寄って、初めて生産活動が開始され、分裂が始まる。すなわち有性生殖である。遺伝情報のファイルは、プログラムの内容によって各生物固有の順序で配列され、1個の細胞のライブラリーは各生物固有の数のグループに分割されている(連鎖群)。この連鎖群1つを1本の染色体と呼ぶのが慣例であったが、最近「1つの連鎖群に結びついている構造体」の定義のもとに「genophore」と呼ばれることがある。受精もしくは接合によって1つの核へ持ち込まれた2組みの genophore は、1組みずつ(1 genome)再び別々の細胞へ配分されることがある。配偶子をつくる際の減数分裂(還元分裂・成熟分裂)がそれである。この際、父細胞由来の genophore と母細胞由来の genophore とが、確率的に random に配分されること (free assortment) が、まず genophore を単位としての編成換えを可能にし、親から子へ伝えられる遺伝情報の組み合わせに、多様な変化を与える。またこの配分がなんらかの理由で阻害された場合(non-disjunction)、倍数体(polyloid)や異数体(an-euploid)のように、情報の全体もしくは一部の量の上の編成換えが起こる。単一の特定のルーチンに関する、父細胞由来のファイルと母細胞由来のファイル(対立遺伝子)が、genophore どうしの間で交換されることもある。結果としては、遺伝子の組み換え(recombination)と同じであるが、染色体のレベルでは慣用的に、乗換えまたは交叉(crossing over)と呼ばれている。また父細胞由来のファイルと母細胞由来のファイルとが、特定のプログラムに関する命令(ルーチン)を異にする時、どちらか一方の読み出しが優先して、優性(顕性)一劣性(潜性)の関係が成り立つことも多い。有性生殖に付随するこれらのしくみは、遺伝情報の1組みのライブラリーを構成する、膨大なファイルの組み合わせをさらに多様に変化させ、多様な生産活動による多様な機能や、新しい生産物を産み出す。真正核の genophore のこのような多様な編成換えの結果が、生物進化の速度を、飛躍的に加速させることになったと思われる。

一方、対立遺伝子以外の間でも、情報ファイルが交換されたり、欠落、重複、逆転、位置のずれなど、ファイルの数や並び順に変化をきたすことがある。このよういわば、ライブラリアンのミスによる情報ファイルの編成換えの可能性は、ライブラリーの容量が増

すほど増大するであろう。磁気テープの傷や異物の付着、パンチの打ち違いや破れ、ヘッドとテープとの接触不良や、信号電流のノイズなどが原因で起こる、読み出しの際の信号の消失(drop-out)や混入(drop-in)に相当する、DNA 塩基単位の点突然変異(point mutation)に対して、情報ファイルの編成換えは、染色体突然変異(chromosomal mutation)または染色体異常(chromosome aberration)と呼ばれる。真正核細胞ではこの種の変異が、自然状態でもかなり高頻度で、しかも特定のファイルの間で定向的に起こるらしい。そのことがまた、高等生物の進化を速め、多様な分化を可能にしたと考えられる。

しかし細胞の進化や分化、抗体産生に関するクローン選択説、ウィルス性腫瘍の発癌機構などに、重要な手がかりを提供するこの染色体突然変異の仮説も、特定のファイルの情報検索のしくみがまだブラック・ボックスの中であって、大きなネックとなっている。

遺伝情報のライブラリーが複製倍加され、2つの細胞へ配分される分裂の過程は、真正核と前核とで一見著しい相違を示す。真正核では、分裂を行っていない核(分裂中間核、静止核、代謝核)では光学顕微鏡で見ることのできなかつた糸状体の構造が、分裂の開始とともに、生物の種類に固有の数や形態を表わす。すでに19世紀の頃から有糸核分裂(mitosis)と呼ばれ、また特に塩基性色素によって明瞭に染め出されることから、この糸状体は染色体(chromo=colour, some=body)と名づけられた。

一方、細菌の核様体では分裂に伴うこの種の糸状体は、光学顕微鏡でも電子顕微鏡でも、明確な形態をとっている例は見られない。わずかにメソゾームを介しての細胞膜との連結が娘細胞への配分のしくみを示唆している(図1)。そこで形態学者の側から、遺伝情報の機能の媒体は形態から切り離して、別に genophore と呼び、染色体の名は、真正核の genophore にのみ限るべきであると提唱された(前述)。しかしファージや細菌でも、genophoreの意味で未だ慣用的に、染色体と呼ばれることが多い。本論でも、特に形態や機能の区別を必要としない限り、前核型の genophore を含めた“広義の染色体”の意味で、染色体の名を用いている。

さて、染色体の形態上の違いは、機能上のどのような差異を反映するのだろうか。遺伝情報の容量の違い、すなわち DNA という記憶媒体の量の差に、まず原因が求められる。また蛋白質や細胞膜の分化による、

細胞工場の内部機構の違いにも原因があるのかも知れない。

基本的なハードウェアの開発を卒業したコンピューターが、実社会での応用の時期を迎えた昨今、より大量の情報を効果的に処理するための、ソフトウェアやアプリケーションウェアの充実が新しく求められている。なかでも、膨大な量のプログラム・ファイルの運搬や格納と、分類保管および検索のための、ライブラリアンの業務が重要になってくる。通信線で結ばれたオン・ラインの、データ伝送システムを持っていない細胞の各工場は、現実のコンピューター・システム以上に、複写による情報の転送と配分、および運搬の問題は深刻である。有糸核分裂こそこの目的のために、長い進化の歴史のうちに順次蓄積され淘汰されて、現存する真正核細胞に受け継がれてきた、最も効率のよいプログラムなのであって、染色体は、DNA という記憶媒体の膨大な量を、分裂に際して手ざわよく荷づくりして運搬し、所定の位置に保管し、さらに分裂前後の必要に応じて、情報検索を可能ならしめる、極めて完備したファイリング・システムなのであろう。核分裂中期の染色体の連鎖群固有の形態や、相同の連鎖群どうしが特異的に接近し対合(pairing, synapsis)しあって、減数分裂特有の二価染色体を形成する過程は、このファイリング・システムのレイアウトによって規制される、最も端端的な現象と考えることができる。

既製の機械のしくみを知るための一つの方法は、各装置の配置や動作状態の外観を観察し、また解体できる部分は実際に手にとって、その構成要素を明らかにすることから始められる。次にはそれらの知識を総合して、幾通りかの設計図を描いてみて、持ち合わせの材料や部品を組み立ててみることである。部品の不足や接続の間違ひは、その後の作業で順次見出され、修正されるであろう。染色体という機械に関するこのような試みの例を、次にあとづけてみよう。

2. 染色体の構成要素

染色体の化学的な組成は、超遠心沈降分析やクロマトグラフィーなど分画による定量と、顕微分光測光・細胞化学的染色・オートラジオグラフィーなどトレーサー技術による、多相多成分系の個別的観察測定とによって調べられてきた。前者はいわばハードウェアを解体し、単離された構成成分を統計的に定量する破壊検査法であり、後者は不均一な複合構造を破壊することなく、無傷な全体的関係の中で、各構成成分の動態を定

表1 染色体の構成要素

構成要素		分 布			量的 関係	状 態
		真正核	ファージ	前 核		
DNA		+	+	+	genome 数に比例 genophore の倍加と平行関係	1 次構造 = 1 本鎖 2 次構造 = 2 重らせん 高次構造(1) 2 次構造の局所的融解 (2) 分子間の連結による連鎖状 (3) 平行に束ねられたロープ状 (4) Supercoil 状 多重コイル構造 折りたたみ構造 よじれ構造
酸可溶性蛋白	ヒストン プロトン タンパク	+	± (内部蛋白)	±	DNA 量とほぼ 平行関係	Polycation として分子鎖間または分子鎖内のイオン架橋により DNA 2 重らせんを安定化
酸不溶性蛋白	酸性蛋白 含リン蛋白 など	+	± (残余蛋白)	±	変 動 大	Polyanion としてヒストンまたは DNA と結合？ アロステリックな酵素蛋白または収縮性蛋白？
RNA		+	± (RNA ファージ)	+	変 動 大	DNA の 1 本鎖領域と特異的に結合 (de-repressor RNA, 核小体 RNA, 染色体 RNA) ？ メッセンジャー RNA, リボソーム RNA などの混入？
Ca Mg Cu		±			？	DNA または蛋白質とキレート結合？
リン脂質		±			？	リポ蛋白膜 (核膜, 小胞体膜など) ？
ポリアミン		±	±		？	Polycation としてイオン結合？

+ 有意な量が存在 ± 検出されているが有意か否かは問題

量しようとする非破壊検査法である。その詳細はさて置き、ここでは高等動物の細胞から分離された核、もしくは分裂中間期の染色質をはじめ、分裂中の染色体や精子核、それにファージおよび細菌に関する分析の結果を、極く概括的に表にまとめて置こう (表1)。

染色体を構成する主体である DNA の、記憶媒体としての機能が確定的となったいま、次にその情報処理の制御の機能を、DNA 以外の構成要素に期待するのは極めて自然なことといえる。たとえば Kellenberger⁸⁾ は、DNA 結合性の蛋白をほとんど持たない前核生物の genophore は、分裂サイクルのどの時期でも DNA の 1 次ないしは 2 次構造を裸出し、どこでも読み出しのできる状態 (fibrillar state; 図1) にあるため、DNA 合成は特定の時期に限られずに連続的に進行すると説明した。それに対して、真正核の染色体の倍加が、分裂周期の特定の時期 (S 期) に行なわれるための制御機構として、前核にはない真正核個有の特殊な蛋白質系

(condensation principle) によって、S 期には fibrillar state にあった DNA がその後、圧縮された高次構造体 (condensed chromosome) に構造転移させられる。その結果、複写や転写のための読み出しの機能は休止し、その代わりに情報媒体の保管や運搬および配分に便利な、荷づくり (packing) された状態をとると説明した。この立場からは、真正核特有の有糸分裂を特徴づける、形態的な狭義の染色体とともに、情報媒体の長距離輸送を目的とする、精子の核やファージの感染粒子を、遺伝情報のテープが巻きとられたファイル・リールにたとえることができる。ファージ粒子 1 個を 1 巻のリールにたとえるならば、高等生物染色体の 1 本は多数のリールを納めた、一連の整理棚か格納庫に相当するであろう。Kellenberger はこのリールの巻枠や保存ケースをはじめ、テープ駆動や運搬のためのサーボ系を、ひとまとめにして概念的に condensation principle と呼んだことになる。しかしなが

表2 染色体蛋白および核酸の含量

(mg/1.0mg DNA)

試料	分離中期染色体					分離核
	HeLa細胞 ^{a)}	HeLa細胞 ^{b)}	HeLa細胞 ^{c)}	ハムスター細胞 ^{a)}	ネズミL細胞 ^{a)}	HeLa細胞
RNA	0.71	0.66	0.70	0.97	0.79	0.38
酸可溶性蛋白	2.5	2.0	0.85	3.3	2.0	1.9
酸不溶性蛋白	1.9	2.7	2.5	1.1	2.0	2.1
発表者	Maio ら 1967	Huberman ら 1966	Salzman ら 1966	Maio ら 1967	Maio ら 1967	Huberman ら 1966

試料	中間期染色質					
	子ウシ胸腺核 ^{d)}	子ウシ胸腺核 ^{e)}	子ウシ胸腺核 ^{f)}	HeLa細胞	ネズミ肝細胞	エンドウ幼芽
RNA	0.053	0.090	0.018	0.15	0.043	0.26
酸可溶性蛋白	0.90	0.907	1.011	1.1	1.0	1.0
酸不溶性蛋白	0.53	1.090	0.549	1.0	0.67	0.29
発表者	Paul ら 1968	Frenster 1965	Frenster 1965	Huberman ら 1966	Marushige ら 1966	Bonner 1965

a) pH 7.0で染色体を分離

b) pH 3.0で染色体を分離

c) pH 2.1で染色体を分離

d) 真正染色質+異質染色質

e) 真正染色質のみ

f) 異質染色質のみ

ら、その実体が化学的な分析によって明らかになっているわけではない。

高等動植物の核をはじめ、分裂中間期の染色質や分裂中期の染色体を、形態的にほとんど無傷な状態でかなり大量に分離し、核酸と蛋白質の分画を定量した結果が数種の材料に関して報告されている。材料や分離方法の違いにより、分析値の差が著しいが、いずれも乾燥重量にして約50~70%の蛋白質が含まれている(表2)。しかし酵素やホルモンと異なり、特異的な機能が明らかでない蛋白質のこの先の単離や定量は、はなはだ困難である。

化学的分析とは独立に、電子顕微鏡やX線回折および流動複屈折などの結果から、いわばリアルに巻きとられた状態にあるDNAの高次構造や、その変化の過程を推定し、genophoreの荷づくりや荷はどきのしくみを探ろうとする、形態学的なアプローチがなされている(第3章)。最も単純なファイルと想像されるT2ファージ⁹⁾、および細菌の一種に関して提唱されたDNAの高次構造の模型を図2および図3に示した。ただしDNA以外の構造要素との関係は単なる仮想に過ぎない。

高等動物の核や染色体の内部に、電子顕微鏡で観察することのできる、DNAの複雑に折り曲げられた高次構造を説明するために、DuPraw¹¹⁾は収縮性蛋白(contractile protein)の働きを仮定している。DNA分子に沿って特定の間隔で、特異的に結合しているこの蛋白が、相互に収縮し接近することによって、特定の長さのDNA分子がコイル状に押し縮められたり、折りたたまれたりするのであろうという。もっともこの種の蛋白を分離し得たわけではないから、これも単なる思いつきの域を出ない。¹²⁾

この例に比べて、ColeはDNAのコイル化の機構をかなり具体的に提示している。すなわち陽イオン性の高分子(polycation)、たとえばヒストンやポリアミンが、DNAの2重らせんまたはその高次コイルと平行に結合することによって、その接触した側面の負の電荷が中和され、同時にコイルを安定化していた水と層が局部的に脱水されるため、コイルの軸に対する一方の側へ屈曲しながら、順次高次のコイル構造へ進んで行くというモデルである(図4)。

特に高等生物の核では、複製後のDNA2重らせんに、3種類のヒストンが順次結合していくのに伴って、

図2. T2ファージ頭部内のDNA高次コイル模型
(Kilkson, Maestre 1962 より改写)

図3. 細菌および藻類の核様体のDNA高次コイル模型
(Giesbrecht 1965)

M_0 : DNAの2次コイル (右上は収縮状態, 右下は引き伸ばされた状態)

M_i : 3次コイル

M_a : 4次コイル

AおよびBは仮想的なコイルの支柱

直径138Åの2次コイルから直径1,400Åの3次コイル (chromonema), さらに直径1μ以上の染色分体 (chromatid) へと, 多重コイル化 (coiled coil) が進行すると説明している (図5)。ところが, 最近の電

図4. Polycation によるDNAのコイル化のモデル
(Cole 1962 より改写)

図5. ヒストンによる染色体の多重コイル化のモデル
(Cole 1962)

ヒストンははずれてコイルのほどけた部分(A)では, 相補的な1本鎖DNAをそれぞれ鋳型として, 逆平行の複製が進行する(B)。その後ヒストンAが結合して直径138Åの2次コイル(C)となる。次にヒストンBが結合して(D), 直径1,400Åの3次コイル(E)へ, さらにヒストンCが結合して, 直径10,000Åの染色分体(分裂前期~中期)が2本平行に並ぶ(F)。

子顕微鏡による観察では, このように規則的な多重コイルの関係や, 束状のヒストンとの結合を裏づけるような像は見出されていない (図15)。また唾腺染色体やランブブラッシュ染色体に特に明瞭な, 遺伝子座位に特異的なバンドやループの分化や, 特定の遺伝情報ファイルの検索のしくみを説明するためには, さらにながヒストンとの特異的な結合を規定しているのか明らかになさねばならない。

ヒストンがDNAと結合し, その高次構造を変化させることによって, DNAの鋳型としての機能を抑制(repress)し, 逆にこの抑制が解かれる(de-repress)ために, RNAの転写やDNAの複製が始動されるという読み出し制御の機構は, *in vitro*系での多くの合成実験^{13)~15)}や, ランブブラッシュ染色体のループの縮退実験¹³⁾で明らかになった。しかし特定のヒストンが特異的なレプレッサーとして, DNAの塩基配列の差を識別して特定の領域をマスクし, 特定のオペロンを抑制することができるかどうか。ヒストンがそのような特異性をもつことは, 期待されながらも実証されたわけ

ではないし、この種の分子識別の機構に関しては、なにも知られていないといつてよい。

最近 Paul と Gilmour は、種々の異なる状態にある子ウシ胸腺の DNA を鋳型として、³H をとりこませながら *in vitro* で合成した RNA と、同じ DNA を精製しアルカリで 1 本鎖にほどいたものとの、ハイブリッド形成の割合を比較して、各 DNA の中で鋳型として働き得る部分を定量してみた。まず最も無傷な子ウシ胸腺のクロマチン (DNA 40.35%, RNA 2.15%, ヒストン 36.14%, 非ヒストン蛋白 21.35%) を鋳型とした場合に比して、ヒストンを選択的に HCl で除いたもの (dehistoned chromatin) では、確かに鋳型としての活性が増加する。しかし DNA とイオン結合している他の蛋白も CsCl ですべて取り除いたもの (deproteinized chromatin) では、活性はさらに 2 倍近く増大する (図 6 A)。また一たん取り除いたヒス

図 6 A. 胸腺 DNA と合成 ³H-RNA とのハイブリッド形成の割合

図 6 B.

トンを再び dehistoned chromatin と再結合させると、活性は抑制されて最初のクロマチンの活性に近づく。しかし精製された DNA にヒストンを加えたのでは、RNA 転写は完全に抑制されてしまう (図 6 B)。このことはヒストンだけでは、DNA と特異的に結合できないことを物語っている。ヒストンによるこの非特異的な完全抑制を避けるためには、CsCl 処理でクロマチンから分離凝集した蛋白分画 (pellicle proteins) を加えると効果が著しい。この分画を DNA と再結合させた時の活性は、もとのクロマチンのそれと一致する (図 6 B)。もっともこの分画にはヒストンも含まれているので、酸を加えてヒストンから分離させた酸不溶性の沈澱 (pellicle residue) と DNA とを再結合させると、鋳型活性は再び dehistoned chromatin の状態に近づく。この pellicle residue には非ヒストン蛋白のほかにも少量の DNA と、リジン含量の少ないヒストンとが混入していて、その有効な本体はまだ分かっていないが、ヒストンによる非特異的な masking を、特異的に取りのけることのできる染色体構成要素として注目される。

ちなみに、ヒストンの類をもっていない細菌やファージでも、小容量の情報検索のモデルとして有名なラクトース・オペロンの系や λ -ファージの系に関して、オペロンの読み出しを制御するレプレッサーとして、酸不溶性の抑制蛋白質の分離精製が始められている。またファージやウィルスの DNA は、非塩基性の蛋白の殻 (capsid) に取り囲まれて押し締められ、高次の構造をもった粒子 (図 2) へと成熟 (maturation) する。DNA がかなり規則的で複雑な高次コイル構造 (図 3) をとっているある種の細菌や藻類でも、十分検出できるほどのヒストン性蛋白は含まれていない。

高等動植物の分離核や分離染色体からはヒストン以外の蛋白質として、酸性蛋白やポリメラーゼのような酵素蛋白が、酸不溶性の分画にかなり大量に分離される (表 2)。またリボゾームや遊離の RNA、さらに微量の脂質や、ポリアミン、金属などが検出されている (表 1)。それらが *in vitro* でも、DNA となんらかの機能的に意味のある結合をしているのか、それとも細胞質や核液からの単なる混入なのかは、常に問題になるところであり、これまでのところ決定的に証明された例はない。しかし直接的な実証のないままに、これらの構成要素のどれかに仮想的な機能を期待し、たとえば DNA 分子鎖の末端を特異的に接続して、複製や組み換えおよび突然変異を制御することのでき

る連結体 (linker) の存在を仮定した、染色体のモデルが数多く提唱されてきた。一例として Sibatani と Hiai は、DNA の特異的な位置 (起点) に結合した DNA ポリメラーゼ (橋子) と、逆平行の 2 本鎖をそれぞれ鋳型とする 2 種類のポリメラーゼを連動させる、仮想的な収縮性蛋白 (調節子) とを中心として、DNA 複製の制御機構を考えている (デュプリコン・モデル)。¹⁹⁾

柴谷はまた、多数の複製単位 (レプリコンまたはデュプリコン) や転写単位 (トランスクリプトン) の、情報検索のしくみとして、染色体蛋白、核膜、小胞体膜、細胞膜という少なくとも 4 種類の高分子集合体が、レプリコンおよびトランスクリプトンの数に見あうだけの異なった構造をとって (分子変容)、特異的に分子識別を行なうのであろうと想像している。しかしこの特異的な分子識別の過程や、分子変容のための指令信号の実体は、ブラック・ボックスのなかみとして具体的な説明はなされていない。

情報検索のしくみの一つとして Frenster は、鋳型としての活性の高い真正染色質 (euchromatin) と、異常凝縮を起こして活性の低い異質染色質 (heterochromatin) とを、子ウシの胸腺核から分離し、それらを鋳型にして、*in vitro* で RNA 合成の repression¹⁵⁾ や de-repression を研究してきた。その結果をひとまとめにして、RNA 転写の制御機構のモデルをかなり具体的に提示している。(図 7)。²²⁾

すなわち polycation のヒストンは、DNA を非特異的に一様にマスクして、2 重らせんを安定化している。一方このヒストンと非選択的に結合して、DNA

からヒストンを局部的に引きはがす働きをもつ polyanion が、核の中にあるという。RNA やリン脂質、それに非塩基性のリン蛋白やいわゆる残余蛋白 (residual proteins) などで、活性の高い真正染色質には特に多量に含まれている (表 2)。ヒストンのマスクがはずされた 2 重らせんは巻きもどされ、局部的に 1 本鎖のループ状に分かれる。Frenster は、この 1 本鎖 DNA のどちらか一方と、特異的にハイブリッドを形成することのできる特殊な RNA (de-repressor RNA) の存在を仮定し、さらに GC 含量の少ない 10 S 程度の核内 RNA であろうと予想している。この RNA とのハイブリッドによって、特異的な位置と長さがほどこたままになった 1 本鎖 DNA に対して、それと相補的な一方の 1 本鎖が鋳型となって、メッセンジャー RNA の転写が続けられる。この領域では遺伝子座位に特異的な RNA 転写とともに、DNA の複製もまた他の部分に先き立って開始される。核分裂の際には、この de-repressor RNA は DNA と結合したまま、あるいは相補的なメッセンジャー RNA とのハイブリッドの状態で母細胞から娘細胞へ配分され、その結果幾世代にもわたって、特定のオペロンの読み出しを続行させることができる。Frenster は DNA との結合によって、その情報処理を調節する働きをもった物質を、一般に control ligand と呼んでいる。優先的に DNA 2 重らせんと結合して、その巻き込みを安定化させる結果、転写や複製を阻害する働きのある ligand として、ヒストンのほかにポリリジン、アクチノマイシン D、アクリジンオレンジ、クロロキン、またほどこた 1 本鎖と結合することによって鋳型としての機能を助け、RNA 転写を促進させる ligand としては、de-repressor RNA のほかにポリオーマウィルス DNA、RNA ポリメラーゼ、メチルコランスレンや、テストステロン、エストラジオールなどの性ホルモンを挙げている。

さて、これまでに紹介したモデルに共通な点は、いずれも情報の記憶媒体それ自体と、その情報の検索、処理あるいは保管に必要なハードウェアとを切り離して、ほとんど未知の仮想的な装置が、一方的に DNA という情報テープに働きかけて種々の操作を行なうという、*a priori* の前提を立てていることである。確かに現実のデータ処理では、テープやカードは全く受動的に外部からの動力によって駆動され分類され、読み出しや書き込みを受ける。ところがこのように現実

図 7. de-repressor RNA による転写の制御モデル (Frenster 1966)

はあるが、DNA 分子はまず情報保存のための記憶媒体であると同時に、情報の処理特に情報検索に必要な、サーボ・メカニズムをも自蔵している極めて多様な能力をもった高分子であるらしい。その点では、構造ならびに機能のアロステリックな遷移が行なわれる、酵素蛋白や転移 RNA とも並べて考えられるはずである。しかしこの可能性は、これまでのところほとんど省みられず、十分な検証を受けていない。もちろん既知の染色体構成要素、あるいは全く未知の外的要因が、DNA に働きかける過程は重要であり、分画技術やレーザー技術の進歩によって、今後も多くの知見がもたらされるであろう。だが一方 DNA は、それら外的要因のもとら情報のみならず、その 2 重らせん自体が内蔵する情報をも感知して、極めて flexible な運動を行なうことができる (第 3 章)。その結果 DNA 分子鎖の内部に局部的に生じた、よじれや折りたたみの大きさや位置によって、まず 2 重らせんから 1 本鎖への巻きもどしは一種の on-off 制御を受け、また 1 本鎖の鑄型への接触が調節されるのではないだろうか。先に紹介した repressor や de-repressor も、また ligand も、このようにすでにほどこしている 1 本鎖の鑄型と特異的に結びついたり、すでに巻いている 2 重らせんをさらに巻き込ませて、安定化させる媒体として説明されてきた。

筆者は、遺伝子座位に特異的な大きさや flexibility をもった segment が、DNA 分子鎖の中に分化し得る可能性を前提として、染色体やファージ粒子の高次な構造の分化や、付随する各種の遺伝的機能の制御の機構を、これまで機会あるごとに論じてきた。次に、DNA 自身がこの種の高次構造をとるための要因を整理し、そこから予想されるモデルと実験事実とを対比させて検討してみたい。

3. DNA の高次構造

DNA の分子は、平行に並んだ 2 本のポリヌクレオチド鎖が、らせん状に回旋して安定化している。このような DNA の 2 次構造が安定であるためには、この 2 重らせんの構造を保持しようとする力の総体 (stabilizing forces) が、この構造を崩そうとする効果 (destabilizing influences) に打ち勝たねばならない。²⁶⁾ この stabilizing force の主体は、最初に Watson-Crick および Pauling-Corey によって指摘されたように、2 つの塩基の間の 2 本ないしは 3 本の水素結合が協同して働く、closed-circuit resonance の分子間架

橋であることはいうまでもない。しかしそのほかにも、非極性基が周囲の水の分子からのけ者にされるために、お互いどうしが接近し安定化する、疎水性の相互作用 (hydrophobic interaction) や、隣接した塩基対の間²⁷⁾に働く、London force を主とする base-stacking force、また種々の静電引力や、次に述べる destabilizing influence を中和する各種の作用などが、複合的に共働しあっていることを考えに入れなければならない。なお、水和状態にある DNA の 2 重らせんを安定化させる作用の 1 つとして、あらたに Lewin は塩基のアミノ基と、カルボニル基、リン酸基、デオキシリボース環などの酸素や、塩基環の窒素などの間で、水の分子の橋を仲介として水素原子を授受し安定化しあう、hydrogen-water-bridging force の存在を重視している (図 8)。

他方、DNA の 2 重らせんは、巻きもどし (unwinding) の方向への torque を受けることによって融解し、最後に 2 本鎖はほどこて離れてしまう。このような unwinding torque を誘起する destabilizing influence には、(1) 主としてリン酸基の負の電荷の間の静電斥力 (electrostatic repulsive force)、²⁹⁾(2) stabilizing

図 8. H-water-bridge を仲介とする closed-circuit resonance によって、2 対の塩基対が安定化される関係を示す。水分子の間の結合はらせんで表わされている。 (Lewin 1967)

force の働きで2重らせんがきつく巻き込むと、局部的には、圧縮された塩基内の原子どうしや、引き伸ばされたポリヌクレオチド鎖の中で、共有結合が機械的に歪められることになるが、その歪みを回復させようとする restoring force,²⁸⁾ (3) 機械的な外力で、2重らせんが軸方向へ引き伸ばされて受ける stress, (4) stabilizing force を弱めようとする種々の外因的影響、たとえば、熱運動、水和層の脱水、イオン強度や pH の変化、その他、放射線やアルデヒド、尿素、³⁰⁾ またある種の突然変異誘起剤や発癌剤など、⁷⁾ 多くの分子間架橋剤や変性剤によるメカノケミカルな変形力、等が挙げられる。

自然状態の DNA では、この unwinding torque は、stabilizing force で駆動される逆向きの intertwinning torque とバランスをとって、準安定な (quasi-static), しかし可逆的な動的平衡状態 (dynamic equilibrium)^{19), 23), 25)} が成立していると考えられる。すなわち、stabilizing force のどれか1つを強めるように作用する環境の変化、あるいは unwinding torque の大きさを変化させるような影響力、そのいずれかによって、この動的平衡関係は容易にずれて、DNA 2重らせんは全体あるいはその局部的な分節 (segment) を単位として、より緊密に巻き込んだり、よりゆるく巻きもどされたりし、その結果、新しい平衡関係が成立して安定するまで回旋運動が続くであろう。

たとえば、Watson-Crick の B 型構造のように全体がきっちりと巻き込んで剛い桿状であるはずの DNA 2重らせんでも、その stabilizing force がなんらかの原因で弱められたために、少なくとも局部的にらせんがほどけて、その結果かなり flexible な構造をとるようになることが想像される。事実、稀薄な溶液状態では、1本の DNA 2重らせんは決して剛いむちのようでも、1本鎖の RNA やポリペプチドのように自由に flexible でもなく、³¹⁾ 300 Å 以上の segment をつらねたジグザグ状である。また、分子量 6.5×10^6 、全長約 34,000 Å の DNA は、イオン強度 10^{-1} の中性溶液中での重量平均末端間距離が全長の約 1/10 に相当する約 4,000 Å 前後に、ゆるくまとまった状態をとっている。³²⁾ 溶液中の DNA を、チトクローム c の単分子膜に吸着させて、溶液状態の3次元構造を平面に固定させる方法で得られた電子顕微鏡像も、これらの推論と符合した結果を示している。³³⁾ また最近、Gray と Hearst は DNA 分子の沈降分析の結果から、³⁴⁾ flexible な joint で連結した segment の長さを約

2,000 Å から最大 4,000 Å³⁵⁾ と推定している。他方、Printz と von Hippel は DNA の塩基と周囲の水分子との間で水素原子が交換される比を、³⁾ ^3H をトレーサーとして定量する方法を用いて、DNA 2重らせんが水溶液中で局部的にほどけたり巻き直したり、ちょうど息をしているような運動を頻ぱんに行なっていることを証明した。また、超音波で DNA 分子を約 500 塩基対の segment に切断しても、水素交換の結果にはほとんど影響を及ぼさないことから、この“breathing unit”は1~500 塩基対の範囲と推定された。

さて、このような DNA 固有の flexible な特性に関しては、同時に考慮されるべき重要な点が2つある。その第1は、DNA 2重らせんをきちんと巻きあわせて、剛い桿状を保たせる intertwinning torque と、逆にほどいて flexible にさせる unwinding torque とは、両者ともその駆動力の組成や、その各々の力の大きさ、また環境の変化に対する response の差などに関して、局部的な segment どうしの間で、4種類のヌクレオチドの組み合わせや隣りあった局部の間の配列関係、また DNA 連鎖全体に対する相対的な位置関係などによって、換言すれば、1つの genophore 内の遺伝子座位の差によって、特異的に決定される (gene-locus specific) 極めて複雑な複合作用に相違ないということである。

その第2は、2重らせんが intertwinning, unwinding のいずれの転移を行なうにしても、DNA 分子の全体もしくはその局部的 segment を単位として、らせん状の2本のポリヌクレオチド鎖がお互いに、らせんの巻き数の増減分だけ、らせん軸の周囲を回旋しなければならぬという点である。この際、なんらかの理由でこの回旋運動が禁止、もしくは束ばくされた segment があったとしよう。その segment 内では、巻き込みや巻きもどしの torque が作用しても、その部分のらせんの巻き数を増したり減したりすることができず、したがって新しい平衡状態へ移行できずに、安定状態に対して巻き過ぎあるいは巻き不足の不安定な状態 (strained state) にとどまる。DNA 2重らせん局部のこのような segment を、いま概念的に ‘anchored segment’ と呼ぶことにする。この anchored segment が、strain を緩和し安定化するためには、回旋運動の抑止にさからいながら、らせん軸を中心とした secondary turn を無理に続けるか、その部分のポリヌクレオチド鎖を切断しなければならない。しかしそれ以外の方法として、DNA の2重らせん全体が tertiary turn を行なって、さらに高次のらせん (superhelix)

図9. Supercoiling の相互関係 (本文参照)

か、折りたたみ(folbing)もしくはよじれ(supertwist), すなわち広義の高次コイル構造(supercoil)に転移することで解消する(図9)。

いま Watson-Crick 型の helical turn を右巻きと呼ぶことにして, segment 内のその巻き数(duplex winding number, secondary turns)を正($n > 0$)で表わすことにすれば, destabilizing influence による unwinding torque ($dn < 0$) は, 右巻きの superhelix ($dN_s > 0$) によって解消される。ただしこの superhelix が次によじれ返して supertwist となる場合は, よじれの方は左巻きとなる。

この変化は spontaneous に進行し, DNA の2次らせんとその高次コイル構造との逆向きの力が釣合って, 準安定な平衡状態に落ちつく。この時, もし2次らせんの回転が完全に禁止されている完全な anchored segment ならば, secondary turn の巻き数 n と

tertiary turn の巻き数 N_s (supercoiling number) との和は一定 $n + N_s = N$ (topological winding number) で, $dn + dN_s = 0$ の関係が成り立つ⁴¹⁾。

完全な anchored segment の典型は, 2重らせんの末端の2本のポリヌクレオチド鎖が各々, 共有結合で結ばれた環状の DNA (covalently closed double-stranded cyclic molecule) である。このような環状 DNA としては, これまでに, ポリオーマ・ウィルス^{36)~44)}, パピローマ・ウィルス^{45)~48)}, シミアン・ウィルス (SV40)^{49)~50)}, などの動物腫瘍ウィルスの DNA をはじめ, λ フェージ^{51)~54)}, P22 フェージ⁵⁵⁾ などの溶原フェージの intracellular form, また M13 や ϕ X174 など1本鎖 DNA フェージ^{56)~59)} の replicative form や, 細菌性エピゾームの一種のコリシン因子などから単離され, *in vitro* での基本的な特性が解析され始めている。真正核生物では特にミトコンドリアの DNA, たとえば, ヒツジ, ウシ,

図 10. P22ファージの環状 DNA のよじれ (Supertwist) の例。(Rhoades, Thomas 1968)
A. 回転シャドウィングによる電顕像。よじれがかなりほどこしている。

図 10 B. 一方向からのシャドウィングによる像。矢印の部分で特に、右巻きのよじれが明瞭である。

ネズミなどの心筋や肝臓、カエルやウニの卵細胞、ヒトでは HeLa 細胞や白血球、その他イーストなどの微生物から分離されたミトコンドリア DNA の少なくとも一部は、共有結合で閉じられた環状である。これらの単離された環状の DNA を、Kleinschmidt 法を用いて電子顕微鏡で観察すると、一連の細かなよじれやループがもつれあっているのを確かめることができる (図10)。

この tertiary turn は、DNase や放射線、またハイドロキノンのような還元剤や強い酸もしくはアルカリで、ポリヌクレオチド鎖をどちらか1本切断すれば、完全にほどこけて環が拡がり、沈降定数 S_{20}^w は低下する (DNAI→DNAII) (図11A)。しかし、このような切断を誘起しない程度の pH やイオン強度、あるいは温度など溶液環境の変化、もしくは、エチジウム・ブロマイドなどの色素 (intercalative dye) が DNA 塩基対の間に挿入されることによって、DNA の2次

図 11. ポリオーマ DNA の構造変化 (Vinograd, Lebowitz 1966)
A. DNA の各成分とそれらの相互変化の関係

図 11 B. 種々の pH における各成分 (記号は A. を参照) の沈降定数

らせんが一部、融解し巻きもどされると、最初の tertiary turn は一旦解消する (DNAI→DNAI') (図11 AおよびB)。

また、さらに巻きもどしを続けると、一旦解消された最初の superhelix に対して、逆巻きのよじれが生じてくる (図12A)。この関係は、電子顕微鏡で数えることのできる、よじれをもった分子の数 (図12B) や沈降定数 (図13) が、一定の温度や結合色素の分子数を境にして鏡像的に変化することから推論された。

いま DNA の末端が結ばれて、1個の環状の anchored segment が形成される過程で、なんらかの理由で、DNA 全体がB型の2次らせんより巻き数の少ない状態、すなわち変性状態に近いゆるんだ構造をとったまままでつながってしまったと仮定しよう。このような環状 DNA は、その後B型構造の方が安定な環境では、stabilizing force が作用して巻きこもうとする torque ($dn > 0$) を解消するために、supercoiling ($dn < 0$),

図 12. パピローマ DNA の構造変化
(Follet, Crawford 1967 より改写)
A. DNA 各成分の相互変化と温度との関係

図 12 B. 種々の温度における 2 つの形態の相互変化。

ホルムアルデヒドの存在下で加熱し、電子顕微鏡像から分子数 n を数えたもの。実線は 2 つ以上よじれをもつ分子数。破線はよじれていない環状の分子数。

図 13. パピローマ DNA のエチジウム・ブロマイドとの結合による沈降定数の変化 (Bujard 1968)。
 r はヌクレオチド当りの結合分子数。

すなわち左巻きの superhelix, あるいは右巻きの supercoil が生ずるであろう (図 9)。また, destabilizing influence による局所的な変性状態の誘起によって, この supercoil は一旦ほどけ, 次には逆向きの supercoiling ($dN_s > 0$) に移行することになる。

感染菌から単離された P 22 ファージ DNA に関して, 特に, よじれあった DNA の重なり具合が明瞭になるように工夫された電子顕微鏡写真を注意深く調べることによって, 最近 intracellular form の super-twist が右巻きであることが確かめられた (図 10B)。

細菌の DNA やブタの精子, ヒトのリンパ球から分離された DNA の少なくとも一部は, 電子顕微鏡やオートラジオグラフの像が環状を示している。しかし, 共有結合で閉じた完全な環状 DNA であるかどうかは, 確かでない。一方, 高等生物の核や染色体に, 相当長い一続きの DNA が存在することは明らかである。たとえば, ミツバチの中間期核の電顕像では 40μ 以上の繊維を, またヒトの染色体でも $30 \sim 40 \mu$ の DNA の束を, さらにユスリカの精子核からは 241.4μ , ウニの精子核からは 93μ に達する一続きの繊維を, 電子顕微鏡でとらえることができた。HeLa 細胞に 24 時間の間にとり込まれた ^3H -チミジンによるオートラジオグラフの像では, 500μ 以上の一続きの DNA が標識された。ハムスターの培養細胞に関する同じ方法では, 最近 1.8 mm , ヒトの培養リンパ球については, 全長実に約 2 cm の環状の像が報告されている。

1 本鎖切断をもたない長い DNA 2 重らせんでは, 巻き直しや巻きもどしのための回旋に対する粘性抵抗は, 少なく見積っても分子量 M , すなわちその全長に比例する。さらに DNA のらせんどうしがからみあったり, 他の蛋白や膜その他の細胞内構造との結合によって, 回旋がさまたげられることも十分考えられる。これらの場合は, closed circular DNA のように完全に回旋が束ばくされているわけではなくても, 回旋には多くの時間を要し (少なくとも M^2 に比例), その間に局在する strain を解消するために, 局所的に supercoiling が始まると想像することができる。これも一種の 'anchored segment' であって, 前述の理由から, その位置はかなり特異的に決定されると考えることは, さして無理ではない。

エチジウム・ブロマイドの 1 分子が隣り合った塩基対の間に挿入されることによって, DNA の 2 重らせんが 12° 巻きもどると仮定し, 挿入された分子数と沈降定数の変化の関係 (図 13) から, 環状分子 1 個の中

に最初存在した tertiary turn の数を測定することができる。その結果、ポリオーマ⁴⁰⁾、パピローマ⁴⁸⁾、SV40⁵⁰⁾、ファージ λ CI₈₅₇⁵³⁾ および 186 の各 DNA では、単位分子量当りの tertiary turn の数はほぼ一致し (ポリオーマおよびパピローマ DNA で $3.8 \pm 0.6/1 \times 10^6$)^{41), 75)}、他の方法による沈降分析の結果や電子顕微鏡による観察とも一致している。⁵⁴⁾

Fong はこの tertiary turn が、分子全体に均一に分布し、1つの supercoiling で分子の見かけ上の全長が $\frac{1}{2}$ ずつ短縮すると仮定して、10回の supercoiling で、最初の DNA の全長は $\frac{1}{2}^{10}$ すなわち $1/1024$ に packing されるとすれば、大腸菌でもヒトの染色体でも、DNA の 2 重らせんの 300 回旋につき 1 回旋の変化で十分 packing が行なわれると説明している。しかし、稀薄な溶液中の様な環境と異なり、細胞内での supercoiling はそれ程単純なものとは思われない。^{37)~39), 54), 55), 57), 58)} 多数の supercoiling DNA の電子顕微鏡像はどれも、局部的には極めて不均一で複雑なよじれやループを示している。これが、電顕標本作製過程の全く random を変形によるものなのか、なんらかの構造特異性を反映しているものなのか、現状ではまだ判定し難い。しかし、DNA 以外の構造体との接着という点では、稀

薄な溶液中よりむしろ、生体内の状態に近いと見るべきであろう。

4. 染色体の構造形成と機能の制御

最近、大腸菌や T4 ファージの DNA 合成が、1,000 ~ 2,000 スクレオチドの segment を単位として不連続的に進行することや、それら segment 末端のポリヌクレオチドどうしを継ぎ合わせることでできる酵素 (ligase, sealase) が、これらの微生物から分離精製されている。⁷⁷⁾ また高等生物の核でも、一旦 DNA 合成が完了した後に遅れて、極く微量の DNA が局部的に合成されることが種々の例で報告されており、その機能的意義に関心がよせられている。^{78)~81)}

環状ウィルス DNA の tertiary turn の成因の1つとして想像されているように、^{39), 53), 58)} 高等生物の DNA でも、このような segment 間の再結合とポリヌクレオチド鎖末端の連結が反復され、しかもその際、B 型 2 重らせんが完成する以前の、未だ巻き数の不足した状態のまま結合されたとしよう。その後もなお、stabilizing force が増進し、一方 destabilizing influence のいずれかが順次減少して行くとすれば、その状態で安定な B 型構造に対しては巻き数の不足している seg-

図 14. DNA の Supercoiling による高等生物染色体および核の高次構造形成のモデル (本文参照)

ment 内に、前述の理由で、左巻きの superhelix あるいは右巻きの supertwist が、局部的に生じ始めるであろう。DNA 合成期 (S) の終わりから分裂準備期 (G₂) にかけて進行すると想像されるこのような構造変化を、図14の外周の右上半部に、極く図式的に示した。

最初とはびとびに生じた小さな supertwist は、次第にヒストンなど polycation (点で図示) と結合することによって (DNP), destabilizing influence が中和され、また stabilizing force が補強される結果、その巻き数や長さが増大する。上述のように、ヌクレオチド配列の分布状態や相対的な位置関係で、これら外因的变化に対する response に差を生ずるならば、遺伝子座位に対して特異的な長さや巻き数をもった supertwist が成長するであろう。また同時に、隣りあったよじれどうしがヒストンに包まれながら、平行に折りたたまれ束ねられて、見かけ上ロープ状の構造に移行すると考えられる。すなわち、染色質繊維 (chromatin fibril) である。

chromatin fibril の内部構造を上のように考えると、高等生物の核や染色体に普遍的な 100~300 Å の基本繊維に関する、多くの電子顕微鏡による観察事実とうまく一致すること、また chromatin fibril の全長とその中に含まれる DNA の全長との比 (packing ratio) が、1/10~1/30 と推定されること、などを最近筆者は報告した。^{24), 82)} 主として形態学的方法に基づくこれらの知見は、紙面の都合で割愛し、図14の内周に簡単なスケッチを対比させて置くにとどめたい。

なお核蛋白ないしは染色質繊維の内部における DNA の、このように複雑な一種の supercoil 構造を示唆する事実は、他にも少なくない。たとえば Wilkins⁸³⁾ 一派は、ウシ胸腺のヌクレオヒストンを高湿度下で X線解析し、繊維軸方向への引き伸しによるパターンの変化から、DNA の superhelix が変型して、軸に平行に折りたたまれた構造を推量している。このような構造は、Zubay が提唱した単純な coiled coil 模型とは対照的で、supertwist を考慮した上でのパターンの再検討が期待される。この方法とは別に、MacInnes と Uretz はアクリジン色素をトレーサーとして、繊維軸に対して平行および直角方向の偏光蛍光を分析し、DNA の配向方向を定量した結果、酵素の作用や外力で引伸ばされた唾腺染色体の部分では、DNA は軸方向に平行に並んでいること、^{84), 85)} さらにある種の昆虫の精子核内の DNA は、以前に考えられていたような単

純な coiled coil の構造からははずれて、核の長軸に平行に並んでいることを最近報告している。⁸⁷⁾ T 2 フェージ頭部内の DNA に関するかなり規則的で単純な superhelix の模型 (図 2) も、最近の電顕観察によれば、むしろ平行に折りたたまれた DNA の束と見なす方が妥当なようである。⁸⁸⁾

Cavalieri⁹⁰⁾ らは DNase や X 線による切断の解析に基づいて、増殖期にある DNA は、2 重らせんが 2 本ずつ並んだ 4 本鎖の DNA であろうと結論して、当時多くの論議を呼んだ。また、Luzzati⁹¹⁾ らはヌクレオヒストン溶液を、生体に近い条件で X 線小角散乱法により解析した。その結果、比較的低濃度の等方性溶液中では、DNA 4 分子がよじれながら束になって、ヒストンに取り巻かれ、外径約 120 Å のシリンダー状をなしている。さらに高濃度 (約 38%) では DNA 2 分子ずつが平行に並んだ単位格子からなる、2 次元正方格子状、より高濃度 (55~65%) では平行に並んだ DNA の、2 次元六方配列をなしているという。これらの知見を、DNA の supertwist から解釈し直すと興味深い。

DNA 連鎖上に生じた多数の supertwist が、折りたたまれてよじれあった、ロープ状の繊維が chromatin fibril であるとする、ヒストンの結合をはじめ、細胞内のイオン環境や水和状態の変化など、stabilizing force あるいは destabilizing force のいずれかに影響を及ぼす変化に対して、繊維内部の個々の supertwist は多様に response し、その巻き数や巻き方向を独立に変化させようとするであろう。その結果、chromatin fibril は局部ごとに、個々の torque が総合された複雑な、しかし遺伝子座位に対してはかなり特異的な差をもった屈曲運動 (differentiated flexible-segmental movement) を行なうことになるであろう。

図14の右下半部では、仮に 1 本の chromatin fibril の内部に右巻きの torque が一様に誘起された場合を想定し、その strain を解消するために、左巻きの superhelix から成る一連のループが生じ、さらに隣接しあう多数のループが重なりあって全体として大きくねじれ、内周に示した光学顕微鏡像のような分裂中期の染色分体 (chromatid) となって見えてくる、という過程を極く模式的に示した。

分裂期 (M) の染色体の実際のループ構造は、さらに複雑にねじれ、また重なりあって、ふつうの電顕像では一見、極めて乱雑な chromatin fibril の塊に過ぎない。しかし、このような一般の体細胞染色体よりも、

なんらかの理由でかなり引伸ばされたままの状態にある巨大染色体では、唾腺染色体のバンド内の基本繊維のコイルや、ランブラッシュ染色体のループのように、各遺伝子座位に特異的な形や大きさをもった高次構造が、光学顕微鏡でも容易に観察できることは周知の事実である。²⁴⁾ これら特殊な染色体が、さらに高度に packing された状態にある体細胞の中期染色体でも、界面圧で機械的に押し広げることによって、かなり規則的なループ構造を電子顕微鏡で識別し得ることを、最近筆者は報告した⁸²⁾ (図15)。

図 15. ヒトの培養リンパ球から界面圧により押し出され、押し広げられた分裂中期染色体の電子顕微鏡写真。姉妹染色分体の相同部分（同一記号で示した）では、等しい形や大きさをもった chromatin fibril のループが認められる。

1 個の genophore に対応する各染色体に、固有の形態を特徴づける、くびれ (constriction)、動原体、不染色質、異質染色質などは、このループの局所的な構造の分化とみなすことができる。細胞分裂のためのエネルギー系や、動原体の機能も、chromatin fibril の supercoiling を駆動するエネルギーと関連づけて、筆者は考えている。

中期染色体の内部に見られるループと、その接着に

よる網目の構造は、分裂期を過ぎ、代謝の行なわれる G₁ 期に移って、光学顕微鏡ではほとんど無構造の状態でも、電顕レベルでは、分裂期染色体とほぼ同じ chromatin fibril の網として観察される (interphase chromatin)。見かけ上の形態に関する限り、生物の種類や細胞の分化の程度の差を定量的に区別することには、まだ成功していない。⁸²⁾

ループどうしの接着が、単なる偶然的接触なのか、それともなんらかの特異的な結合によるのかを決定することも、まだ困難である。ただ、接着点の大部分は、機械的な引き伸ばしによってはずれ隣接する多数のループがひと続きの長い繊維へ移行して行くのを追うことができる。⁸²⁾ 染色体の基本構造を、多数の環状 DNA の連鎖と考える説があるが、一連のループや網目構造の変型とみなせないこともない。DNA 連鎖の特定の位置で、2 本のポリヌクレオチド鎖の末端どうしが DNA 以外の構造体 (linker) で接続されている可能性は、まだ実証されていないし排除もされていない。DNA 2 重らせんどうしの相補的結合や鎖間架橋、1 本鎖切断などの可能性も考えられる。¹⁹⁾ いずれにしろ、DNA どうしの接続の位置がヌクレオチド配列に対して特異的に決定され、複製を通じて保持され続けるものであれば、一種の 'anchored segment' として segment 内の屈曲運動を規制し、ファイリング・システムとしての染色体の構造や、複製および転写のための情報検索の機能を特異的に制御することになるであろう。たとえば、DNA 2 重らせんどうしの結合もしくは接触、あるいはヌクレオチドの分布の差によって、stabilizing force が一様には作用せず、supertwist が局部的によりもどされ、DNA 2 重らせんのほどけた位置では、Frenster も論じているように RNA の読み出しが可能である。supertwist が局部的に過度によじれたり引張られたりして、ポリヌクレオチド鎖が切れてしまうこともあろう。その切断が特異的な位置で起こるものならば、その位置からの DNA の複製や再結合、修復が継起して、遺伝子の組み換えやウィルス DNA の組み込み、また定向的な染色体突然変異も不可能ではない。⁷⁾

ループどうしの接着が、近接して位置する chromatin fibril どうしの単なる偶然的接触から始るとしても、もしその接着の少なくとも一部が、受精以後に分裂を続けながらも、一種の hysteresis として保存され、細胞の年令とともに蓄積され得るものならば、その接着点の総量が核内の DNA 全体の運動を束縛する

ことによって、分裂や代謝の速度を全体的に制御することになるであろう。筆者は、相同染色体の対合をはじめ、細胞の分化や老化あるいは癌化の機構を、この可能性から検証しようとしている。

おわりに

本論の第1章では、染色体の最も重要な、しかも未解決の機能に、ファイリング・システムとしての情報検索があることを述べた。また第3章および第4章では、この機能のためのサーボ機構を、DNAの高次構造の分化に求めて、その可能性を論じた。そこからもう一度、第2章で紹介した他のモデルの立場に立ちもどって、DNAとDNA以外のハードウェアとの相互作用を考えるならば、遺伝子座位に特異的な情報検索の制御の機構は、一層、説明が容易になるであろう。

なお、放射線や各種の薬剤、ウィルスなどによる染色体異常や分裂阻害、また発癌と制癌などの応用問題に、このモデルをどれだけ適用することができるか。それはまた別の機会に論ずることにしたい。

文 献

- 1) 渡辺格, 小関治男, 川出由己, 由良隆: 科学, 38, 419 (1968)
- 2) 渡辺格ほか, 生物物理学研究将来計画(案): 生物物理, 5, 143 (1965)
- 3) 吉川秀男, 小関治男, 川出由己, 由良隆: 科学, 38, 429 (1968)
- 4) 次田皓: 生物物理, 8, 165 (1968)
- 5) 和田昭允, 郷信広: 科学, 36, 605 (1966)
- 6) H. Ris, E. L. Chandler: Cold Spring Harbour Symp. Quant. Biol., 28, 1 (1963)
- 7) 渡部真: 岩波講座現代の生物学(吉川秀男ほか編), 3, 151, 岩波書店, 東京 (1967)
- 8) E. Kellenberger: *Microbial Genetics* (ed. W. Hayes, R. C. Clowes), 39, Cambridge Univ. Press, London (1960)
- 9) R. Kilkson, M. F. Maestre: Nature, 195, 494 (1962)
- 10) P. Giesbrecht: Zbl. Bakt. 1. Orig., 196, 516 (1965)
- 11) E. J. DuPraw: Proc. Nat. Acad. Sci., 53, 161 (1965)
- 12) A. Cole: Nature, 196, 211 (1962)
- 13) V. G. Allfrey, A. E. Mirsky: Cold Spring Harbour Symp. Quant. Biol., 28, 247 (1963)
- 14) J. Bonner, R.-c. C. Huang: *The Nucleohistones* (ed. J. Bonner, P. Ts'o), 251, Holden-Day, Inc., San Francisco (1964)
- 15) J. H. Frenster: Nature, 206, 680 (1965)
- 16) J. Paul, R. S. Gilmour: J. Mol. Biol., 34, 305 (1968)
- 17) W. Gilbert, B. Müller-Hill: Proc. Nat. Acad. Sci., 58, 2415 (1967)
- 18) M. Ptashne: Nature, 214, 232 (1967)
- 19) 渡部真: 岩波講座現代の生物学(吉川秀男ほか編), 3, 90, 岩波書店, 東京 (1967)
- 20) A. Sibatani, S. Hiai: J. Theoret. Biol., 7, 393 (1964)
- 21) 柴谷篤弘: 蛋白質・核酸・酵素, 11, 1139 (1966)
- 22) J. H. Frenster: *The Cell Nucleus—Metabolism & Radiosensitivity*, 27, Taylor & Francis Ltd., London (1966)
- 23) 渡部真: 科学, 31, 289, 368 (1961) 蛋白質・核酸・酵素, 7, 582 (1962)
- 24) 渡部真: 生物科学シリーズ(飯野徹雄ほか編), 4, 81, 共立出版, 東京 (1968), 総合臨床, 18, 28 (1969)
- 25) 渡部真: 日本生物物理学会第1回講演予稿集, 61 (1962), 同第3回講演予稿集, 26 (1964), 同第7回講演予稿集, 55 (1968)
- 26) S. Lewin: J. Theoret. Biol., 17, 181 (1967)
- 27) 浜口浩三, 黒野朝子, 後藤幸男: 生物物理, 1, 176 (1961)
- 28) P. Fong: J. Theoret. Biol., 15, 225 (1967)
- 29) M. Pollak, R. Rein: *ibid.*, 19, 333 (1968)
- 30) 寺本英, 田中正寛, 尾崎正明, 川合葉子: 生物物理, 3, 213 (1964)
- 31) C. L. Sadron: *The Nucleic Acids* (ed. E. Chargaff, J. N. Davidson) 3, 1, Academic Press Inc., New York (1960)
- 32) 磯晃二郎: 生物物理, 1, 210 (1962)
- 33) D. Lang, H. Bujard, B. Wolff, D. Russell: J. Mol. Biol., 23, 163 (1967)
- 34) H. B. Gray, Jr., J. E. Hearst: J. Mol. Biol., 35, 111 (1968)
- 35) M. P. Printz, P. H. von Hippel: Proc. Nat. Acad. Sci., 53, 363 (1965)
- 36) R. Dulbecco, M. Vogt: Proc. Nat. Acad. Sci., 50, 236 (1963)
- 37) R. Weil, J. Vinograd: *ibid.*, 50, 730 (1963)
- 38) J. Vinograd, J. Lebowitz, R. Radloff, R. Watson, P. Laipis: *ibid.*, 53, 1104 (1965)
- 39) J. Vinograd, J. Lebowitz: J. Gen. Physiol., 49, 103 (1966)
- 40) L. V. Crawford, M. J. Waring: J. Mol. Biol., 25, 23 (1967)
- 41) J. Vinograd, J. Lebowitz, R. Watson: *ibid.*, 33, 173 (1968)
- 42) E. A. C. Follet, L. V. Crawford: *ibid.*, 34, 565 (1968)
- 43) H. V. Thorne: *ibid.*, 24, 203 (1967), *ibid.*, 35, 215 (1968)
- 44) H. B. Gray, Jr.: Biopolymers, 5, 1009 (1967)
- 45) L. V. Crawford: J. Mol. Biol., 8, 489 (1964)
- 46) L. V. Crawford: *ibid.*, 13, 362 (1965)
- 47) E. A. C. Follet, L. V. Crawford: *ibid.*, 28, 455, 461 (1967)
- 48) H. Bujard: *ibid.*, 33, 503 (1968)
- 49) L. V. Crawford, P. H. Black: Virology, 24, 388 (1964)
- 50) W. Bauer, J. Vinograd: J. Mol. Biol., 33, 141 (1968)
- 51) J. A. Kiger, Jr., E. T. Young, II, R. L. Sinsheimer: J. Mol. Biol., 33, 395 (1968)
- 52) V. C. Bode, A. D. Kaiser: *ibid.*, 14, 399 (1965)
- 53) J. C. Wang, D. Baumgarten, B. M. Olivera: Proc. Nat. Acad. Sci., 58, 1852 (1967)
- 54) V. C. Bode, L. A. MacHattie: J. Mol. Biol., 32, 673 (1968)
- 55) M. Rhoades, C. A. Thomas, Jr.: *ibid.*, 37, 41 (1968)

- 56) A. K. Kleinschmidt, A. Burton, R. L. Sinsheimer: Science, 142, 961 (1968)
- 57) M. G. Rush, A. K. Kleinschmidt, W. Hellmann, R. C. Warner: Proc. Nat. Acad. Sci., 58, 1676 (1967)
- 58) M. Goulian, A. Kornberg: *ibid.* 58, 1723 (1967)
- 59) H. S. Jansz, P. D. Baas, P. H. Pouwels, E. F. J. van Bruggen, H. Oldenziel: J. Mol. Biol., 32, 159 (1968)
- 60) A. M. Kroon, et al.: Proc. Nat. Acad. Sci., 56, 1836 (1966) R. H. Kirschner, et al.: *ibid.* 60, 1466 (1968)
- 61) I. B. David, et al.: J. Mol. Biol., 28, 233 (1967)
- 62) L. Pikó, et al.: Proc. Nat. Acad. Sci., 59, 838 (1968)
- 63) R. Radloff, W. Bauer, J. Vinograd: Proc. Nat. Acad. Sci., 57, 1514 (1967) B. Hudson, J. Vinograd: Nature, 216, 647 (1967)
- 64) D. A. Clayton, J. Vinograd: Nature, 216, 652 (1967)
- 65) L. Shapiro, et al.: J. Mol. Biol., 33, 907 (1968)
- 66) J. Cairns: *ibid.* 6, 208 (1963)
- 67) Y. Hotta, A. Bassel: Proc. Nat. Acad. Sci., 53, 356 (1965)
- 68) M. S. Sasaki, A. Norman: Exptl Cell Res., 44, 642 (1966)
- 69) E. J. DuPraw: Nature, 206, 338 (1965)
- 70) A. Govaerts, D. Dekegel: *ibid.* 209, 831 (1966)
- 71) D. R. Wolstenholme, I. B. Dawid, H.-J. Ristow: J. Cell Biol., 35, 145A (1967)
- 72) A. J. Solari: Proc. Nat. Acad. Sci., 58, 503 (1965)
- 73) J. Cairns: J. Mol. Biol., 15, 372 (1966)
- 74) J. A. Huberman, A. D. Riggs: Proc. Nat. Acad. Sci., 55, 599 (1966)
- 75) E. B. Freese, E. Freese: Biochemistry, 2, 707 (1963)
- 76) V. A. Bloomfield: Proc. Nat. Acad. Sci., 55, 717 (1966)
- 77) P. Fong: J. Theoret. Biol., 15, 230 (1967)
- 78) R. Okazaki, T. Okazaki, K. Sakabe, K. Sugimoto, A. Sugino: Proc. Nat. Acad. Sci., 59, 598 (1968)
- 79) M. Gellert: *ibid.* 57, 148 (1967)
- 80) B. Weiss, C. C. Richardson: *ibid.* 57, 1021 (1967)
- 81) J. Newman, P. Hanawalt: J. Mol. Biol., 35, 639 (1968)
- 82) M. L. Geffer, A. Becker, J. Hurwitz: Proc. Nat. Acad. Sci., 58, 240 (1967)
- 83) M. Watanabe: Jap. J. Genetics, 42, 445 (1967), Proc. XII Internat'l Congress Genetics 1, 160 (1968), J. Cell Biol., (投稿中)
- 84) J. F. Pardon, M. H. F. Wilkins, B. M. Richards: Nature, 215, 508 (1967)
- 85) G. Zubay: The Nucleohistones (ed. J. Bonner, P. Ts'o), 95, Holden-Day Inc., San Francisco (1964)
- 86) 三井幸雄: 生物物理, 8, 24 (1968)
- 87) J. W. MacInnes, R. B. Uretz: Science, 151, 689 (1966)
- 88) S. Inoué, H. Sato: *ibid.* 136, 1122 (1962)
- 89) J. W. MacInnes, R. B. Uretz: J. Cell Biol., 38, 426 (1968)
- 90) S. M. Klimenko, T. I. Tikchonenko, V. M. Andreev: J. Mol. Biol., 23, 523 (1967)
- 91) L. F. Cavalieri, B. H. Rosenberg: Biophysical J., 1, 323 (1961)
- 92) V. Luzzati, A. Nicolaieff: J. Mol. Biol., 7, 142 (1963)

最新刊

● 現代生物科学シリーズ〈4〉

がんの細胞膜

東京大学教授 理学博士 寺山 宏 編

A 5判・270頁 写38・図65・表56 定価 1,500円

細菌とウイルスの間の世界に挑む生体微粒子解析の新しいアプローチの紹介とその成果を癌細胞膜の精確なデッサンに託し展開した新綜説 12 稿。異常細胞・異常組織の的確な把握を通じて基礎医学の底辺を担わんとする病態生理化学の最先端の業績紹介を通して、これからの生物科学の歩む一つの方向づけを果す新感覚の編成。

組織形成論, 転移論, 膜表面の電荷生理学, 制御機構論, 細胞膜構造論, 細胞代謝学, 生体熱力学, 酵素化学, 免疫生物学, ウイルス学, 遺伝学など, 関連分野の最近の研究事例を詳しく豊富に引用し, 必要な有機化学・錯体化学の解説も折り込んでおり, 薬理・生理を志す人ばかりか広く生物研究に生きる人の関心と期待にこたえてくれる。内容見本呈

興奮性膜の一般生理

現代生物科学シリーズ〈1〉

北里 宏 著 A 5判・216頁 定価 980円

薬物の作用点

現代生物科学シリーズ〈2〉

高木 博司 編 A 5判・298頁 定価 1,500円

薬物の生体内移行

現代生物科学シリーズ〈3〉

中垣 正幸 編 A 5判・404頁 定価 2,000円

〈近刊〉能動輸送

現代生物科学シリーズ〈5〉

井上・品川 共編 A 5判・350頁 予価 1,700円

微量拡散分析試験法

石坂 音治 著 A 5判・204頁 定価 1,000円

ユニット装置の概要をはじめ50有余の物質群について測定上の実験面を詳解している。

入門生体熱力学

山辺 茂 著 A 5判・156頁 定価 800円

古典・近代熱力学の両面をもたせ, 化学結合論と関連づけながら基礎と応用を平易詳解

本店 113 東京都文京区本郷3丁目42・振替東京 149

支店 604 京都市中京区寺町通御池南・振替京都5055

南江堂