課題番号 ：F-21-OS-0014
利用形態 ：機器利用
利用課題名（日本語） ：ナノ可視化法の開発による染色体研究
Program Title (English) ：Study of chromosome structure by nano visualization
利用者名（日本語） ：<u>近江戸伸子</u>，Channarong Sartsanga，Rinyaporn Phengchat
Username (English) ：<u>N. Ohmido</u>, C. Sartsanga, R. Phengchat
所属名（日本語） ：神戸大学人間発達環境学研究科
Affiliation (English) ：Graduate School of Human Development and Environment, Kobe University
キーワード／Keyword ：形状・形態観察，染色体，構造，動物，植物

1．概要（Summary）

生物種（オオムギ染色体）を生物試料とし、集束イオンビームによる標準的な観察法を開発する。細胞分裂中期に構築される遺伝物資の担体である染色体を構成するクロマチン構造について、ナノ可視化法を用いて明らかにした。

2．実験（Experimental）

【利用した主な装置】

高精細集束イオンビーム装置(NanoFab/Helium Ion Microscope)

【実験方法】

オオムギならびにヒト培養細胞を培養後、同調化ならびに単離した染色体をシリコンウエハー上に展開し、0.5% ionic liquid (IL)で処理し、HIM の観察の前にタングステンコーティングを施し、集束イオンビーム装置を用いて観察した。

3．結果と考察（Results and Discussion）

研究結果として以下の 3 点を確立した。1) 効果的な生物試料としてのオオムギ染色体試料の調整法の開発、2) HIM での観察と染色体外部のクロマチン構造の解明、3) カルシウムイオンの染色体凝縮についての効果の解明を行った。

脱水処理を避けた定常状態に近いオオムギ染色体を高収率で分離する技術を開発できた。HIM と画像解析の結果、染色体表面のクロマチン繊維のユニットサイズは 11.6±3.5 nm であり、従来のクロマチンネットワークモデルに一致したことを証明した。Fig. 1 のように染色体機能部位である染色体末端と動原体付近で凝縮度が異なることを明らかにした。その結果、染色体のような水分を含む柔らかい生物材料に用いた場合も、自然状態の構造を維持しながら、詳細なナノレベルでの表面構造を明らかにすることが可能となった。

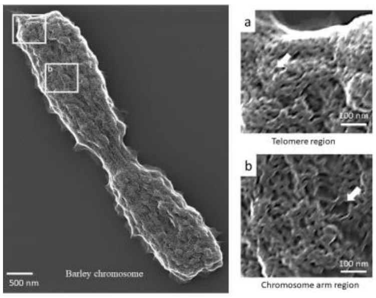

Fig. 1 HIM images. Left; HIM image of Barley chromosome. (a) Telomere region, (b) Centromere region, Scale bars, left 500 nm, (a), (b) 100 nm.

4．その他・特記事項（Others）

1.資金名： 戦略的国際共同研究プログラム（SICORP）
課題名（任意）： 遺伝物質の構造および初期感染過程のナノ可視化法の開発によるバイオナノテクノロジーの新たな展開
2.資金名： 三菱財団自然科学研究　助成研究
課題名（任意）： トポロジカルクロマチンマッピングによる染色体高次構造の解明

5．論文・学会発表（Publication/Presentation）

論文発表:

Channarong Sartsanga, Rinyaporn Phengchat, Kiichi Fukui, Toshiyuki Wako and Nobuko Ohmido. Surface structures consisting of chromatin fibers in isolated barley (*Hordeum vulgare*) chromosomes revealed by helium ion microscopy. *Chromosome Res.* 27 January 2021

Aldi Yazri Siregar*, Channarong Sartsanga*, Fendi Sofyan Arifudin, Rinyaporn Phengchat, Andi Salamah, Nobuko Ohmido, Kiichi Fukui and Astari Dwiranti. Calcium ion significance on the maintenance of Barley (*Hordeum vulgare*) chromosome compaction. *Micron.* 2 March 2021 (* equal contribution)

6．関連特許（Patent）

なし。