

Struktur der Interphasenchromosomen

Autor(en): **Noll, Markus**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **34 (1978)**

PDF erstellt am: **10.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-308162>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Abteilung Zellbiologie, Biozentrum der Universität Basel

STRUKTUR DER INTERPHASENCHROMOSOMEN*

MARKUS NOLL

Zusammenfassung

Die Chromosomen sind auf einer strukturellen Einheit, dem Nucleosom, aufgebaut. Das Nucleosom besteht aus einem Proteinkern, der von vier der fünf Histone (H1, H2A, H2B, H3, H4) in Form eines Oktamers $(H2A \cdot H2B \cdot H3 \cdot H4)_2$ gebildet wird, und etwa 200 Basenpaaren DNS, die auf der Aussenseite des Histonoktamers wahrscheinlich spiralförmig angeordnet sind. Die Form der Nucleosomen gleicht einem niedrigen Zylinder, dessen Stirnflächen leicht gegeneinander geneigt sind und dessen Höhe von 60 \AA etwa die Hälfte seines Durchmessers beträgt. Die Nucleosomen reihen sich dicht aneinander und sind durch die kontinuierliche DNS verbunden. Da das fünfte Histon, H1, die Wechselwirkung benachbarter Nucleosomen stabilisiert, wird ihm Bedeutung in höheren strukturellen Ordnungen der Chromosomen beigemessen.

Abstract

The chromosomes are based on a structural unit, the nucleosome. It consists of a protein core and about 200 base pairs of DNA arranged on its outside in a regular way, probably as a spiral. The protein core is a histone octamer containing two copies each of the four main types of histones, H2A, H2B, H3, and H4. The shape of the nucleosome resembles a short wedge shaped cylinder of $110 \text{ \AA} \times 110 \text{ \AA} \times 60 \text{ \AA}$. The nucleosomes are closely spaced and linked by the continuous DNA. Since the fifth histone, H1, stabilizes the interaction of adjacent nucleosomes, it is considered to be involved in the formation of higher structural orders in the chromosomes.

* Diese Arbeit wurde teilweise vom Schweizerischen Nationalfonds (Nr. 3.719.76) unterstützt.

Im Mittelpunkt unseres Symposiums steht die genetische Information. Bekanntlich ist diese in allen Zellen in Form eines linearen, vier Buchstaben umfassenden Codes in der Basensequenz der DNS gespeichert. Die Sequenz bestimmt die Eigenschaften der einzelnen Zelle sowie, in mehrzelligen Organismen, die Interaktionen der Zellen untereinander. Dabei ist klar, dass ein höheres Lebewesen wesentlich komplizierter bezüglich Bau und Funktionsweise ist als etwa ein Bakterium oder Einzeller und daher bedeutend mehr Information in seiner DNS speichern muss. Dies kommt in der zunehmenden Länge der DNS in höheren Organismen zum Ausdruck (1). So ist die DNS des Menschen etwa 35 mal länger als diejenige der kleinen Fruchtfliege, *Drosophila*, die wiederum etwa 30 mal länger als die eines Bakterium ist. Allerdings stellt die Länge der DNS nur ein grobes Mass für die Evolutionsstufe eines Organismus dar. So besitzen z.B. die Lilien und gewisse Amphibien 25 bis 50 mal soviel DNS wie der Mensch.

Die Länge der DNS Moleküle höherer Organismen im Vergleich zu ihrem Durchmesser ist enorm. Um sich dies zu veranschaulichen, vergrössern wir die DNS 50'000-fach in den sichtbaren Bereich. Ihre Ausmasse wären dann die eines Fadens von 0,1 mm Dicke und einer Länge von 200 km oder etwa 4 km pro Chromosom beim Menschen. Diese Chromosomenfäden müssen in den Zellkern gebracht werden, dessen Durchmesser, im selben Massstab vergrössert, nur 50 cm beträgt. Dies ist natürlich keine leichte Aufgabe, besonders wenn man bedenkt, dass dabei die Information auf diesen Fäden an bestimmten Stellen abgelesen, an andern reprimiert werden sollte, also sicher eine gewisse Ordnung herrschen muss. Zudem kontrahieren sich die Fäden während der Metaphase der Zellteilung um das 10'000-fache, also von 4 km auf etwa 40 cm in unserem Vergleich.

Es ist seit geraumer Zeit bekannt, dass Metaphasenchromosomen eine charakteristische Struktur aufweisen, die sich durch Färben mit gewissen Farbstoffen nachweisen lässt (2). Ebenso scheinen die weniger stark kontrahierten Interphasenchromosomen, Chromatin genannt, eine definierte Struktur zu besitzen, die in Riesenchromosomen (3) oder Lampenbürstenchromosomen (4) beobachtet werden kann. Es wäre daher erstaunlich, wenn diesen regelmässigen Strukturen nicht eine wohldefinierte Ordnung zugrunde läge. Dass in der Tat diese Chromosomenstrukturen auf einer Grundstruktur aufgebaut sind, wurde jedoch erst in den letzten Jahren offensichtlich. An einer solchen Grundstruktur des Chromatins müssten sich ausser der DNS noch gewisse stark basische Proteine, die Histone, beteiligen, da sie bei weitem den Hauptanteil der chromosomalen Proteine bilden und etwa dieselbe totale Masse wie die DNS im Chromatin besitzen. Sie bestehen aus nur fünf verschiedenen Polypeptidketten, den Histonen H1, H2A, H2B, H3 und H4, die in einem molaren Verhältnis von etwa 1:2:2:2:2

Tabelle 1. Die fünf Histonklassen

Histon	Molekulargewicht	
H1	≈ 21,000	sehr Lysin-reich
H2A	14,004	} Lysin-reich
H2B	13,774	
H3	15,324	} Arginin-reich
H4	11,282	

Die Histone lassen sich in fünf Klassen aufteilen. Die angegebenen Molekulargewichte beziehen sich auf die Histone des Kälberthymus (5). Die Unterschiede zu den Histonen anderer Organismen sind jedoch gering, da die Histone stark konserviert wurden. So unterscheiden sich die Aminosäuresequenzen der Histone H4 vom Erbsenkeim und Kälberthymus nur in zwei von 102 Aminosäuren (6).

stehen und deren Molekulargewichte zwischen 10,000 und 20,000 liegen (Tab. 1). Sie wurden während der Evolution sehr stark konserviert, was zusätzlich auf ihre wichtige strukturelle Bedeutung schliessen lässt.

Vor etwa vier Jahren hat KORNBERG postuliert, dass die Chromatinstruktur auf einer strukturellen Einheit aufgebaut sei (7). Diese strukturelle Einheit, später Nucleosom genannt, besteht aus acht Histonen (je zwei Kopien der vier Histone H2A, H2B, H3, H4), also aus einem Histonoktamer, und etwa 200 Basenpaaren der DNS, die auf der Aussenseite des Histonoktamers angeordnet sind. Solche Einheiten reihen sich eng aneinander, verbunden durch die DNS, und bilden so eine flexible Kette von Nucleosomen, die Chromatinfibrille (7). Im folgenden möchte ich nun kurz darauf eingehen, wie sich diese Chromatinuntereinheiten oder Nucleosomen nachweisen lassen, wobei der beschriebene Weg nur teilweise mit dem historischen übereinstimmt.

Einheit der Chromatinstruktur: Das Nucleosom

Eine wichtige Methode, die zur Klärung der Chromatinstruktur beitrug, bildete die Verdauung des Chromatins mit DNasen, d.h. mit Enzymen, welche die doppelsträngige DNS zwischen den Nucleotiden spalten (8-10). Infolge der Verbindung der chromosomalen DNS mit Histonen ist die DNS jedoch nur an gewissen Stellen der enzymatischen Wirkung dieser DNasen zugänglich. Die Längenverteilung der DNS Fragmente, die während einer Verdauung des Chromatins mit DNasen entstehen, ist daher nicht kontinuierlich, sondern diskret, und erlaubt es uns, Information über die Anordnung der DNS und Histone im Chromatin zu gewinnen.

So zeigt sich, dass gewisse DNasen, wie z.B. Mikrokokken-Nuclease, die DNS nur zwischen den strukturellen Einheiten des Chromatins spalten können (9). Es entstehen also während

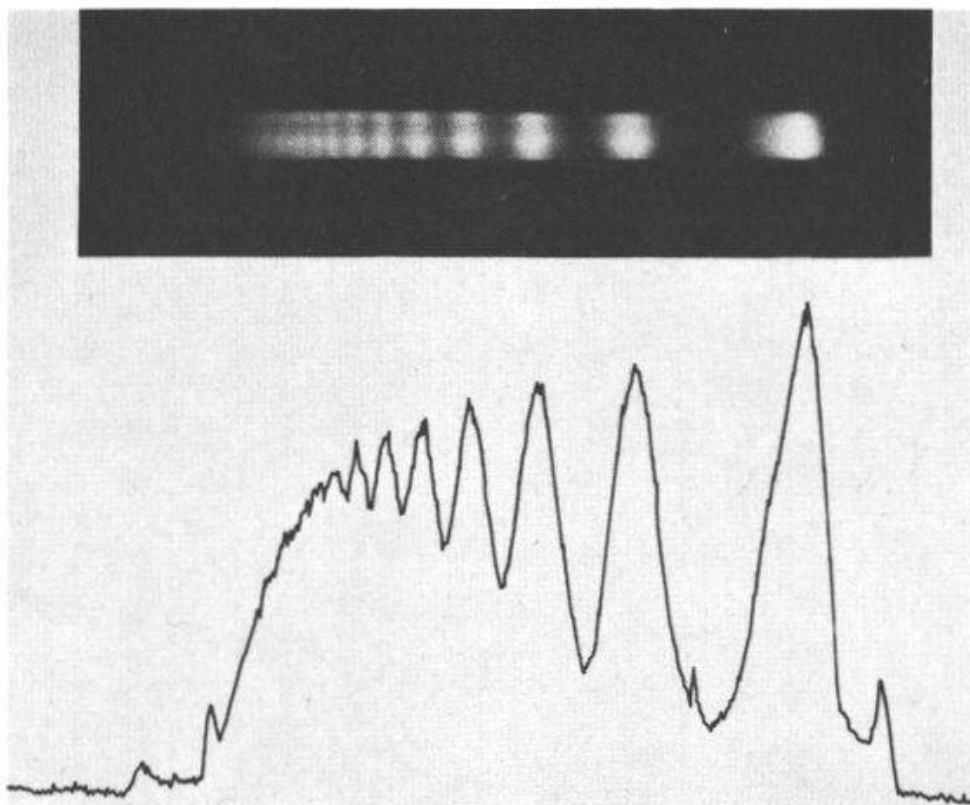


Fig. 1. Längenverteilung der chromosomalen DNS nach einer partiellen Verdauung von Chromatin mit Mikrokokken-Nuclease.

Rattenleberchromatin wurde mit Mikrokokken-Nuclease partiell verdaut, und die DNS Fragmente wurden nach Extraktion der Proteine in einem 2,5 % Polyacrylamidgel elektrophoretisch aufgetrennt. Elektrophorese erfolgte von links nach rechts, die Wanderungsgeschwindigkeit nimmt mit abnehmender Länge der DNS zu. Die Verteilung der DNS, die aus ganzzahligen Vielfachen von 200 Basenpaaren besteht, ist in den hellen, durch Färbung mit Ethidiumbromid fluoreszierenden Banden im Gel direkt sichtbar (oben) oder kann in einem Scan des Negativs quantitativ erfasst werden (unten). Aus Ref. 11.

einer solchen Verdauung Chromatinfragmente, die aus ganzzahligen Vielfachen der Nucleosomen bestehen. Extrahieren wir die Proteine und analysieren die DNS dieser Fragmente, so finden wir ein regelmässiges Muster von Banden (Fig. 1), die gleichfalls ganzzahligen Vielfachen einer Einheitslänge entsprechen. Diese Länge kann durch Eichung mit DNS Fragmenten bekannter Basensequenz ermittelt werden und beträgt etwa 200 Basenpaare (9) in Übereinstimmung mit dem erwähnten Modell (7).

Zwei Bemerkungen sind im Zusammenhang mit Fig. 1 wichtig. Erstens: die Verteilung der DNS Fragmente entspricht einer partiellen Verdauung des Chromatins. Bei einer vollständigen Verdauung werden alle Vielfachen der 200 Basenpaare in DNS der Einheitslänge übergeführt, d.h. alle Verbindungsregionen der Nucleosomen sind der Nucleasenaktivität ausgesetzt. Eine

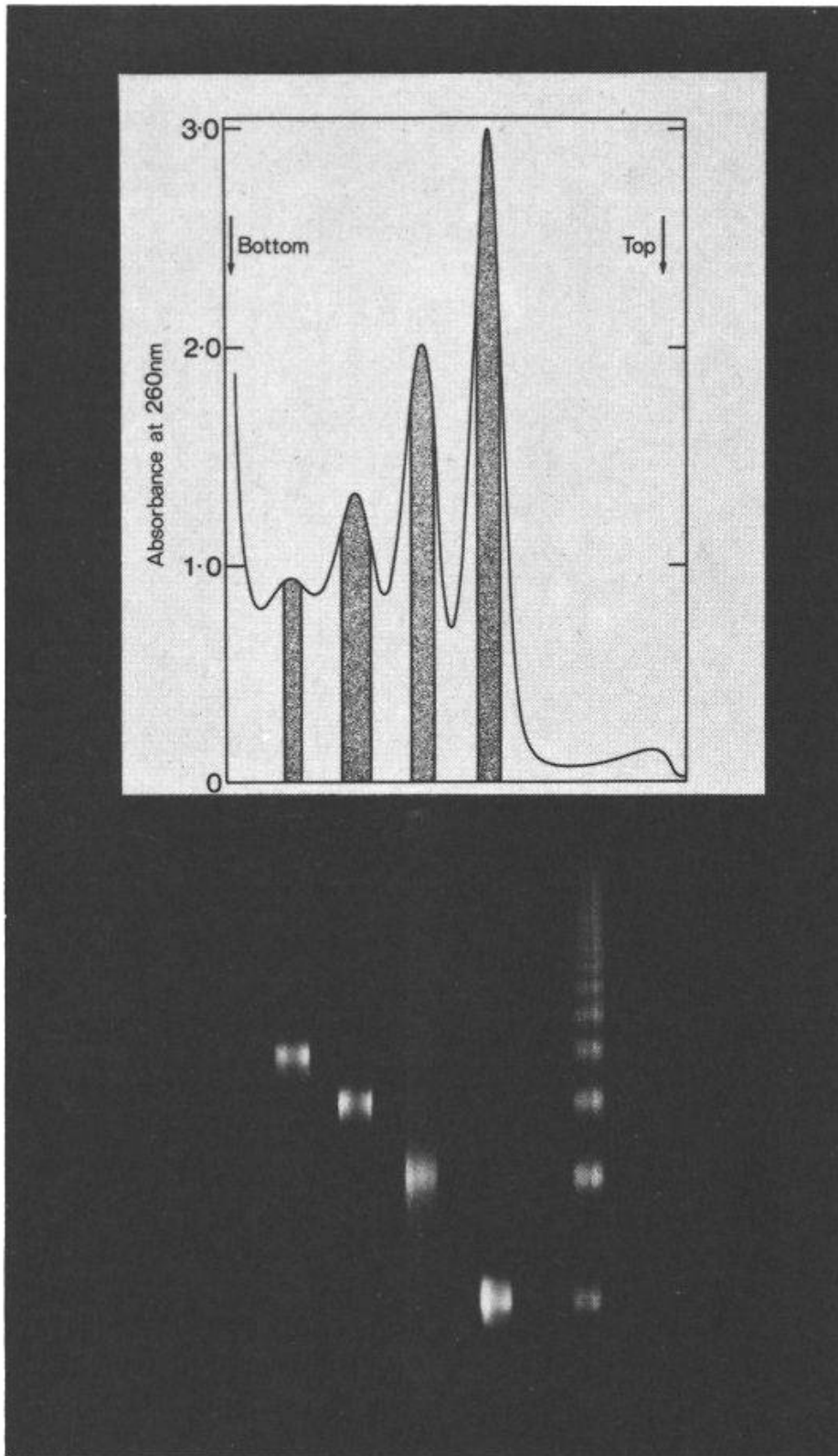


Fig. 2. Sedimentationsanalyse von Oligonucleosomen und Polyacrylamidgelelektrophorese ihrer DNS Komponente.

Nach einer partiellen Verdauung mit Mikrokokken-Nuclease wurden die Chromatinfragmente in einem Sucrosegradienten analysiert (oben). Sedimentation erfolgte von rechts nach links, der S-Wert der Mono- und Dinucleosomen beträgt etwa 11 S und 16 S. Die schraffiert angedeuteten Peak-Fractionen wurden in einem weiteren Sucrosegradienten nochmals gereinigt. Die DNS Komponente dieser gereinigten Peak-Fractionen wurde nach Extraktion der Proteine in Polyacrylamidgelen wie in Fig. 1 analysiert (unten) und mit der gesamten DNS einer Mikrokokken-Nuclease Verdauung von Chromatin verglichen (Gel rechts aussen). Aus Ref. 14.

quantitative Analyse der verdauten DNS zeigt, dass mindestens 90 % der DNS in Nucleosomen verpackt ist (9). Zweitens: die beobachteten DNS Banden sind nicht scharf, sondern besitzen eine gewisse Breite. Dies bedeutet, dass die DNS, welche benachbarte Nucleosomen verbindet, nicht nur an einer, sondern an mehreren Stellen der Nucleasenaktivität ausgesetzt ist. Die Bandbreite ist dann ein Mass für die Verteilungsbreite dieser Nucleaseempfindlichen Stellen. Obschon also Mononucleosomen, die während einer milden Verdauung mit Mikrokokken-Nuclease entstehen, eine heterogene DNS Länge von etwa 200 ± 40 Basenpaaren aufweisen, ist es möglich, Nucleosomen einer einheitlichen DNS Länge von etwa 140 Basenpaaren zu erzeugen. Diese 140-Basenpaar-Nucleosomen entstehen durch Verdauung der DNS Enden in den Nucleosomen mit Mikrokokken-Nuclease als stabiles Endprodukt der Verdauung (11-13). Ihre Bedeutung wird später noch erläutert werden.

Bisher haben wir lediglich die DNS Komponente der Chromatinfragmente untersucht, die während einer Verdauung mit Mikrokokken-Nuclease entstanden sind. Für eine genauere Analyse der Chromatinstruktur wäre es jedoch vorteilhaft, wenn wir einzelne Nucleosomen oder Chromatinfragmente einer definierten Anzahl von Nucleosomen (Polynucleosomen) isolieren könnten. Wie Fig. 2 zeigt, ist dies möglich, indem kurze Chromatinfragmente, die aus nur wenigen Nucleosomen bestehen, entsprechend ihrer Sedimentationsgeschwindigkeit in einem Sucrosegradienten aufgetrennt werden. Eine Analyse der Peak-Fraktionen bestätigt die Vermutung, dass die DNS der Peaks mit wachsender Sedimentationsgeschwindigkeit jeweils um 200 Basenpaare zunimmt (Fig. 3 unten), die Peaks also aus Mono-, Di-, Tri- und Tetranucleosomen bestehen.

Auch über die Form dieser Oligonucleosomen lässt sich nun durch Beobachtung im Elektronenmikroskop etwas aussagen. In Fig. 3 sehen wir, dass einzelne Nucleosomen kugelförmig erscheinen, während Di-, Tri- und Tetranucleosomen wie zwei, drei, respektive vier aneinandergereihte "Kugeln" aussehen, deren Durchmesser etwa 100 \AA beträgt. Auf eine genauere Beschreibung der Gestalt der Nucleosomen werden wir weiter unten eingehen.

Schliesslich können wir noch die Proteinkomponente der Nucleosomen prüfen. Es zeigt sich, dass Mononucleosomen und Polynucleosomen dieselben Histone besitzen und im Durchschnitt je zwei Kopien der Histone H2A, H2B, H3 und H4 pro 200 Basenpaare DNS enthalten (Fig. 4), was wiederum sehr gut mit KORNBERGS Modell (7) übereinstimmt. Wie aus Fig. 4 ersichtlich, ist auch Histon H1 mit Nucleosomen assoziiert. Doch ist H1 kein notwendiger Bestandteil der Chromatinuntereinheit, sondern interagiert mit der Aussenseite der Nucleosomen. So geht auch H1 während einer Mikrokokken-Nuclease Verdauung der DNS Enden in Nucleosomen verloren und findet sich nicht in 140-Basenpaar-Nucleosomen.

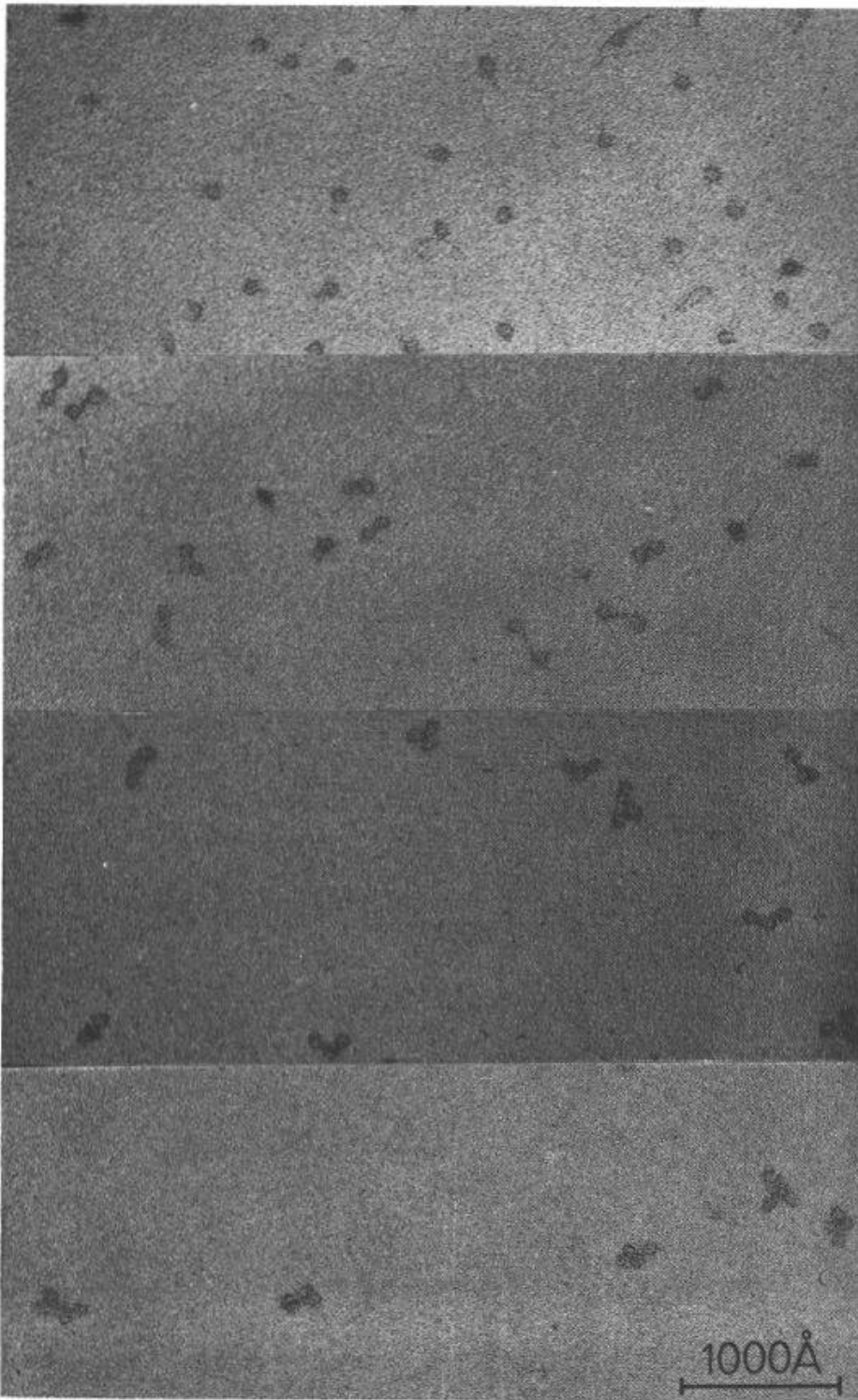


Fig. 3. Elektronenmikroskopie von Mono-, Di-, Tri- und Tetranucleosomen. Die gereinigten Peak-Fractionen des Sucrosegradienten in Fig. 2 wurden im Elektronenmikroskop analysiert. Die Bilder zeigen von oben nach unten Mono-, Di-, Tri- und Tetranucleosomen. Aus Ref. 14.

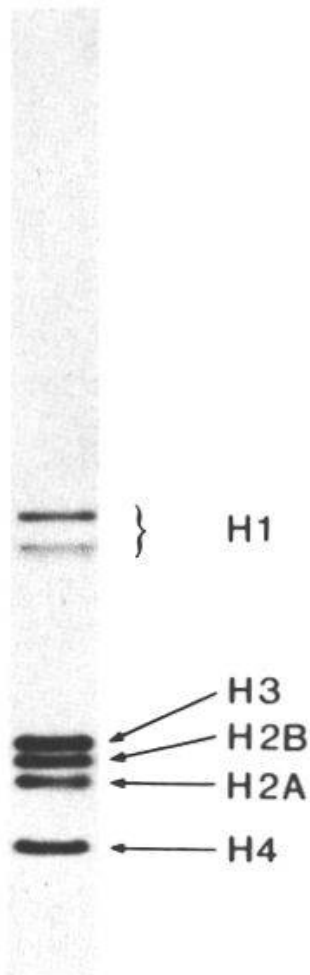


Fig. 4. Analyse der Proteine von Oligonucleosomen in einem Polyacrylamidgel. Die Proteine und die DNS der Peak-Fraktionen des Sucrosegradienten in Fig. 2 wurden dissoziiert, elektrophoretisch in einem Polyacrylamidgel aufgetrennt und die Proteine durch Färbung sichtbar gemacht. Die Position der Histone ist angegeben. Aus Ref. 13.

Innere Struktur des Nucleosoms

Während Mikrokokken-Nuclease die DNS nur zwischen den Nucleosomen verdaut und uns dadurch Einblick in die Struktur der Chromatinfäden verschafft, erfahren wir von DNase Verdauungen, welche die DNS auch im 140-Basenpaar-Nucleosom angreifen, mehr über den inneren Aufbau der Nucleosomen. Eine solche Aktivität zeigt DNase I, welche die DNS auf beiden Strängen nur an Stellen, die ganzzahlige Vielfache von 10 Nucleotiden voneinander entfernt sind, spalten können (10). So erhalten wir nach Verdauung des Chromatins mit DNase I und Analyse der DNS unter denaturierenden Bedingungen in einem Polyacrylamidgel wiederum ein regelmässiges Muster von Banden, deren Längen aber Vielfachen von 10 Nucleotiden entsprechen (Fig. 5). Dabei können wir dieses regelmässige Muster weit über 140 Nucleotide hinaus verfolgen, woraus folgt, dass die DNS in ihrer gesamten Länge von 200 Basenpaaren pro Nucleosom mit den Histonen verbunden ist.

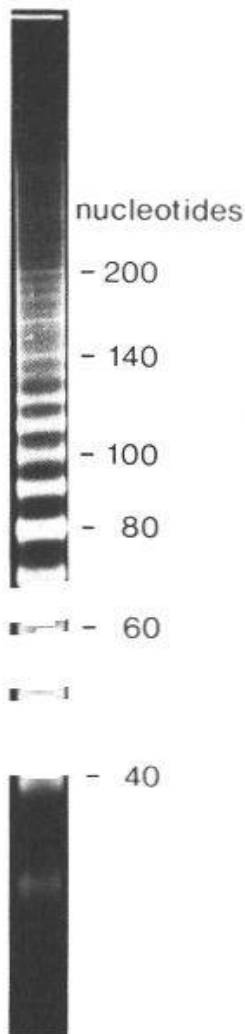


Fig. 5. Längenverteilung der denaturierten chromosomalen DNS nach einer partiellen Verdauung von Chromatin mit DNase I.

Rattenleberchromatin wurde mit DNase I partiell verdaut, und die DNS Fragmente wurden nach Extraktion der Proteine denaturiert und in einem 8 % Polyacrylamidgel unter denaturierenden Bedingungen elektrophoretisch getrennt. Elektrophorese erfolgte von oben nach unten. Die Verteilung der einzelsträngigen DNS, die aus ganzzahligen Vielfachen von 10 Nucleotiden besteht (10, 15), ist wie in Fig. 1 durch Färbung mit Ethidiumbromid sichtbar.

Obwohl also die DNS an manchen Stellen im Nucleosom exponiert ist, beweist Fig. 5 natürlich nicht, dass alle diese Stellen nur 10 Nucleotide voneinander entfernt sind. Figur 5 zeigt lediglich, dass die DNase I-empfindlichen Stellen durch Vielfache von 10 Nucleotiden so getrennt sind, dass während einer partiellen Verdauung alle Längen entstehen, die Vielfache von 10 Nucleotiden betragen. Es wäre sogar denkbar, dass ein beträchtlicher Teil der DNS im Nucleosom vollständig gegen Nuclease Verdauungen geschützt ist. Sollte DNase I die DNS hingegen alle 10 Nucleotide spalten können, so wäre dies ein klarer Beweis dafür, dass die DNS auf der Aussenseite des Nucleosoms angeordnet ist. Um diese Frage abzuklären, müssen wir das Ende der DNS von 140 Basenpaar-Nucleosomen radioaktiv

markieren, bevor wir diese mit DNase I verdauen. Die Länge der radioaktiv markierten einzelsträngigen DNS Fragmente gibt uns dann die Entfernung der DNase I-empfindlichen Stellen vom markierten Ende an. Auf diese Weise wurde gezeigt, dass in der Tat alle Vielfachen von 10 Nucleotiden radioaktiv markiert sind (15) und daher die DNS auf der Aussenseite des Nucleosoms mit dem Histonoktamer verbunden ist.

Der konstante Abstand der DNase I-empfindlichen Stellen deutet auf eine regelmässige Anordnung der DNS im Nucleosom hin, z.B. auf eine Superhelix (15, 16) oder kinky Helix (17, 18), die sich um den Histonkern windet. Dass dieser Abstand 10 Nucleotide beträgt, wird durch die Ganghöhe der DNS Doppelhelix von 10 Basenpaaren erklärt, wodurch bei einer regelmässigen Windung der DNS im Nucleosom geometrisch äquivalente Positionen im Abstand von 10 Nucleotiden auf demselben Strang auftreten (10, 15).

Kristalle und regelmässige Aggregate von Nucleosomen

Präzisere Information über die innere Struktur der Nucleosomen können uns Röntgenstrahl-analyse von Kristallen (16) und Elektronenmikroskopie regelmässiger Aggregate von Nucleosomen (19) verschaffen. Figur 6 zeigt einen Kristall, in welchem die hexagonale Packung der Nucleosomen deutlich zu erkennen ist. Dennoch ist dieser Kristall unbrauchbar zur Röntgenstrahlanalyse, da seine Ausmasse zu klein sind. Wir müssen also versuchen, grössere Kristalle zu züchten, die einer solchen Analyse zugänglich sind. Von ihr erwarten wir genauere Auskunft über die Nucleosomenstruktur, also Antworten auf die wichtigen Fragen nach der Anordnung der Histone und der DNS im Nucleosom.

Regelmässige Aggregate von Nucleosomen, wie die sogenannten Nucleosomenbogen in Fig. 7a, vermögen uns wenigstens ein grobes Bild über die Struktur der Nucleosomen zu vermitteln. Die Nucleosomenbogen zeigen, dass Nucleosomen nicht etwa kugelförmig sind, sondern eher niedrigen Zylindern gleichen, deren Stirnflächen leicht gegeneinander geneigt sind und deren durchschnittliche Höhe von 60 \AA etwa die Hälfte ihres Durchmessers beträgt. Die Bogen bilden sich durch das Aneinanderreihen von Nucleosomen, deren Stirnflächen so miteinander interagieren, dass die geringste Höhe der Nucleosomen auf die Innenseite und die grösste auf die Aussenseite der Bogen zu liegen kommen. Diese Bogen gewähren uns also eine Seitenansicht der Nucleosomen, die sonst nur wie in Fig. 3 von oben im Elektronenmikroskop sichtbar sind und daher rund erscheinen, was früher als kugelförmig interpretiert wurde.

In den meisten Fällen bilden sich Aggregate mehrerer konzentrisch angeordneter Bogen. Die regelmässige Querstreifung der Bogen, welche die Trennfläche der einzelnen Nucleosomen

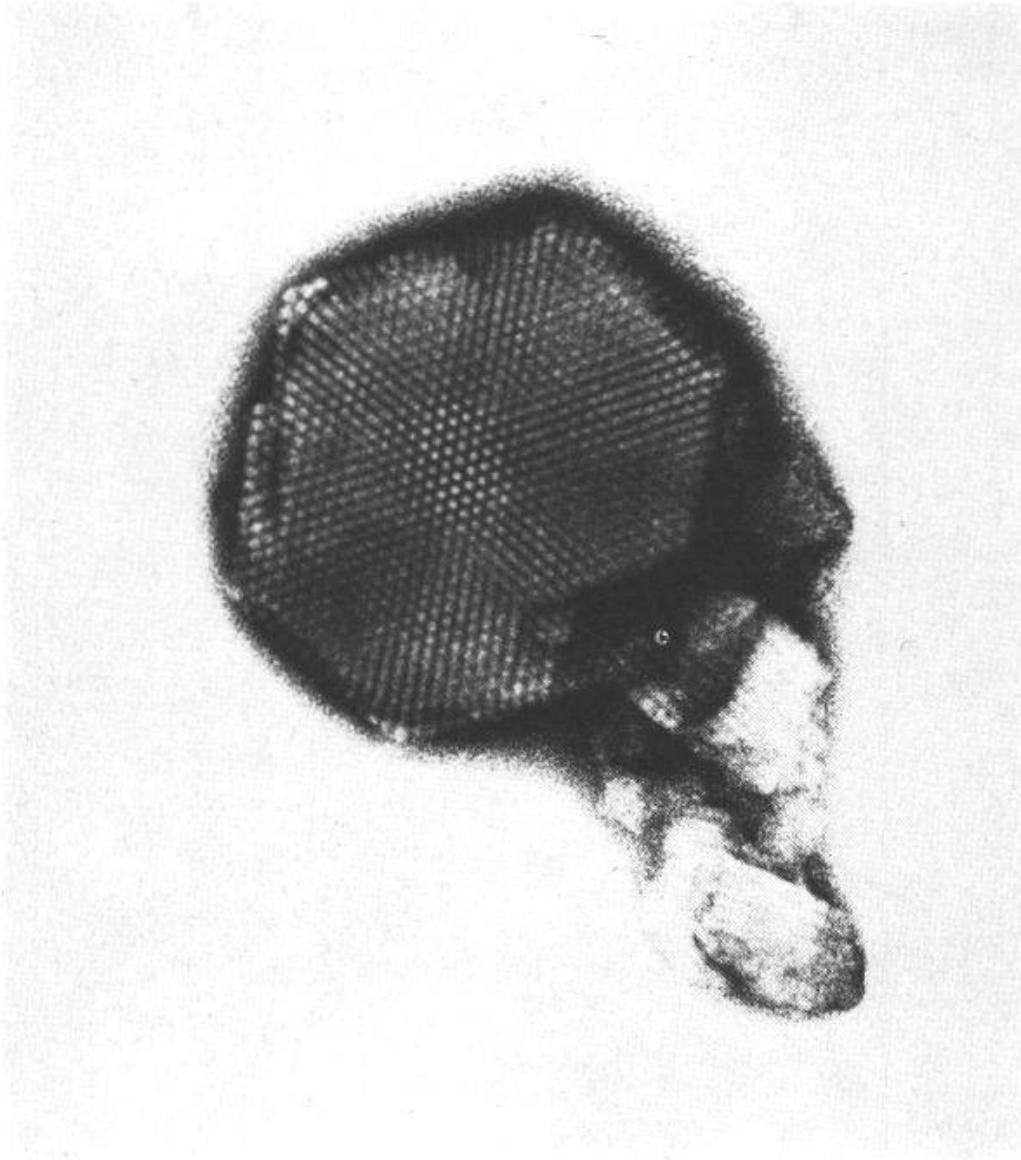


Fig. 6. Nucleosomen-Kristall.

Elektronenmikroskopische Aufnahme eines hexagonalen Kristalls gereinigter 140-Basenpaar-Nucleosomen (aus unveröffentlichten Resultaten von J. Dubochet und M. Noll).

andeutet, ermöglicht es uns, die Höhe der Nucleosomen zu messen. Auch den Winkel, welchen die Stirnflächen der Nucleosomen einschliessen, können wir mit der in Fig. 7b dargestellten Markham Methode bestimmen. Diese Methode besteht darin, dass identische Kopien eines Bogens um den kleinstmöglichen Winkel so gegeneinander gedreht und überlagert werden, dass maximale Verstärkung der Querstreifung auftritt. Wie aus Fig. 7b ersichtlich, sind diese Winkel verschieden für Bogen unterschiedlicher Radien und umgekehrt proportional zu den Radien der Bogen. Das bedeutet, dass die durchschnittliche Höhe der Nucleosomen, bestimmt durch den Abstand der Querstreifung, in allen Bogen gleich ist, während der Neigungswinkel der Stirnflächen zwischen 5° und 16° variiert (19).

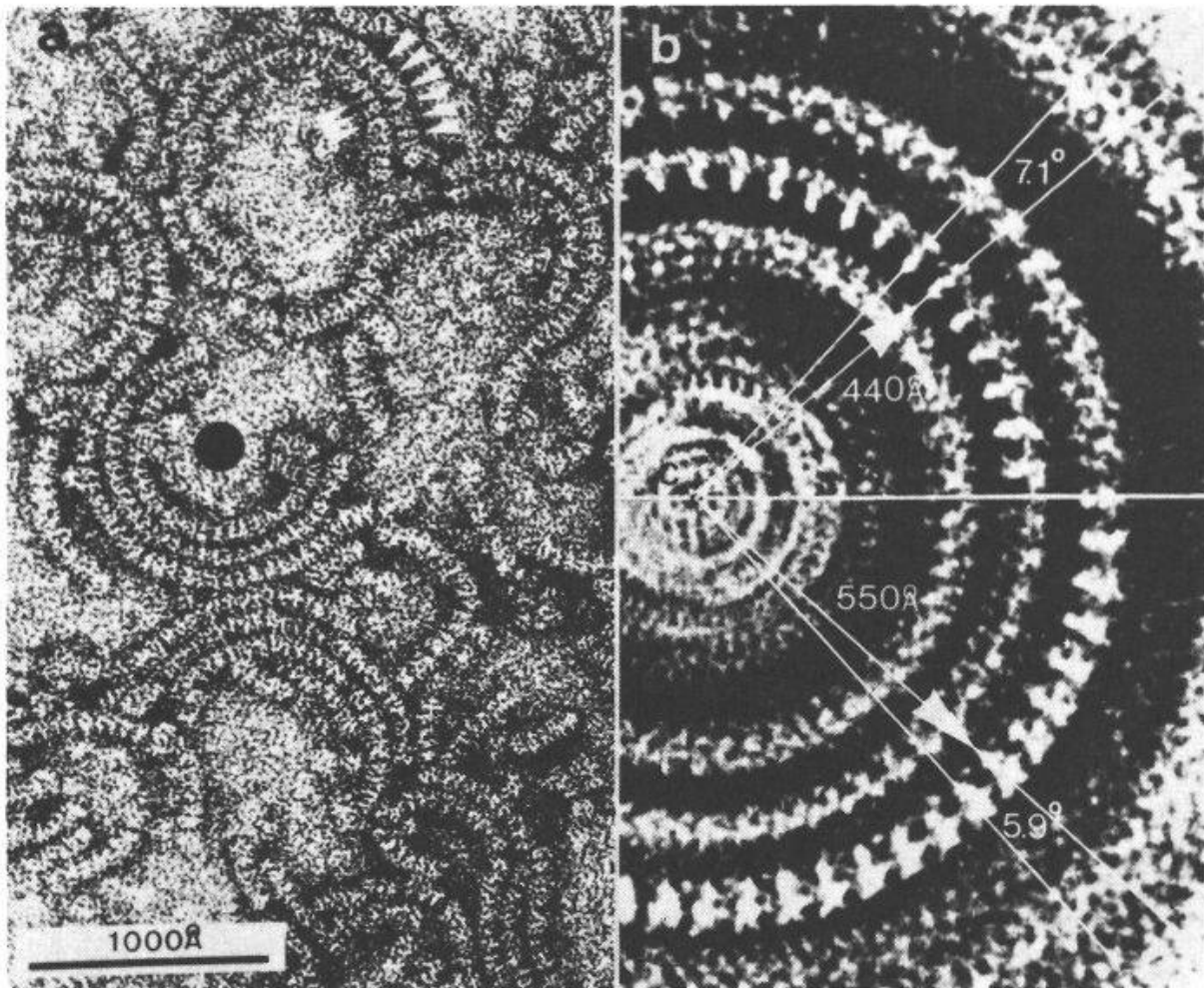


Fig. 7. Nucleosomenbogen.

a. Elektronenmikroskopische Aufnahme von Nucleosomenbogen, die aus gereinigten 140-Basenpaar-Nucleosomen bestehen. Die Pfeile weisen auf Stellen, wo die regelmäßige Querstreifung der Bogen besonders deutlich sichtbar ist. Aus Ref. 19.

b. Markham-Aufnahme von Nucleosomenbogen. Auf zwei der in Fig. 7a mit einem schwarzen Punkt bezeichneten Nucleosomenbogen wurde die Markham Methode angewandt, so dass sich maximale Verstärkung der Querstreifung ergab. Für den mittleren Bogen mit einem inneren Radius von 440 \AA beträgt der Drehwinkel 7.1° , für den äusseren Bogen mit einem inneren Radius von 550 \AA beträgt er nur 5.9° . Aus Ref. 19.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das Nucleosom eine dynamische Struktur ist und in seiner Form am besten durch einen niedrigen Zylinder wiedergegeben wird, dessen Stirnflächen einen kleinen, variablen Neigungswinkel einschliessen. Die DNS ist regelmässig auf der Aussenseite des Nucleosoms angeordnet, wahrscheinlich in Form einer Spirale, deren Achse mit derjenigen des zylinderförmigen Nucleosoms zusammenfällt. Dabei entfielen etwa 80 Basenpaare auf eine Umdrehung dieser Spirale, was einem Durchmesser des Nucleosoms von etwa 110 \AA entspricht. Ob das Histonoktamer, welches den Kern des Nucleosoms bildet und aus je zwei Kopien der Histone H2A, H2B, H3 und H4 besteht, eine zweifache Symmetrie-

achse besitzt, ist zur Zeit noch ungewiss. Sollte das Nucleosom eine solche Symmetrie aufweisen, so müssten die Symmetrieachsen der Nucleosomen in den Bogen radial gerichtet sein und in der Mitte zwischen den Stirnflächen liegen.

Höhere Ordnungen der Chromatinstruktur

Zum Schluss möchte ich noch mögliche höhere strukturelle Ordnungen im Chromatin diskutieren. Obschon Modelle über die weitere Faltung der Chromatinfäden in Form von Solenoiden (20) oder Superbeads (21) vorgeschlagen wurden, sind diese spekulativ und stützen sich nicht auf überzeugende Resultate. Es gibt jedoch gewisse Hinweise darauf, dass Histon H1 im Zusammenhang mit höheren Strukturen eine Rolle spielt. Diese haben ihren Ursprung in folgenden Beobachtungen. Wird H1 vom Chromatin entfernt, ohne dass strukturelle Veränderungen der DNS bezüglich der übrigen Histone in den Nucleosomen auftreten, so zeigt sich, dass die Sedimentationsgeschwindigkeit von Polynucleosomen stark reduziert wird (11-13). So vermindert sich z.B. der S-Wert von Dinucleosomen von 15.9 S auf 13.6 S. Dieser Effekt lässt sich nur durch eine entsprechende drastische Vergrößerung der Achsenverhältnisse der sedimentierenden Polynucleosomen erklären, woraus folgt, dass H1 die Wechselwirkung benachbarter Nucleosomen stabilisiert. Dabei ist H1 auf der Aussenseite an die DNS gebunden, die benachbarte Nucleosomen verbindet. Dies geht einerseits daraus hervor, dass diese Stellen rascher von Mikrokokken-Nuclease verdaut werden, wenn H1 entfernt wird, und andererseits aus dem oben erwähnten Befund, dass H1 mit 140-Basenpaar-Nucleosomen nicht mehr assoziiert ist (11-13).

Es besteht ferner die Hypothese, dass H1 nicht nur mit der DNS interagiert, die benachbarte Nucleosomen verbindet, sondern auch noch deren Länge beeinflusst (22). So ist die DNS pro Nucleosom wesentlich kürzer in Organismen, deren H1 eine beträchtlich reduzierte Anzahl der Lysinreste aufweisen, während das 140-Basenpaar-Nucleosom in allen Organismen konserviert wurde. Wie Fig. 8 zeigt, ergeben auch Rekonstitutionsversuche von Chromatin, in denen nur die Histone H2A, H2B, H3 und H4 mit DNS verbunden werden und H1 weggelassen wird, eine kürzere Länge der DNS pro Nucleosom als in nativem Chromatin (23).

Dass in Metaphasenchromosomen, wo das Packungsverhältnis der DNS (Verhältnis der Länge der freien DNS zur Länge der Struktur, in welche die DNS verpackt ist) bis zu 10'000 betragen kann, mindestens noch zwei oder drei weitere strukturelle Ordnungen existieren müssen, ist klar. Wie diese Strukturen aussehen und welche Rolle H1 und eventuelle andere strukturellen Proteine, wie beispielsweise die Scaffold-Proteine (24), dabei spielen, wird sich wahrscheinlich in naher Zukunft erweisen. Ebenso ungewiss sind zur Zeit noch die dynamischen Aspekte der Nucleosomenstruktur (d.h. wie sich diese Struktur während der

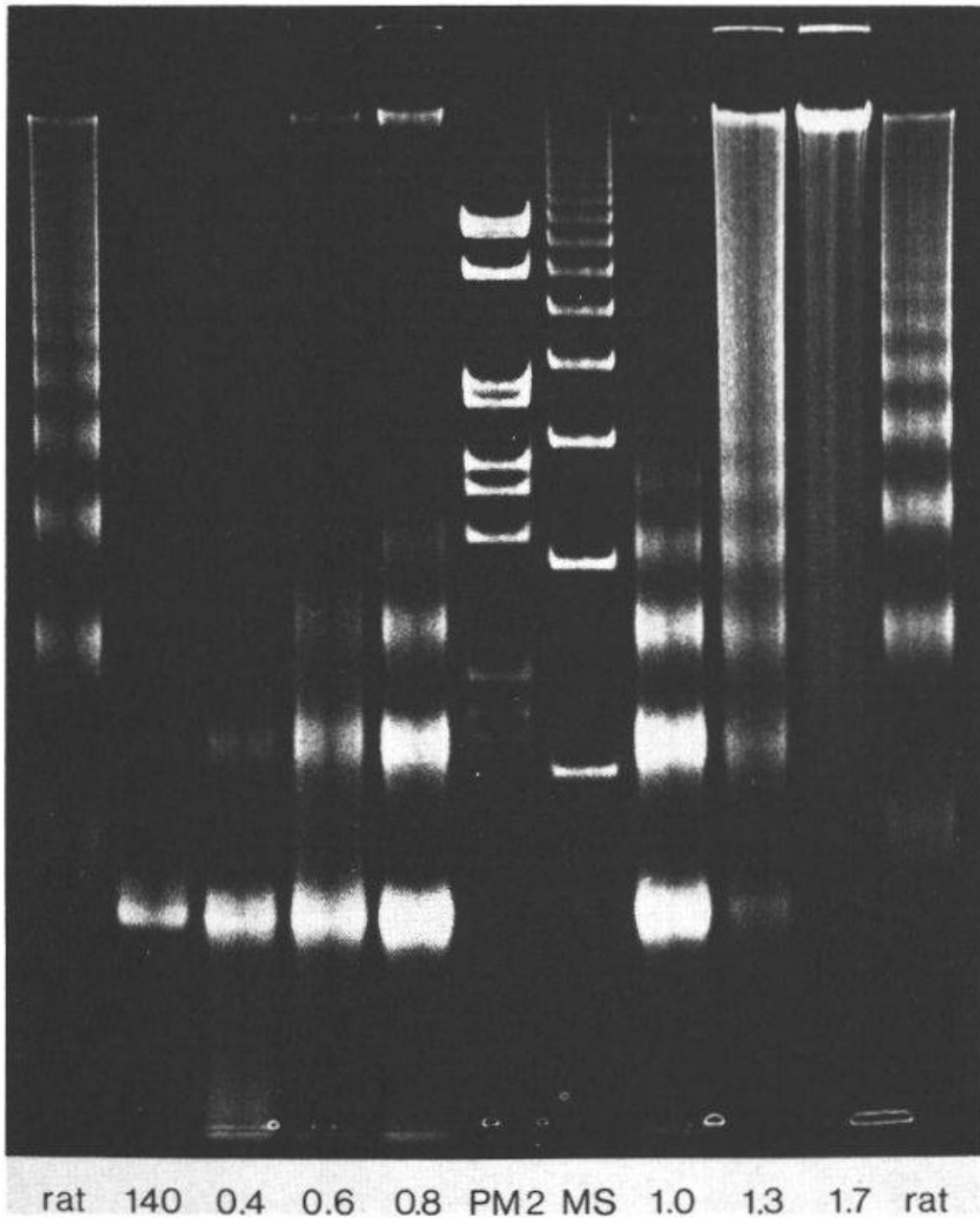


Fig. 8. Rekonstitution von Chromatin ohne Histon H1. Aequimolare Mengen der vier Histone H2A, H2B, H3 und H4 wurden mit DNA reassoziert, wobei das Gewichtsverhältnis der Histone zur DNS zwischen 0.4 und 1.7 variiert wurde. Das rekonstituierte Chromatin wurde mit Mikrokokken-Nuclease verdaut, und die Längenverteilung der DNS Fragmente in einem Polyacrylamidgel wie in Fig. 1 analysiert. Zur Kalibrierung zeigen die Bahnen rechts und links aussen DNS Fragmente einer Mikrokokken-Nuclease Verdauung von Rattenleberchromatin und die mit "PM2", "MS" und "140" bezeichneten Bahnen DNS Fragmente bekannter Länge von PM2 DNS, Maus Satelliten-DNS, respektive DNS von 140-Basenpaar-Nucleosomen (Noll, Dubochet, Zimmer und Engel, unveröffentlicht).

Transkription oder der DNS Replikation verhält) und ihre Bedeutung bezüglich der Genregulation (Frage des Phasing (25, 26)).

Wir sehen also, dass, obschon die Erkenntnis einer fundamentalen Einheit der Chromatinstruktur einen wesentlichen Schritt bedeutet, noch ein weiter Weg zum vollständigen Verständnis der Chromatinstruktur zurückzulegen ist. Wir hoffen natürlich, dass eine Lösung der strukturellen Probleme uns auch Einsicht in die Funktionsweise der genetischen Information in Eukaryonten bieten wird.

1. Holliday R. (1970): *Symp.Soc.Gen.Microbiol.* 20, 359-380.
2. Caspersson T., Farber S., Foley G.E., Kudynowski J., Modest E.J., Simonsson E., Wagh U., Zech L. (1968): *Exp. Cell Res.* 49, 219-222.
3. Heitz E., Bauer H. (1933): *Z. Zellforsch.* 17, 67-82.
4. Gall J.G. (1956): *Brookhaven Symp. Biol.* 8, 17-32.
5. De Lange R.J., Smith E.L. (1973): *Acc. Chem. Res.* 5, 368-373.
6. De Lange R.J., Fambrough D.M., Smith E.L., Bonner J. (1969): *J.Biol.Chem.* 244, 5669-5679.
7. Kornberg R.D. (1974): *Science* 184, 868-871.
8. Hewish D.R., Burgoyne L.A. (1973): *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 52, 504-510.
9. Noll M. (1974): *Nature* 251, 249-251.
10. Noll M. (1974): *Nucl. Acids Res.* 1, 1573-1578.
11. Noll M. (1977): In *Nucleic Acid-Protein Recognition* (Vogel H., ed.), pp. 139-150, P&S Biomedical Sciences Symposium 1976, New York.
12. Noll M., Kornberg R.D. (1977): *J. Mol. Biol.* 109, 393-404.
13. Noll M. (1976): In *Organization and Expression of Chromosomes* (Allfrey V.G., Bautz E.K.F., McCarthy B.J., Schimke R.T., Tissières A., Eds.) pp. 239-252, Dahlem Konferenzen 1976, Berlin.
14. Finch J.T., Noll M., Kornberg R.D. (1975): *Proc.Nat.Acad.Sci. USA* 72, 3320-3322.
15. Noll M. (1977): *J. Mol. Biol.* 116, 49-71.
16. Finch J.T., Lutter L.C., Rhodes D., Brown R.S., Rushton B., Levitt M., Klug A. (1977): *Nature* 269, 29-36.
17. Crick F.H.C., Klug A. (1975): *Nature* 255, 530-533.
18. Sobell H.M., Tsai C., Gilbert S.G., Jaim S.C., Sakore T.D. (1976): *Proc.Nat.Acad.Sci. USA* 73, 3068-3072.
19. Dubochet J., Noll M. (1978): *Science*, 202, 280-286.
20. Finch J.T., Klug A. (1976): *Proc.Nat.Acad.Sci. USA* 73, 1897-1901.
21. Renz M., Nehls P., Hozier J. (1977): *Proc.Nat.Acad.Sci. USA* 74, 1879-1883.
22. Noll M. (1976): *Cell* 8, 349-355.
23. Steinmetz M., Streeck R.E., Zachau H.G. (1978): *Eur.J.Biochem.* 83, 615-628.
24. Adolph K.W., Cheng S.M., Paulson J.R., Laemmli U.K. (1977): *Proc.Nat.Acad.Sci. USA* 74, 4937-4941.
25. Ponder B.A.J., Crawford L.V. (1977): *Cell* 11, 35-49.
26. Prunell A., Kornberg R.D. (1978): In *Cold Spring Harbor Symp.Quant.Biol.* 42, 103-108.

Adresse des Autors: Dr. M. Noll, Abteilung Zellbiologie, Biozentrum der Universität, Klingelbergstrasse 70, CH-4056 Basel (Schweiz)

