

平成 22 年 4 月 20 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19570169
 研究課題名 (和文) 遺伝情報の発現を制御するクロマチンドメインの分子構築と動態
 研究課題名 (英文) Molecular organization and dynamics in chromatin domains for gene expression control
 研究代表者 清水 光弘 (SHIMIZU MITSUHIRO)
 明星大学・理工学部・教授
 研究者番号：80231364

研究成果の概要：真核生物のゲノム DNA はヒストンと結合し、ヌクレオソーム、クロマチンとして核内に収納されている。遺伝子発現におけるクロマチンの機能を明らかにすることを目的として、まず、ヒト由来 His₆ タグ付ヒストン H3 バリエントを酵母で発現させ、それを含む酵母ミニ染色体を容易に精製する系を構築した。さらに、ゲノム遺伝子座におけるヌクレオソーム配置のダイナミックな変化が、転写制御に本質的な機能を有することを示した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：分子生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：ゲノム、遺伝子、発現制御、転写制御、クロマチン、ヌクレオソーム、ヒストン、酵母

1. 研究開始当初の背景

ヒトをはじめとする真核生物において、ゲノム DNA はヒストンと結合してヌクレオソームを形成し、クロマチンとして細胞核内に収納されている。クロマチンの基本単位であるヌクレオソームが 1974 年に発見されて以来、電子顕微鏡、X 線結晶構造解析法などによって、ヌクレオソームの構造研究が行われてきた。1997 年に、*in vitro* で再構成したヌクレオソームコア粒子の結晶構造が 2.8 Å の分解能で解明され、さらに、2005 年にはヌクレオソーム 4 量体の結晶構造が明らかになった。

このように、近年、ヌクレオソーム構造の原子レベルでの理解が急速に進んでいる。しかしながら、*in vivo* ではヌクレオソームは静的な構造体ではなく、転写の活性化や抑制に伴いダイナミックに変化するが、ヌクレオソームのダイナミズムとその機構については、まだほとんどわかっていない。

一方、ヒストンは DNA と非特異的に結合するにもかかわらず、ゲノム上でヌクレオソームはランダムには形成されていない。プロモーターなどの領域では、正確な位置にヌクレオソームが形成されて (ヌクレオソームが

ジショニング)、遺伝子の発現制御に関与することが報告されている。クロマチンの機能を解明するためには、転写制御因子を含む転写活性または抑制クロマチンドメイン、遺伝子発現と密接に相関する修飾ヒストンやヒストンバリエーションを含んだクロマチン複合体などの構造が解明されなければならない。しかしながら、*in vitro* 再構成ヌクレオソームの実験系では、これらの問題にアプローチすることは難しく、クロマチンの構造と機能の研究には、*in vitro* と *in vivo* との間で大きなギャップが存在する。遺伝子の発現を制御する、機能的なクロマチンドメインの形成メカニズムと動態を解明することは、真核生物の遺伝子発現制御機構を理解するために必須の問題である。

2. 研究の目的

遺伝子の発現と制御におけるクロマチンの機能を解明するために、転写制御因子を含む転写活性または抑制クロマチンドメインの分子構築と動態を明らかにすることを目的として、次の2つを具体的な目標とする。

(1) 機能的クロマチンドメインを保持した出芽酵母ミニ染色体の構造-機能解析および *in vitro* アッセイ系の構築

(2) 出芽酵母ゲノム遺伝子座における転写制御クロマチンドメインの分子構築と動態の *in vivo* での解明

上の二つの研究を展開することによって、*in vitro* と *in vivo* とを繋ぐクロマチン研究を確立することを目指す。

3. 研究の方法

(1) 出芽酵母の菌株とプラスミド

HHF1 (酵母ヒストン H4 の遺伝子) 遺伝子とその 5' 上流領域を、酵母ゲノムを鋳型として PCR で増幅した。ゲノムから発現させるために、酵母の integration vector を用いて、*HHF1* の ORF (open reading frame) と 5' 上流領域との間に His₆ をコードする DNA 断片を導入したプラスミドを構築した。そのプラスミドを用いて、二段階遺伝子置換法により、出芽酵母ゲノムの *HHF1* 遺伝子座に導入して、His₆-H4 を発現する株を作製した。

酵母の integration vector を用いて、*HHT1* または *HHT2* (酵母ヒストン H3 の遺伝子座) の 5'-UTR と 3'-UTR との間に、N 末端に His₆G タグを付けたヒト由来 H3 バリエーションの遺伝子をクローニングした。構築したプラスミドを用いて、二段階遺伝子置換法によって、出芽酵母ゲノムの *HHT1* または *HHT2* の遺伝子座にヒトの His₆-H3 バリエーション遺伝子を挿入した菌株を作製した。

PHO5 におけるヌクレオソームの機能を解明するために、二段階遺伝子置換法を用いて、*PHO5* 遺伝子座のプロモーター領域の-133 (site 1)、-218 (site 2)、-334 (site 3) に、A₃₄、(CG)_n、(CTG)_n を挿入した菌株を構築した。

CYC1 の UAS 領域を欠失したプロモーターと *lacZ* 遺伝子を融合したプラスミド (Δ UAS-*CYC1-lacZ*) を用いて、そのプロモーター領域の TATA box 上流にさまざまな inserts を挿入したプラスミドを構築した。

(2) *PHO5* 遺伝子発現の解析

PHO5 の mRNA は、常法に従って調製し、ノーザンブロット分析により解析した。また、*PHO5* の遺伝子産物である抑制性酸性ホスファターゼ (rAPase) の活性は、*p*-nitrophenyl phosphate を基質として、常法に従って定量した。

(3) クロマチン構造の解析

酵母細胞から核を単離し、micrococcal nuclease (MNase) によりクロマチンを限定消化した。³²P または IR-Dye800 で標識したプライマーを用いる多サイクル伸長法によって、MNase による切断部位を解析した。一方では、間接末端標識、ヌクレオソームリピートアッセイによってクロマチン構造を解析した。

プロモーター領域における制限酵素のアクセスビリティを解析するために、細胞核を制限酵素により消化し、サザンブロットを行った。*PHO5* 遺伝子上流断片をプローブとして、制限酵素による切断を検出した。

(4) *in vivo* UV フットプリント

254 nm の UV を出芽酵母細胞に照射した後、それらからゲノム DNA を調製した。IR-Dye800 で標識したプライマーを用いる多サイクル伸長法によって、UV-photoproducts の位置を解析した。

4. 研究成果

(1) 機能的クロマチンドメインを保持した出芽酵母ミニクロモソームの構造-機能解析および *in vitro* アッセイ系の構築

本研究では、出芽酵母の細胞からミニ染色体を単離・精製する系を確立することを目的とした。

His₆ タグを付けたヒトのヒストン H3 バリエーション (H3.1、H3.2、H3.3) または酵母 H4 を発現する出芽酵母の菌株を作製した。これらの一倍体と二倍体細胞から核を調製し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動、ウエ

スタンブロットの後、His₆抗体を用いて解析した。その結果、いずれの His₆ タグ付 H3 バリエーションならびに H4 が、酵母細胞において発現していることが示された。

次に、構築した菌株に、酵母ミニ染色体 TALS を形質転換により導入した。それらの菌株から spheroplast lysate を調製し、Sephacryl S-300 クロマトグラフィーによって、ミニ染色体が含まれる画分を得た。その画分を Ni-Sepharose に吸着させて、5mM imidazole buffer で溶出した後、500mM imidazole buffer で溶出した。His₆ タグ付 H3 バリエーションの発現株から調製した TALS ミニ染色体は、いずれも Ni-Sepharose に特異的に結合した。一方、野生株 (WT) から調製した TALS では、Ni-Sepharose への特異的結合は見られなかった。したがって、ヒトの H3.1、H3.2、H3.3 は、酵母細胞内で TALS ミニ染色体のヌクレオソームに取り込まれていることが示された。精製したミニ染色体を試料として、原子間力顕微鏡による解析を行っている。

(2) 出芽酵母ゲノム遺伝子座における転写制御クロマチンドメインの分子構築と動態の *in vivo* での解明

① 誘導性遺伝子 *PHO5* の転写制御におけるヌクレオソームの機能

PHO5 遺伝子は、高リン酸塩濃度条件下 (High-Pi、転写抑制条件) では、プロモーター上にヌクレオソームがポジショニングし、低リン酸塩濃度条件下 (Low-Pi、転写活性化条件) ではヌクレオソームが喪失することが知られている。*PHO5* の転写制御におけるヌクレオソームの機能を明らかにする目的で、ヌクレオソーム形成を阻害または排除する DNA 配列を用いて、転写制御とクロマチンの構造変化との関係を解析した。

ゲノム *PHO5* 遺伝子座の-133 (TATA box 上流、site 1)、-218 (Pho4 結合部位 UAS2 下流、site 2) または-334 (Pho4 結合部位 UAS1 下流、site 3) に、ヌクレオソーム破壊配列である A₃₄、A₃₄GGTACCA₃₄ (以下 2×A₃₄)、(CG)₇、またはヌクレオソーム形成促進である (CTG)₁₂ を挿入した菌株を構築した。これらの菌株において *PHO5* の遺伝子産物である抑制性酸性ホスファターゼ (rAPase) の活性を調べたところ、A₃₄、2×A₃₄ または (CG)₇ を site 2 に挿入すると、High-Pi で *PHO5* の発現が 6 から 11 倍に活性化された。一方では、(CTG)₁₂、2×(CTG)₁₂ を site 2 または site 3 に挿入すると、Low-Pi において *PHO5* の発現が抑制された。

このような遺伝子発現の変化が転写レベルでの制御によるものであるかどうかを明らかにするために、酵母細胞から全 RNA を調製して、ノーザンブロット分析により *PHO5* の mRNA を定量した。転写抑制条件で

ある High-Pi において、site 2 に A₃₄、2×A₃₄ または (CG)₇ を挿入した菌株では、*PHO5* の mRNA が検出されて、その量は 3–9 倍に増加することがわかった。一方、転写活性化条件である Low-Pi において、(CTG)₁₂ または 2×(CTG)₁₂ を挿入した菌株では、*PHO5* の mRNA が著しく減少しており、特に、site 3 に挿入した菌株では mRNA は検出されず、転写活性化条件であるにもかかわらず、強く抑制されていることがわかった。この結果は rAPase の測定結果とよく一致しており、ヌクレオソーム形成または促進配列の挿入によって、*PHO5* の発現が転写レベルで変化していることが明らかになった。

次に、挿入配列による *PHO5* の転写の活性化または抑制が、プロモーター領域のクロマチン構造の変化によるものであるかどうかを明らかにするために、制限酵素のアクセシビリティアッセイによって解析した。ヌクレオソームの中に位置する制限酵素認識部位は、制限酵素による切断を受けにくくなることが知られている。挿入配列によって mRNA 量が大きく変化した、site 2 に (CG)₇ を挿入した菌株について、*PHO5* プロモーター領域の-273 に位置する *Clal* 部位のアクセシビリティについて検討した。予想されたように、コントロールの *KpnI* 株 (no insert) における *Clal* による切断は、High-Pi で 18%、Low-Pi で 50% であり、転写抑制と活性化状態との間で、ヌクレオソームの形成が異なることがわかる。一方、(CG)₇ を挿入した株では、High-Pi において *Clal* による切断は 58% と高くなり、Low-Pi では 90% が切断された。したがって、(CG)₇ の挿入は、プロモーター領域からヌクレオソームを排除することが示された。

以上の結果は、プロモーター領域におけるヌクレオソームの形成と排除が、*PHO5* の転写制御において本質的な役割を担っていることを示している。

② 減数分裂初期遺伝子の転写抑制におけるクロマチンドメインの解析

出芽酵母の減数分裂初期遺伝子群 (*IME2*、*HOP1* など) において、Ume6 は標的遺伝子のプロモーター領域にある URS1 に結合して Rpd3 ヒストン脱アセチル化酵素複合体と Isw2 クロマチンリモデリング複合体をリクルートすることによって転写を抑制する。これまでに我々は、*HOP1* の転写抑制には、Ume6 複合体による TBP (TATA-box binding protein) の結合阻害が重要な機構であることを報告した (M. Shimizu et al., *Nucleic Acids Res.* 2003)。本研究では、*HOP1* プロモーターと *lacZ* とを融合した *HOP1-lacZ* プラスミドを用いた。このプラスミドを、*ume6Δ*、ヒストン脱アセチル化酵素 *rpd3Δ*、クロマチンリモ

デリング因子 *isw2Δ*変異株に導入し、転写とクロマチンとの関係を解析した。

まず、転写が抑制されているとき、*HOP1* プロモーター上にヌクレオソームがポジショニングしていること、さらに、このポジショニングには *Isw2* が必須であることが示された。転写抑制におけるヌクレオソームポジショニングの役割を明らかにするために、*HOP1* プロモーターの *URS1* (*Ume6* の結合部位) と *TATA* ボックスとの間に、アクチベーター *Hap1* の結合部位である *UAS1* を導入したプラスミド (*HOP1-UAS1-lacZ*) を構築し、野生株 (WT) および一連の変異株における転写活性、ヌクレオソームの配置、*Hap1* の結合を解析した。WT と *rpm3Δ* 株では、*HOP1-UAS1-lacZ* の発現は抑制されているが、*isw2Δ* と *ume6Δ* 株では転写の脱抑制が見られた。このとき、WT と *rpm3Δ* 株ではヌクレオソームはポジショニングしているが、*isw2Δ* と *ume6Δ* 株ではポジショニングは喪失した。さらに、WT 株ではアクチベーター *Hap1* はほとんど結合できないが、*isw2Δ* 株では *Hap1* の結合が検出された。

以上の結果から、*Isw2* によるヌクレオソームポジショニングはプロモーター領域のアクセシビリティを制限して、*HOP1* の転写抑制に重要な役割を果たしている、と結論される。この結果は、ヌクレオソームポジショニングと転写に関する我々の最近の結果 (Morohashi et al., *Eukaryotic Cell* 2006) とよく一致する。

次に、TBP の人為的リクルートによる転写の解除とヌクレオソームポジショニングとの関係について解析した。*Hap1* の DNA 結合ドメイン (*Zinc-cluster*, *ZC* と略) と TBP とを融合した *ZC-TBP* を発現する株に、*HOP1* プロモーターの *TATA box* 上流に *ZC* の結合部位である *UAS1* を有する *HOP1-UAS1-lacZ* プラスミドを導入した。ヌクレオソームの位置と *ZC-TBP* の結合との関係を、*isw2Δ*、*rpm3Δ*、*ume6Δ* 欠損株を用いて解析した。TBP を人為的にリクルートすると (*ZC-TBP* 株)、ヌクレオソームのポジショニングが不安定化し、*ZC-TBP* の結合が *in vivo* UV フットプリントによって検出された。*isw2Δ* または *ume6Δ* 欠損株において *ZC-TBP* を発現させると、転写抑制は完全に解除された。このとき、ヌクレオソームポジショニングは消失して、*ZC-TBP* の結合が増大した。一方、上で述べたように、*Hap1* を発現している株では *UAS1* への *Hap1* の結合は検出されず、転写は抑制されたままであったが、*isw2Δ* 欠損株では *Hap1* の結合が検出され、転写抑制が解除された。

以上の結果は、*ZC* 単独ではヌクレオソーム内にある *UAS1* に結合できないが、*ZC-TBP* は *UAS1* と *TATA box* に結合してヌクレオソームを不安定化すると考えられる。

③ *in vivo* におけるプロモーター領域でのヌクレオソーム配置の改変による転写の活性化

in vivo におけるヌクレオソームの形成または排除と転写との関係を系統的に調べるために、レポータープラスミドとして Δ *UAS-CYCI-lacZ* を使用した。このレポータープラスミドは、*UAS* (上流活性化配列、アクチベーターの結合部位) を欠失しているため、酵母細胞内では、通常、低レベルの基本転写しか起こらないが、ヌクレオソームの喪失によって転写の活性化が起こることが報告されている。このプロモーターの -178 の位置に、ヌクレオソーム形成を阻害する (*CGG*)₁₂、*A*₃₄、(*CG*)_{7,8}、ヌクレオソーム形成を促進する (*CTG*)₁₂、およびヌクレオソーム形成に影響を与えない (*GAA*)₁₂ を挿入した。これらのプラスミドを出芽酵母に形質転換し、レポーター遺伝子の発現を解析した。*insert* を挿入していないベクターからの発現と同じように、(*GAA*)₁₂、(*CTG*)₁₂ を挿入したレポーター遺伝子の発現は極めて低かった。一方、ヌクレオソーム形成を阻害する配列である (*CGG*)₁₂、*A*₃₄、(*CG*)_{7,8} を挿入すると、その発現は約 15-39 倍に増大した。また、スーパーコイルを擬態した人工ベント DNA 配列も、レポーター遺伝子の発現を 51 倍から 63 倍に増大することがわかった。

さらに、これらのプラスミドにおけるプロモーター近傍のクロマチン構造を解析した結果、上で述べた転写の活性化は、挿入配列の DNA の構造的性質によってプロモーター上のヌクレオソームの配置が改変されたために、転写活性が増大したと結論づけられた。

(3) 総括と今後の展望

本研究の結果を以下にまとめる。

① ヒト由来のヒストン H3 バリエーションを出芽酵母で発現する株を作製し、クロマチンと遺伝子発現における機能を解析するための実験系を構築した。

② His₆ タグ付ヒストンを取り込んだミニ染色体を *Ni-Sepharose* で容易に精製できることを示した。

③ *in vivo* での *PHO5* や *HOP1* の転写制御に、プロモーター領域近傍のヌクレオソームの配置の変化が重要な役割を持つことを示した。

④ ヒストン脱アセチル化酵素 *Rpd3* はヌクレオソームポジショニングには関与しないが、転写抑制には必要であることが明らかになった。

⑤ *Ume6* による転写抑制において、クロマチンリモデリング複合体 *Isw2* が、ヌクレオソームポジショニングと転写抑制に必要であることが示された。

⑥ レポータープラスミドを用いて、DNA 構造

によるクロマチンの改変が転写を活性化することを明確に示した。

クロマチンを介した転写制御については、国内外で活発に研究されており、本研究の成果は、真核生物の遺伝子発現制御におけるクロマチンの機能を理解するうえで重要な知見を提供している。

今後、本研究で構築した系をさまざまな遺伝子を含むミニ染色体の精製に適用可能である。転写制御因子、ヒストン修飾酵素やクロマチンリモデリング因子を含めて、クロマチンの機能制御の分子メカニズムの解明において、*in vivo* と *in vitro* を繋ぐ実験系として利用されることが期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- (1) Rintaro Suzuki, Heisaburo Shindo, Akira Tase, Yoshiko Kikuchi, Mitsuhiro Shimizu, Toshimasa Yamazaki. Solution Structures and DNA Binding Properties of the N-terminal SAP Domains of SUMO E3 Ligases from *Saccharomyces cerevisiae* and *Oryza sativa*. **PROTEINS**, **75**, 336-347 (2009) 査読有.
- (2) Nobuyuki Morohashi, Kumiko Nakajima, Shunsuke Kuwana, Hiroaki Tachiwana, Hitoshi Kurumizaka and Mitsuhiro Shimizu. *In vivo* and *in vitro* footprinting of nucleosomes and transcriptional activators using an infrared-fluorescence DNA Sequencer. **Biol. Pharm. Bull.**, **31**, 187-192 (2008) 査読有.
- (3) Masafumi Nishizawa, Tae Komai, Nobuyuki Morohashi, Mitsuhiro Shimizu, and Akio Toh-e. Transcriptional repression by the Pho4 transcription factor controls the timing of *SNZ1* expression. **Eukaryotic Cell**, **7**, 949-957 (2008) 査読有.
- (4) Kensuke Miki, Mitsuhiro Shimizu, Fujii, M., Hossain, M.N., and Dai Ayusawa. 5-Bromouracil disrupts nucleosome positioning by inducing A-form-like DNA conformation in yeast cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **368**, 662-669 (2008) 査読有.
- (5) Nobuyuki Morohashi, Kumiko Nakajima, Daichi Kurihara, Yukio Mukai, Aaron P. Mitchell and Mitsuhiro Shimizu. A nucleosome positioned by $\alpha 2/Mcm1$ prevents Hap1 activator binding *in vivo*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **364**, 583-588 (2007) 査読有.

[学会発表] (計 15 件)

国際学会発表

- (1) Nobuyuki Morohashi, Satoru Mori, Kohei Kanba, Aaron P. Mitchell and Mitsuhiro Shimizu. Nucleosome placement governs *PHO5* expression in the yeast genome. 8th EMBL Transcription Meeting, August 23-27, 2008, Heidelberg, Germany,
- (2) Nobuyuki Morohashi, Satoru Mori, Kohei Kanba, Aaron P. Mitchell and Mitsuhiro Shimizu. Functional analysis of nucleosomes in *PHO5* regulation in the yeast genome. 2008 Yeast Genetics and Molecular Biology Meeting, July 22-27, 2008, Toronto, Canada
- (3) Nobuyuki Morohashi, Kumiko Nakajima, Aaron, P. Mitchell, and Mitsuhiro Shimizu. $\alpha 2/Mcm1$ -dependent positioned nucleosomes prevent activator from binding *in vivo*. Cold Spring Harbor Meeting on Mechanisms of Eukaryotic Transcription, August 29-September 2, 2007, Cold Spring Harbor, New York, USA

国内学会発表

- シンポジウム、ワークショップ等の依頼講演
- (4) 清水光弘、諸橋伸行、伊藤沙弥香、神庭昂平、早川新一、藤田仁 酵母ゲノムにおけるヌクレオソームの構造-機能解析 第 8 回日本蛋白質科学界年会ワークショップ「構造から理解する DNA タンパク質の機能」、2008 年 6 月 10 日-12 日、東京
 - (5) 清水光弘、諸橋伸行、森智、神庭昂平、大山隆 酵母ゲノムにおけるクロマチン工学、第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 ワークショップ「クロマチン工学の開拓」(オーガナイザー 大山隆、清水光弘)、2007 年 12 月 11 日-15 日、横浜
 - (6) 大山隆、棚瀬潤一、伊藤美月、三谷匡、清水光弘 クロマチン工学のストラテジー、第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 ワークショップ「クロマチン工学の開拓」(オーガナイザー 大山隆、清水光弘)、2007 年 12 月 11 日-15 日、横浜
- 一般発表
- (7) 伊藤沙弥香、諸橋伸行、栗原大地、Aaron P. Mitchell、清水光弘 出芽酵母 *HOP1* 遺伝子の転写抑制におけるヌクレオソームポジショニングの役割 日本薬学会第 129 年会、2009 年 3 月 26 日-28 日、京都

- (8) 藤田 仁、諸橋伸行、棚瀬潤一、大山隆、清水光弘 DNA 構造によるクロマチンの
改変と人為的遺伝子発現制御 第 31 回日
本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会
大会 合同大会、2008 年 12 月 9 日-12 日、
神戸
- (9) 早川新一、諸橋伸行、立和名博昭、胡桃
坂仁志、清水光弘 出芽酵母におけるヒト
由来ヒストン H3 バリエーションの発現 第 31
回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学
会大会 合同大会、2008 年 12 月 9 日-12
日、神戸
- (10) 神庭昂平、森 智、諸橋伸行、清水光弘
出芽酵母 *PHO5* の転写制御におけるヌクレ
オソーム配置の役割 第 31 回日本分子生
物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合
同大会、2008 年 12 月 9 日-12 日、神戸
- (11) 伊藤沙弥香、諸橋伸行、栗原大地、Aaron
P. Mitchell、清水光弘 Ume6 による転写抑
制におけるヌクレオソームポジショニング
の役割 第 31 回日本分子生物学会年会・
第 81 回日本生化学会大会 合同大会、2008
年 12 月 9 日-12 日、神戸
- (12) 伊藤美月、棚瀬潤一、山内恵里、清水光
弘、大山隆 遺伝子発現に有利なクロマチ
ン構造の人為的構築 第 31 回日本分子生
物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合
同大会、2008 年 12 月 9 日-12 日、神戸
- (13) 諸橋伸行、中島久美子、Aaron P. Mitchell、
清水光弘 *In vivo* において $\alpha 2$ -Mcm1 依存的
ヌクレオソームポジショニングはアクチベ
ーターの結合を阻害する 第 30 回日本分
子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会
合同大会、2007 年 12 月 11 日-15 日、横浜
- (14) 伊藤沙弥香、栗原大地、諸橋伸行、清水
光弘 出芽酵母減数分裂初期遺伝子 *HOP1*
におけるクロマチンを介した転写抑制機構
の解析 第 30 回日本分子生物学会年会・第
80 回日本生化学会大会 合同大会、2007 年
12 月 11 日-15 日、横浜
- (15) 神庭昂平、森智、諸橋伸行、清水光弘
クロマチン工学による出芽酵母ゲノム
PHO5 遺伝子の人為的発現制御、第 30 回日
本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会
大会 合同大会、2007 年 12 月 11 日-15 日、
横浜
- [図書] (計 1 件)
- (1) 大山隆監修、西川一八、清水光弘共編、ベ
ーシックマスター生化学、オーム社 (2008).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水 光弘 (SHIMIZU MITSUHIRO)
明星大学・理工学部・教授
研究者番号：80231364

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

Aaron P. Mitchell

米国コロンビア大学・教授 (現、米国カー
ネギーメロン大学・教授)

胡桃坂 仁志 (KURUMIZAKA HITOSHI)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：80300870

諸橋 伸行 (MOROHASHI NOBUYUKI)

明星大学大学院・理工学研究科・博士後期
課程

伊藤 沙弥香 (ITO SAYAKA)

明星大学大学院・理工学研究科・博士前期
課程

神庭 昂平 (KANBA KOHEI)

明星大学大学院・理工学研究科・博士前期
課程

早川 新一 (HAYAKAWA SHIN-ICHI)

明星大学大学院・理工学研究科・博士前期
課程

藤田 仁 (FUJITA MASASHI)

明星大学大学院・理工学研究科・博士前期
課程