

田上研究室（クロマチン制御、エピジェネティクス）

本研究室では、分裂酵母や培養細胞を用いてクロマチン制御の分子機構について研究している。真核生物のゲノムDNAは、ヒストンH2A, H2B, H3, H4各2分子にDNAが巻き付いたヌクレオソームを基本単位とするクロマチン構造内に収納される。DNAメチル化およびヒストン化学修飾を介した高次クロマチン構造は、機能的に異なるエピゲノム情報基盤として重要である。高次クロマチン構造は、ヒストン分子の交換などダイナミックに変化しながら様々な細胞機能と関連して厳密に制御されているため、ヒストンと結合する制御因子に焦点を当てて研究を行っている(図1)。分裂酵母は、分子遺伝学的解析も容易であり、生化学や細胞生物学など多角的に機能的タンパク質複合体解析が進められる。本実習では、クロマチン制御因子について、酵母を用いた分子遺伝学解析とタンパク質複体の精製などの生化学解析を行う。1つ1つの精密な実験から得られる結果とその考察からどのようにして分子メカニズムに迫るのか、実際の研究に触れてほしい。

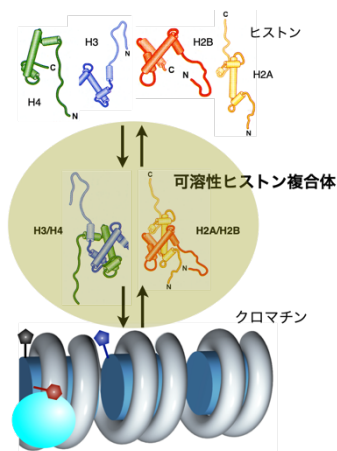


図1：可溶性ヒストン複合体解析

第1回 分裂酵母の形質転換

クロマチン制御因子の変異体を発現誘導プラスミドで分裂酵母に導入する。

第2回 分裂酵母の表現型解析: スポットアッセイ

各種変異体過剰発現時の分裂酵母の増殖を調べる（図2参照）。

第3回 リコンビナントタンパク質の精製: GSTプルダウン

各種変異体のGST融合タンパク質を大腸菌で発現させ、GST精製する。

第4回 リコンビナントタンパク質の精製: 電気泳動とクマシー染色

精製タンパク質をSDS-PAGE電気泳動し、クマシー染色する（図3参照）。

第5回 結果の整理と考察

実験結果を整理し、グループディスカッションする。

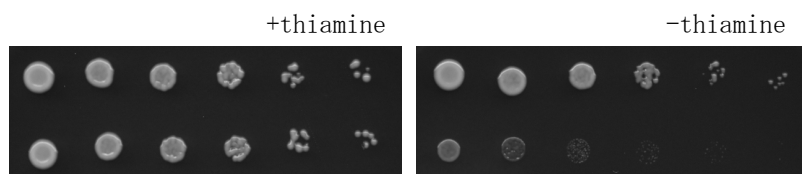


図2: スポットアッセイの例（1/5希釈）



図3: 精製タンパク質のクマシー染色