

論文要旨

氏名	平田 祐基
タイトル (日英併記)	Krüppel-like factor 5 (Klf5) regulates expression of mouse T1R1 amino acid receptor gene (<i>Tas1r1</i>) in C2C12 myoblast cells 筋芽細胞株 C2C12 における Klf5 によるアミノ酸 (うま味) 受容体 <i>Tas1r1</i> 遺伝子の転写調節に関する研究

論文の要旨 (日本語で記載)

T1R1 および T1R3 は、味蕾においてアミノ酸 (うま味) の受容体として機能している。マウス T1R1 および T1R3 は、4 番染色体上の *Tas1r1* 遺伝子および *Tas1r3* 遺伝子にコードされている。これらの受容体は、味蕾以外にも消化器系および筋組織などの多様な臓器において発現しており、アミノ酸センサーとして機能していると考えられている。このように生体内の各種臓器において T1R1 の発現が認められているが、*Tas1r1* 遺伝子の転写調節機構に関してはほとんど明らかになっていない。そこで本研究ではマウス筋芽細胞株 C2C12 を用いて *Tas1r1* 遺伝子の転写調節領域の解析を行い、*Tas1r1* 遺伝子の転写調節機構を解明することを目的とした。

Tas1r1 遺伝子上流領域を対象としたルシフェラーゼアッセイにより、プロモーター領域および転写活性化領域の検索を行った。次に転写活性化領域中に含まれていた GT ボックスの機能を配列に変異を導入することにより調べた。GT ボックスに結合する Sp/KLF ファミリーの転写因子の検索を、RNAi 法および過剰発現実験により行った。さらに Klf5 の機能解析を ChIP-seq 法および *Klf5* 遺伝子ノックアウトクローンの解析により行った。

ルシフェラーゼアッセイにより、開始コドンの上流 148bp の領域が *Tas1r1* 遺伝子のプロモーター領域であること、およびその一部の領域が転写活性化領域であることが認められた。本転写活性化領域中の GT ボックスの配列は、ヒト、イヌ、ブタおよびマウスで保存されていた。さらに GT ボックスへの変異導入により、プロモーター活性の低下が認められた。GT ボックスに結合する転写因子の検索において、RNAi 法による *Sp4* および *Klf5* 遺伝子の発現抑制の結果、*Tas1r1* 遺伝子の有意な転写量の減少が認められた。次に Klf5 の過剰発現により、*Tas1r1* 遺伝子の転写量の有意な増加が認められた。GT ボックスへの Klf5 の結合を ChIP-seq 法により解析した結果、C2C12 細胞の筋芽細胞から筋管細胞への分化過程での *Tas1r1* の転写量の増加に伴い、Klf5 の結合の増加も認められた。さらに *Klf5* 遺伝子ノックアウトクローンの解析により、*Klf5* 遺伝子欠損による *Tas1r1* 遺伝子の有意な転写量の減少が認められた。

これらの結果より C2C12 細胞においてマウス *Tas1r1* 遺伝子のプロモーター領域中の GT ボックスに Klf5 が結合し、転写を正に調節することが明らかになった。