

論 文 内 容 要 旨

題 目 歯原性上皮細胞におけるSp6タンパク質による*Rock1*遺伝子プロモーター活性の制御

著 者 RYNA DWI YANUARYSKA

内容要旨

Sp6はSP/KLFファミリーに属する転写因子で、歯の発生過程でエナメル芽細胞の分化における形態形成に必須の制御因子である。しかしながら、その分子機構については不明のままである。以前に、Sp6の標的遺伝子として、細胞極性にかかわる*Rock1*遺伝子が同定されていたものの、詳細な分子機構が不明であったので、わたくしは、*Rock1*遺伝子に着目して、Sp6による*Rock1*遺伝子の転写制御機構を明らかにする研究を行った。

まず最初に、*Rock1*遺伝子の転写開始点を決定し、*Rock1*遺伝子プロモーター領域を単離した。歯原性上皮細胞であるG5細胞を用いて、*Rock1*遺伝子プロモーター活性をルシフェラーゼレポーターアッセイによって検討したところ、転写開始点より上流249bpの領域にそのプロモーター活性に必須の領域があることを見出した。次いで、クロマチン免疫沈降法によって、Sp6は転写開始点より上流249bpのプロモーター領域に直接結合することを確認した。さらに、G5細胞にSp6遺伝子の一過性導入をおこなったところ、Sp6によって*Rock1*遺伝子プロモーター活性が増強することも見出した。ただし、同じSpファミリーのSp1ではその増強効果は検出できなかった。そこで、Sp6による*Rock1*遺伝子プロモーター活性増強が特異的に起こっていることを確認するために、Spファミリーの結合部位であるGC選択的に結合するミスラマイシンの添加で、Sp6による*Rock1*遺伝子プロモーター活性増強に阻害がかかるかどうか評価したところ、Sp1では阻害されないものの、Sp6では、*Rock1*遺伝子のプロモーター活性増強に阻害がかかることを見出した。さらにまた、転写開始点より上流206bpから150bpの領域に含まれるSp6結合候補部位に変異(GGGtttCCGとCGCCCG)を導入したところ、Sp6による*Rock1*遺伝子プロモーター活性増強効果は消失した。

以上の解析結果から、わたくしは、転写因子Sp6が、転写因子Sp1とは異なり、*Rock1*遺伝子プロモーター領域(-206~-150)に直接結合し、プロモーター活性を正に調節することを明らかにした。

なお、本研究結果は、以下の学術雑誌に掲載予定である。

**Yanuaryska RD**, Miyoshi K, Adiningrat A, Horiguchi T, Tanimura A, Hagita H, Noma T.

Sp6 regulation of *Rock1* promoter activity in dental epithelial cells.

*J Med Invest*.60 (3,4) 2014. In press.