

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 帯金 惟

学位論文題目 Myogenic differentiation 1 and transcription factor 12
activate the gene expression of mouse taste receptor type 1 member 1

審査委員 (主査) 小 野 堅太郎



(副査) 竹 内 弘



(副査) 有 吉 渉



学位審査結果の要旨

Tas1r1/Tas1r3 の異種 2 量体受容体は L-アミノ酸と結合し、細胞外アミノ酸のセンサーである。マウス筋芽細胞株 C2C12 の筋管形成の分化過程において Tas1r1 の発現は著しく増加するが、Tas1r1 遺伝子の転写調節メカニズムは明らかになっていない。筋細胞の分化過程で、転写因子 Myod1 は骨格筋で発現し、転写制御に重要な役割を果たしている。そこで申請者の帯金氏らは本研究において、マウス C2C12 細胞での Tas1r1 遺伝子の転写調節機構における Myod1 の機能について検討した。

ENCODE データベース中のクロマチン免疫沈降シーケンス法 (ChIP-seq) のデータの解析により、C2C12 細胞の筋形成分化過程において Tas1r1 遺伝子プロモーター領域中の E-box (E-box1~3) 配列への Myod1 の結合が認められた。E-box1 の配列は、他の哺乳類の動物種において進化的に保存されていた。次に E-box1 への変異導入により、Myod1 の過剰発現による Tas1r1 遺伝子プロモーターの活性化が有意に低下することが、ルシフェラーゼアッセイにより示された。shRNA を介した Myod1 の発現の抑制は、C2C12 細胞の筋形成分化過程における Tas1r1 遺伝子の発現を減少させた。DNA アフィニティ沈殿法および免疫沈降法により、Myod1 が Tcf12 とヘテロダイマーを形成し、E-box1 に結合することが明らかになった。さらに E-box1 近傍の GT box 配列に転写因子 Krüppel-likefactor5 (Klf5) が結合し、Myod1 とともに Tas1r1 遺伝子の発現を活性化していた。これらの結果から、C2C12 細胞の筋形成分化過程において、Myod1 / Tcf12 のヘテロダイマーが Tas1r1 遺伝子プロモーター中の E-box1 に結合し、Klf5 と共同で Tas1r1 遺伝子の発現を活性化することが明らかになった。

本研究内容について申請者の帯金氏に対し、対照群の詳細や実験スケジュールなど個々の実験手法、結果の解釈および当該分野における意義と臨床応用への展望等について主査と 2 名の副査による試問を行い、概ね適切な回答を得た。本研究成果は、骨格筋分化に関する疾患の理解や予防に寄与することが期待される。以上のことから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。