

## 29【P1】Ⅲ-007

転写因子 Sp1 によるヒト  $\beta$ -1,4-ガラクトース転移酵素 V 遺伝子の発現制御

○佐藤 武史<sup>1</sup>, 古川 清<sup>1</sup>(<sup>1</sup>都老人研・増殖分化制御)

【目的】ヒト $\beta$ -1,4-ガラクトース転移酵素 ( $\beta$ -1,4-GalT) V は癌細胞の転移や腫瘍形成に関わる高分岐糖鎖を合成する酵素であり、その遺伝子発現は細胞の癌化に伴って増大する。我々は癌細胞において転写因子 Ets-1 の発現を調節することで、 $\beta$ -1,4-GalT V 遺伝子の発現を制御できることを見出した。その後、プロモーター領域に結合する転写因子の解析をした結果、Sp1 が結合することを見出した。本研究では、癌細胞におけるヒト $\beta$ -1,4-GalT V 遺伝子の発現が、Ets-1 以外にも Sp1 で制御されているかどうかを解析した。

【方法】特定したヒト $\beta$ -1,4-GalT V 遺伝子のプロモーター領域 (300 bp) を、ルシフェラーゼ遺伝子の上流に繋いで発現プラスミドを作製した。部位指定変異法により、ゲルシフトアッセイによって同定した Sp1 結合部位に 2 塩基の変異を導入した。これを種々のヒト癌細胞の中で、1 番高いプロモーター活性を示したニューロblastoma SH-SY5Y に導入して、プロモーター活性を測定した。

【結果・考察】Sp1 結合部位への変異が適切であるかどうかを、変異オリゴ DNA プロンプを用いたゲルシフトアッセイで解析した。その結果、2 塩基の変異を導入すると Sp1 は結合しなくなった。同様の変異を導入した発現プラスミドを用いてプロモーター活性を測定すると、活性はコントロールに比べて 90%以上抑制された。以上の知見から、ヒト $\beta$ -1,4-GalT V 遺伝子の発現は Ets-1 だけでなく、Sp1 でも制御されていることが判明した。現在、Ets-1 と Sp1 の両者がどのようなメカニズムで、ヒト $\beta$ -1,4-GalT V 遺伝子の発現を制御しているかを解析中である。