

## 28amC-010

骨格筋細胞の分化過程における遠位性転写制御領域によるクロマチンループ形成を介した *gls* 遺伝子の発現制御機構の解析

○湯浅 勝敏<sup>1</sup>, 武田 伸一<sup>2</sup>, 土方 貴雄<sup>1</sup>(<sup>1</sup>武蔵野大薬, <sup>2</sup>国立精神・神経医療セ)

クロマチンのループ構造形成は遺伝子間の配置を接近させる。この立体的な相互作用により遠位性転写制御領域は遠く離れた遺伝子の発現を制御できる。今回、我々はグルタミンナーゼ(*GLS*)遺伝子のプロモーター領域から約 120kb 離れた位置に新規の遠位性転写制御領域 (5.5URR と命名) が存在することを見出したので、その機能について解析を行った。5.5URR は多くの哺乳動物で遺伝的に保存された領域であり、機能的にはエンハンサーとして働くことをレポーター解析により確認した。次に、C2C12 筋芽細胞において 5.5URR と *GLS* プロモーターの関係を chromosome conformation capture (3C)解析を用いて調べた結果、5.5URR は *GLS* プロモーターと物理的に直接相互作用しクロマチンループを形成する事が確認された。興味深いことに、このループ構造は筋芽細胞では検出されたが、筋管細胞では検出されず、筋分化が進行すると消失することが分かった。一方で、筋分化過程での *gls* 遺伝子の転写量を定量的 PCR (qPCR)により測定したところ、*GLS* の発現は筋分化と共に減少した。しかし、*GLS* プロモーターを用いてレポーター解析を行ったところ、qPCR の結果とは異なり *GLS* プロモーター単独では転写活性はむしろ筋分化と共に増加した。そこで、3C 解析の結果を基に分化前に形成されるクロマチンループを考慮し 5.5URR を連結した *GLS* プロモーターのレポーター解析を行ったところ、分化前の 5.5URR+*GLS* プロモーターの活性は分化後の 5.5URR が外れた *GLS* プロモーター単独の活性よりも高い事が分かり、qPCR の結果と矛盾しなかった。以上の結果から、骨格筋細胞における *gls* 遺伝子の転写は、*GLS* プロモーターと 5.5URR との長距離間相互作用が筋分化に応じて変化することで制御されることを明らかにした。