

# 30S-pm01S

Menaquinone-4 生合成酵素 UBIAD1 の発現制御機構に関する研究

○廣田 佳久<sup>1,2</sup>, 中川 公恵<sup>1</sup>, 渡辺 雅人<sup>1</sup>, 舟橋 伸昭<sup>1</sup>, 岡野 登志夫<sup>1</sup>(<sup>1</sup>神戸薬大・衛生化学,<sup>2</sup>日本学術振興会特別研究員DC)

【目的】ビタミン K は血液凝固や骨形成に重要な役割を担い、側鎖構造の違いにより植物由来 phyloquinone や、腸内細菌由来 menaquinone 類 (MK-n) に分類される。我々はこれまでに、生体内でビタミン K 同族体から MK-4 へ変換する酵素が UbiA prenyltransferase domain containing 1 (UBIAD1) であることを明らかにした (*Nature* 2010)。しかし、UBIAD1 の発現制御機構については未だ明らかでない。そこで、UBIAD1 遺伝子の発現制御機構を解明することを目的に本研究を行った。

【方法】UBIAD1 遺伝子プロモーターを含むと予想される翻訳開始点から上流約 3.4 kbp の領域をクローニングした。これをルシフェラーゼレポータープラスミドに導入後、5' または 3' 末端を deletion したプラスミドを構築し、ヒト胎児腎由来 HEK293 細胞を用いて転写活性を測定することによりプロモーター領域を探索した。また、5' 末端より約 100 bp ずつ deletion したプラスミドを用いてエンハンサー領域を探索した。さらに、ビオチン標識したエンハンサー領域をプローブとし、アビジンビーズにコーティングして作製した DNA ビーズを用いて HEK293 細胞の核タンパク質から結合因子を精製した。精製後のタンパク質は SDS-PAGE で分離後、CBB 染色により検出した。検出したタンパク質について MALDI-TOF/MS によるプロテオーム解析よって、UBIAD1 遺伝子の発現制御因子の探索を行った。

【結果および考察】UBIAD1 遺伝子のプロモーター領域は-306/-266 に存在し、エンハンサー領域と予想した-490/-440 には Poly [ADP-ribose] polymerase 1 (PARP-1) が転写因子として結合することがわかった。本研究により、UBIAD1 の発現制御機構の一端が明らかとなった。現在、骨粗鬆症に対して MK-4 が臨床応用されているが、今後、UBIAD1 を標的とした新規治療薬の開発が期待される。