

令和 2 年 4 月 30 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11455

研究課題名(和文) 甘味・うま味受容体遺伝子の転写制御機構の解明

研究課題名(英文) Promoter analysis of sweet and umami taste receptor genes

研究代表者

豊野 孝 (Toyono, Takashi)

九州歯科大学・歯学部・准教授

研究者番号：10311929

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では筋芽細胞株C2C12を用いて、マウスTas1r1遺伝子の転写調節機構の解析を行った。レポーターアッセイにより、Tas1r1遺伝子プロモーター領域中のGTボックスの、転写活性化への関与が明らかになった。そこで、RNAi法、過剰発現法を用いて、GTボックスに結合するSp/KLFファミリーの解析を行ったところ、Klf5が転写を活性化していることが明らかになった。さらにENCODEのChIP-seqデータベースの検索により、Klf5のGT-boxへの結合も認められた。以上の結果より、Tas1r1遺伝子のGTボックスにKlf5が結合し、転写の活性化に関与していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者に多い感覚器障害の一つであり、味覚障害を予防、治療することは、高齢者におけるQOLの維持を考えると重要であると考えられる。味覚受容体発現の低下が認められる味覚障害患者においては、甘味、うま味受容体T1Rファミリーの転写を活性化させる転写因子が、機能不全に陥っている可能性が考えられる。本研究により、うま味受容体Tas1r1遺伝子の転写の活性化に、転写因子Klf5が関与していることが明らかになった。転写の活性化には、複数の転写因子が関わっていることから、本研究を端緒として、他の転写因子を含めた転写活性化機構が明らかになれば、その機能不全のメカニズムの解明にもつながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the function of Tas1r1 promoter in the mouse C2C12 myoblasts. Reporter assays showed that a 148-bp region upstream of the start codon of Tas1r1 had a promoter activity. Site-directed mutagenesis of GT-box in this promoter significantly reduced the promoter activation. RNAi-mediated depletion of Sp4 and Klf5 decreased Tas1r1 expression. The overexpression of Klf5, but not Sp4, significantly increased Tas1r1 expression. The ENCODE data of chromatin immunoprecipitation and sequencing (ChIP-seq) showed that Klf5 bound to the GT-box. Furthermore, the Klf5 knockout cell lines led to a considerable decrease in the levels of Tas1r1 expression. Taken together, these results showed that Klf5 binds to the GT-box in the Tas1r1 promoter and regulates Tas1r1 expression in C2C12 cells.

研究分野：口腔組織学

キーワード：転写 Tas1r1 Klf5 プロモーター うま味

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、味覚障害の患者数は急激に増加しており、多様な原因が推測されている。その原因の1つに味蕾での味覚受容体数の減少の可能性が推察される。受容体数の減少の原因として、その転写調節機構の不全が考えられる。甘味およびうま味はT1Rファミリー(T1R1, T1R2, T1R3)の受容体によって受容され[1]、これらの受容体は味蕾のみならず消化管および脳など多様な組織においても発現が認められており、生体において一種の化学センサーとして機能していると考えられている。味蕾においてT1R1およびT1R3はヘテロダイマー(T1R1/T1R3)を形成し、グルタミン酸を含むL-アミノ酸を受容するうま味(アミノ酸)受容体として機能している(図1)。T1R1/T1R3はマウス筋芽細胞C2C12においても発現しており、L-アミノ酸を感知しmTORC1を活性化することが明らかになっている[2]。

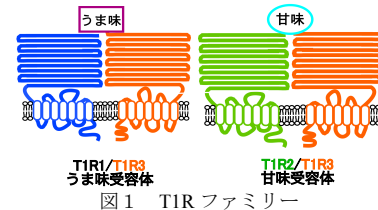


図1 T1Rファミリー

2. 研究の目的

マウスT1R1およびT1R3は、4番染色体上の*Tas1r1*遺伝子および*Tas1r3*遺伝子にコードされている。*Tas1r3*遺伝子の転写調節機構に関しては、これまでにヒトおよびマウスの遺伝子を対象として研究が行われてきた。胆管癌細胞株HuCC1においてC/EBPβがヒト*TAS1R3*遺伝子の発現を調節している[3]。さらに筋芽細胞株C2C12の筋管細胞への分化過程において、MyoDおよびMyogeninは*Tas1r3*遺伝子プロモーター活性を調節し、*Tas1r3*遺伝子の発現を増加させる[4]。このように*Tas1r3*遺伝子の転写調節機構の一部は解明されているが、*Tas1r1*遺伝子の転写調節機構に関してはほとんど明らかになっていない。そこで本研究では、筋芽細胞株C2C12を用いてルシフェラーゼアッセイ、RNAi法による発現抑制、発現プラスミドによる過剰発現、およびリアルタイムRT-PCR法により、マウス*Tas1r1*遺伝子プロモーター配列における転写活性化配列の同定および本配列に結合する転写因子の機能解析を行った。

3. 研究の方法

(1) 細胞培養および分化誘導培養

マウス筋芽細胞株C2C12(RCB0987)は理研バイオリソースセンターより提供された。10%ウシ胎仔血清を含むDMED培地(Wako)中にて、37°C、5%CO₂環境下で培養を行った。C2C12を細胞密度が90%になるまで培養を行い、さらに上記培地を2%ウマ血清(Sigma-Aldrich)含有DMEMに交換することにより筋管細胞への分化誘導を行った。誘導培地の交換は培養9日目まで毎日行った。

(2) 5'-RACE法による*Tas1r1*遺伝子の転写開始点の決定

C2C12細胞のtotal RNAからpoly(A)⁺-RNAを調製後、GeneRacer™ Kit with SuperScript™ III RTおよび遺伝子特異的プライマーを使用し250ngのpoly(A)⁺-RNAの逆転写を行い、転写開始点を含むDNA配列をPCRにて増幅した。得られたPCR産物はTOPO TA Cloning for Sequencing kit(Invitrogen)を用いてサブクローニングを行い、その塩基配列を決定した。

(3) レポータープラスミドの構築

マウス*Tas1r1*遺伝子を含むBACクローン(Advanced Genotechs, RP-23-37G1)からゲノムDNAの抽出を行った。そのDNAを鋳型として段階的に領域を短くしたマウス*Tas1r1*遺伝子の5'-隣接領域[-886bp~+54bp(開始コドン:+1)]をPCRにより増幅しKpnIで消化後、KpnIおよびEcoRVで消化したpGL4.10(Promega)を連結させた。以上の操作によりpGL-886/+54, pGL-803/+54, pGL-450/+54, pGL-94/+54およびpGL-37/+54を作成した。

部位特異的変異導入は、PrimeSTAR® Mutagenesis Basal Kit (TaKaRa)を使用して行った。変異導入はプラスミドpGL-94/+54をテンプレートとして用いて、pGLmEboxおよびpGLmGTを構築した。推定Eボックス(-63~-58)においては、配列中の一部の配列を欠失させた(CAACTGからTGへ)。推定GTボックス(-50~-41)においては配列中の一部の配列を別の配列に置換させた(GTCCACCCCからGTCCAAACCへ)。

(4) レポーターアッセイによる*Tas1r1*遺伝子プロモーター領域の転写活性の定量的解析

段階的に領域を短くしたマウス*Tas1r1*遺伝子の5'-隣接領域[-886bp~+54bp]を、pGL4.74(Promega)に連結したホタルルシフェラーゼレポータープラスミド、および内部標準RenillaルシフェラーゼレポータープラスミドpGL4.74(Promega)をC2C12細胞にLipofectamine 3000(Invitrogen)を用いてトランスフェクションを行った。24時間培養後にホタルおよびRenillaルシフェラーゼ活性をDual Luciferase Assay Kit(Promega)を用いて、ルミノメーターLuminescencer Octa(ATTO)により測定した。

(5) RNAi法によるSp/KLFファミリーメンバーの発現抑制

C2C12細胞にLipofectamine RNAi MAX(Invitrogen)を用いて、25nMの*Sp1*, *Sp3*, *Sp4*, *KLF2*, *KLF4*, *KLF5*特異的MISSION® siRNA(Sigma Genosys)およびMISSION siRNA Universal Negative Control(UNC)のトランスフェクションを行った。16時間培養後、通常培地に交換し、8時間培養

し再度 siRNA のトランスフェクションを同様な手法により行った。48 時間後に RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR 法による *Tas1r1* 遺伝子発現の定量的解析を行った。

(6) Sp4 および Klf5 の過剰発現

C2C12 細胞に Lipofectamine 3000 (Invitrogen) を用いて、Sp4 および Klf5 の発現プラスミド、および発現ベクター(pCMV-Sport6)のトランスフェクトを行った。24 時間後に RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR 法による *Tas1r1* 遺伝子発現の定量的解析を行った。

(7) リアルタイム RT-PCR 法による遺伝子発現の定量的解析

C2C12 細胞から GenElute mammalian total RNA mini-prep kit (Sigma-Aldrich) を用いて total RNA を抽出した。次に TURBO™ DNase (Ambion) を用いて染色体 DNA の分解を 37°C で 30 分間行い、NucleoSpin® RNA Clean-up XS(TAKARA)で精製を行った。Superscript® VILO™ cDNA synthesis kit (Invitrogen) を用いて 2µg の total RNA から一本鎖 cDNA 合成を行った。TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems) および Eco Real-Time PCR System (Illumina Inc.) を用いてリアルタイム RT-PCR 法による遺伝子発現の定量的解析を行った。定量結果は、内部標準遺伝子 peptidylprolyl isomerase A (Ppia) により標準化を行った。

(8) クロマチン免疫沈降シーケンス(ChIP-seq.) 法

C2C12 細胞の分化段階(0, 2, 5 日)における Klf5 の ChIP-seq.データは、NCBI Gene Expression Omnibus (accession no: GSM2137967, GSM2137968 GSM2137969) を使用した。これらのデータを UCSC Genome Browser (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks>) を用いて、mouse genome (mm9) にマッピングを行い、*Tas1r1* 遺伝子における Klf5 の結合シグナルの分布を調べた。

(9) Klf5 遺伝子ノックアウトクローンの作成

CRISPR-Cas9システム(pX459 ver2)を用いて、*Klf5*遺伝子ノックアウトクローン(KO1, KO2)を作成した。ウエスタンブロット法により、両クローンにおいてKlf5が著しく減少していることを確認した。次に、前述したリアルタイムRT-PCR法により両クローンの*Tas1r1*遺伝子発現の定量的解析を行った。

4. 研究成果

(1) マウス *Tas1r1* 遺伝子の転写開始点の決定

C2C12 細胞における *Tas1r1* 遺伝子の転写開始点を同定するために、5'-RACE 法による解析を行った。5'-RACE 法により得られた増幅断片に対して塩基配列の決定を行った。18 クローンを解析した結果、エクソン 1 の開始コドン上流 54bp, 80bp, 95bp および 116bp の 4 箇所 *Tas1r1* 遺伝子の転写開始点を同定した。それぞれの開始点を順番に Site1 から Site4 とし、Site4 の転写開始点+1 とした (図 2)。Site2 は、舌組織からの cDNA クローニングによって決定され以前に報告された TSS (SiteT; 図 2) の近傍に位置していた[5]。今回の結果では 7 クローンおよび 8 クローンの配列がそれぞれ Site2 と Site4 であり、これらが主要な転写開始点であった (図 2)。一方、3 クローンおよび 2 クローンの配列がそれぞれ Site1 と Site3 であった (図 2)。

イニシエーターは転写開始点周囲に位置し、下流のプロモーターエレメント (DPE) は転写開始点の下流 30bp に位置する。Site4 についてはエクソン 1 の開始コドンの 54bp 上流の-2~+34 の間にイニシエーターおよび DPE と相同性が高い配列が認められた。他の転写開始点 (Site1-3) ではイニシエーターおよび DPE は認められなかった。E ボックス CANNTG および GT ボックス CCACCC は、*Tas1r1* 遺伝子プロモーター活性の活性化に重要な-94-bp~-37bp の領域中に存在していた。

(2) C2C12 細胞における *Tas1r1* 遺伝子プロモーター領域および転写活性化領域のレポーターアッセイによる同定



図 2. C2C12 細胞におけるマウス *Tas1r1* 遺伝子の転写開始部位 (TSS) の同定

矢印は TSS (Site1-4) を示し、配列中の数字は Site 4 の転写開始点を+1 とした場合を示す。プロモーター配列中の推定転写因子結合配列を枠線で囲み示す[E ボックス, GT ボックス, イニシエーターおよび下流プロモーターエレメント (DPE)]。

Tas1r1 遺伝子上流領域の-803bp から+54bp を含むレポータープラスミド pGL-886/+54 を C2C12 細胞にトランスフェクションを行った。その結果、pGL4.10 をトランスフェクションした場合と比較して 18.2 倍のルシフェラーゼ活性を示した(図 3)。次に *Tas1r1* 遺伝子上流領域の-886bp から-803bp の欠失させたところ、ルシフェラーゼ活性の 77.7%の減少が認められた。-803bp から-94bp の欠失はプロモーター活性を変化させなかったが、さらに-94bp から-37bp に欠失させるとルシフェラーゼ活性が 87.2%減少した。これらの結果から、-886bp ~ -803bp および -94bp ~ -37bp の 2つの領域に *Tas1r1* 遺伝子プロモーターの転写活性に関与するシスエレメントが含まれることが明らかになった(図 3)。この *Tas1r1* 遺伝子上流領域の-94~-37bp の領域には E ボックスおよび GT ボックスと相同性が高い配列が認められた(図 2)。本領域中のシスエレメントの解析のために E ボックスおよび GT ボックスに変異を導入したレポータープラスミドを用いてルシフェラーゼアッセイを行った。ルシフェラーゼ活性は E ボックス(図 4, pGLmEbox) の欠失によってわずかに増加しただけであった。GT ボックスの変異によりルシフェラーゼ活性は 61.9%減少した(図 4, pGLmGT)。これらの結果より、GT ボックスが転写活性化に関わる結合配列であることが示唆された。

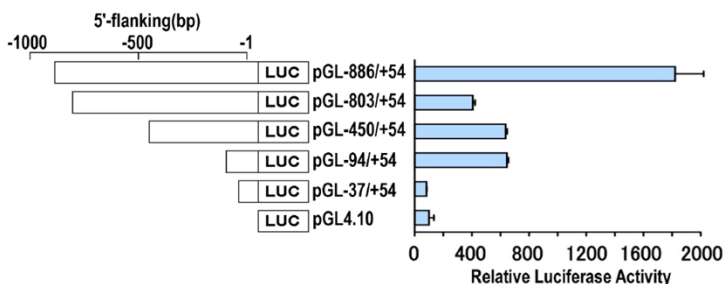


図 3. C2C12 細胞におけるマウス *Tas1r1* 遺伝子プロモーター領域のルシフェラーゼ活性の測定

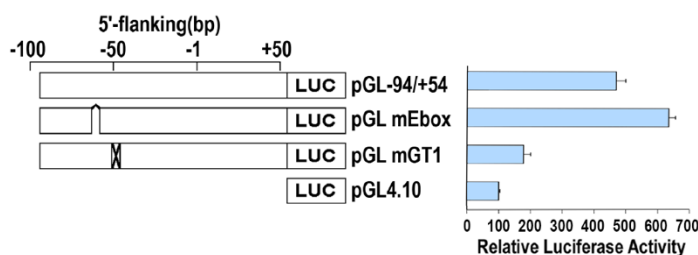


図 4. C2C12 細胞における GT ボックスまたは E ボックスへの変異導入によるマウス *Tas1r1* 遺伝子プロモーター活性のレポーターアッセイによる測定

(3) *Tas1r1* 遺伝子の転写活性化に関わる Sp/KLF ファミリーメンバーの検索

Sp/KLF ファミリーは GC ボックスまたは GT ボックスに結合することにより遺伝子発現を制御する[6]。そこで、Sp/KLF ファミリーのメンバー(Sp1, Sp3, Sp4, Klf2, Klf4 または Klf5) が *Tas1r1* 遺伝子の転写活性化に関与するか調べるために、C2C12 細胞にこれらの転写因子の発現を抑制する siRNA を導入し、*Tas1r1* 遺伝子の転写量の変化をリアルタイム RT-PCR 法により調べた。これらの siRNA のトランスフェクションにより全てのメンバーにおいてタンパク質レベルで有意に減少していることがウエスタンブロット法により認められた。Sp4 および Klf5 siRNA のトランスフェクションによって *Tas1r1* 遺伝子の転写活性は UNC (Universal Negative Control) と比較してそれぞれ 57.6%、47%の低下が認められた。次に Sp4 および Klf5 のどちらが転写の活性化に関わっているかを過剰発現法により調べた。その結果、Klf5 の発現により、発現ベクター pCMV-SPORT6 での *Tas1r1* 遺伝子の転写量と比較して 1.4 倍の増加が認められた。以上の結果により、Klf5 が *Tas1r1* 遺伝子の転写活性化に関わっていることが明らかになった。

(4) C2C12 細胞の筋管細胞分化過程における T1R ファミリー発現量の解析

C2C12 細胞は、通常の 10%ウシ胎児血清を含む培地から 2%ウマ血清を含む培地に交換することにより筋管細胞に分化誘導される。C2C12 細胞は培養 4~9 日にかけて細胞同士が融合しあいながら最終的に成熟した多核の筋管細胞に分化する。筋分化マーカーの 1 つである myogenin の発現は C2C12 の分化に伴って増加が認められた。0 日目から 3 日目までに myogenin は mRNA レベルで 76.5 倍に増加し、0 日目から 9 日目までに 125.4 倍増加した。本研究における C2C12 分化の形態的变化および myogenin の発現様式は他の論文における結果と一致していた[7]。*Tas1r1*、*Tas1r2* および *Tas1r3* 遺伝子は C2C12 の分化段階を通じて発現していることが認められた。*Tas1r1* および *Tas1r2* の発現は分化 0 日目から 9 日目にかけて増加が認められた(図 5)。*Tas1r1* の発現が 0 日目から 3 日目までに 23.1 倍に増加し、0 日目から 9 日目にかけて 63.0 倍に増加していた。*Tas1r2* の発現においては 0 日目から 9 日目にかけて 1.7 倍の増加が認められた。また、*Klf5* 遺伝子も C2C12 分化段階を通じて発現の増加が認めら

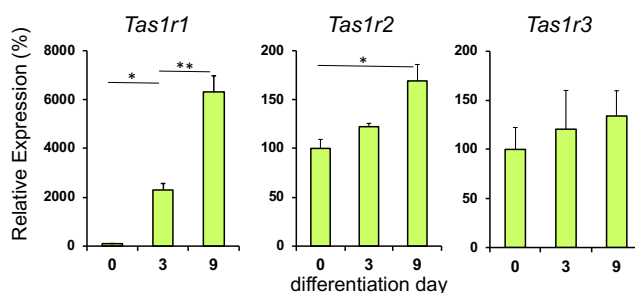


図 5. C2C12 細胞の筋管細胞へにおける T1R ファミリーの発現量の変化のリアルタイム RT-PCR 法による測定

れ、0日目から3日目までに1.5倍、0日目から9日目までに3.3倍の増加が認められた。*Tas1r1* タンパク質の発現は分化3日目および9日目にC2C12細胞で検出された。*Tas1r1* タンパク質の発現は0日目から3日目にかけて増加が認められた。*Tas1r1* タンパク質レベルの0日目から3日目にかけての増加は *Tas1r1* mRNA レベルの増加と一致していた。C2C12の分化過程における *Tas1r1* 遺伝子および *Tas1r3* 遺伝子の発現様式は、既報の論文結果と一致していた[2]。T1R1/T1R3はアミノ酸センサーとして機能し、多様な組織において mTORC1 およびオートファジーを調節する[8]。mTOR は筋分化を制御し骨格筋形成を調節する重要な因子でもある[9]。したがって *Tas1r1* 遺伝子の発現が増加することにより筋分化の各段階における mTORC1 を調節している可能性が推察された。

(5) ChIP-seq法

C2C12細胞の分化段階(0, 2, 6日)における *Klf5* の ChIP-seqデータの解析の結果、分化0日から2日にかけて *Tas1r1* 遺伝子の GT ボックス近辺への結合シグナルの増加が認められた。

(6) *Klf5* 遺伝子ノックアウトクローン KO1, KO2 の解析

リアルタイムRT-PCR法により、KO1、KO2における *Tas1r1* 遺伝子発現量の定量を行った。その結果KO1、KO2においては、野生株と比較しそれぞれ79%、52%の発現量の減少が認められた。さらに、これらのクローンにおいて、*Klf5*が *Tas1r1* 遺伝子発現量の減少に関与しているかを確認するために、*Klf5*の過剰発現下での *Tas1r1* 遺伝子の発現量の変化を調べた。その結果、KO1、KO2において *Klf5* 発現量の増加により、それぞれ2.6倍、2.5倍の *Tas1r1* 遺伝子の転写量の増加が認められた。この結果から、KO1、KO2における *Tas1r1* 遺伝子発現量の減少は、*Klf5*の減少によるものだと確認された。以上の *Klf5* 遺伝子のノックアウトクローンの解析結果から、*Klf5*は筋芽細胞株C2C12細胞において *Tas1r1* 遺伝子の転写の活性化に働いていることが明らかになった。

(7) 結論

本研究により、C2C12細胞において *Klf5* が *Tas1r1* 遺伝子のプロモーター領域中の GT ボックスに結合し、*Tas1r1* 遺伝子の転写活性化に機能していることが明らかになった。さらに *Tas1r1* 遺伝子の転写活性化に関与するその他の領域 (-886bp~-803bp) も同定した。しかしながら本領域にはどのような転写因子が結合しているのかは不明である。今後は *Tas1r1* 遺伝子の転写調節機構の全体像を解明していくために、この点に関しても研究を進めていく予定である。

<参考文献>

1. Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M. A., Feng, L., Zhao, G., Ryba, N. J. and Zuker, C. S.: An amino-acid taste receptor. *Nature* 416: 199-202, 2002.
2. Zhou, Y., Ren, J., Song, T., Peng, J. and Wei, H.: Methionine Regulates mTORC1 via the T1R1/T1R3-PLC β -Ca²⁺-ERK1/2 Signal Transduction Process in C2C12 Cells. *Int J Mol Sci* 17: 2016.
3. Toyono, T., Seta, Y., Kataoka, S. and Toyoshima, K.: CCAAT/Enhancer-binding protein β regulates expression of human T1R3 taste receptor gene in the bile duct carcinoma cell line, HuCCT1. *Biochim Biophys Acta* 1769: 641-648, 2007.
4. Kokabu, S., Lowery, J. W., Toyono, T., Seta, Y., Hitomi, S., Sato, T., Enoki, Y., Okubo, M., Fukushima, Y. and Yoda, T.: Muscle regulatory factors regulate T1R3 taste receptor expression. *Biochem Biophys Res Commun* 468: 568-573, 2015.
5. Hoon, M. A., Adler, E., Lindemeier, J., Battey, J. F., Ryba, N. J. and Zuker, C. S.: Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell* 96: 541-551, 1999.
6. Simmen, R. C. and Simmen, F. A.: Progesterone receptors and Sp/Krüppel-like family members in the uterine endometrium. *Front Biosci* 7: d1556-565, 2002.
7. Janot, M., Audfray, A., Lorient, C., Germot, A., Maftah, A. and Dupuy, F.: Glycogenome expression dynamics during mouse C2C12 myoblast differentiation suggests a sequential reorganization of membrane glycoconjugates. *BMC Genomics* 10: 483, 2009.
8. Wauson, E. M., Zaganjor, E., Lee, A. Y., Guerra, M. L., Ghosh, A. B., Bookout, A. L., Chambers, C. P., Jivan, A., McGlynn, K., Hutchison, M. R., Deberardinis, R. J. and Cobb, M. H.: The G protein-coupled taste receptor T1R1/T1R3 regulates mTORC1 and autophagy. *Mol Cell* 47: 851-862, 2012.
9. Ge, Y. and Chen, J.: Mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling network in skeletal myogenesis. *J Biol Chem* 287: 43928-43935, 2012.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hirata, Y. Toyono, T. Kokabu, S. Obikane, Y. Kataoka, S. Nakatomi, M. Masaki, C. Hosokawa, R. Seta, Y.	4. 巻 40
2. 論文標題 Kruppel-like factor 5 (Klf5) regulates expression of mouse T1R1 amino acid receptor gene (Tas1r1) in C2C12 myoblast cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomedical Research-Tokyo	6. 最初と最後の頁 67-78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.40.67	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takagi, H. Seta, Y. Kataoka, S. Nakatomi, M. Toyono, T. Kawamoto, T.	4. 巻 93
2. 論文標題 Mash1-expressing cells could differentiate to type III cells in adult mouse taste buds	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anatomical Science International	6. 最初と最後の頁 422-429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12565-018-0431-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka M., Okinaga T., Iwanaga K., Matsuo K., Toyono T., Sasaguri M., Ariyoshi W., Tominaga K., Enomoto Y., Matsumura Y., Nishihara, T.	4. 巻 9999B
2. 論文標題 Anticancer effect of novel platinum nanocomposite beads on oral squamous cell carcinoma cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Biomed Mater Res B Appl Biomater	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34320	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kokabu S, Lowery JW, Toyono T, Sato T, Yoda T.	4. 巻 59
2. 論文標題 On the Emerging Role of the Taste Receptor Type 1 (T1R) Family of Nutrient-Sensors in the Musculoskeletal System.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 E469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules22030469	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ono Kentaro, Viet Chi T., Ye Yi, Dang Dongmin, Hitomi Suzuro, Toyono Takashi, Inenaga Kiyotoshi, Dolan John C., Schmidt Brian L. Ono K, Viet CT, Ye Y, Dang D, Hitomi S, Toyono T, Inenaga K, Dolan JC, Schmidt BL	4. 巻 7
2. 論文標題 Cutaneous pigmentation modulates skin sensitivity via tyrosinase-dependent dopaminergic signalling	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-09682-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Matsuyama K, Seta Y, Kataoka S, Nakatomi M, Toyono T, Kawamoto T	4. 巻 59
2. 論文標題 Expression of N-cadherin and cell surface molecules in the taste buds of mouse circumvallate papillae.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 218-223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2017.09.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kibe K, Nakatomi M, Kataoka S, Toyono T, Seta Y.	4. 巻 27
2. 論文標題 Hey1 and Hey2 are differently expressed during mouse tooth development.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Gene Expression Patterns	6. 最初と最後の頁 99-105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gep.2017.11.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 S. Kokabu, J.W. Lowery, T. Toyono, T. Sato, T. Yoda,	4. 巻 22
2. 論文標題 On the Emerging Role of the Taste Receptor Type 1 (T1R) Family of Nutrient-Sensors in the Musculoskeletal System	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules22030469	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 豊野 孝, 片岡真司, 中富満城, 瀬田祐司
2. 発表標題 マウスアミノ酸受容体T1R1遺伝子における転写因子Tbx3の機能解析
3. 学会等名 第78回九州歯科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 豊野 孝, 片岡真司, 中富満城, 瀬田祐司
2. 発表標題 マウスT1R1遺伝子の転写調節におけるKLF5の機能解析
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Toyono, Yuki Hirata, Yui Obikane, Shinji Kataoka, Mitsushiro Nakatomi and Yuji Seta
2. 発表標題 KLF5 promotes expression of the mouse T1R1 amino acid (umami) receptor gene (Tas1r1) in C2C12 cells.
3. 学会等名 17th international Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Toyono, Yuki Hirata, Shinji Kataoka, Mitsushiro Nakatomi, Yuji Seta
2. 発表標題 Promoter analysis for mouse T1R1 amino acids (umami) receptor gene in C2C12 cells.
3. 学会等名 16th international Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception. (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 平田 祐基, 豊野 孝, 細川 隆司, 瀬田 祐司
2. 発表標題 C2C12におけるアミノ酸受容体T1R1遺伝子の転写調節機構の解析.
3. 学会等名 第77回九州歯科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 豊野孝, 平田祐基, 片岡真司, 中富満城, 瀬田祐司
2. 発表標題 DNAアフィニティ沈降法を用いたマウスうま味(アミノ酸)受容体T1R1遺伝子の転写調節機構の解析.
3. 学会等名 第59回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 平田祐基, 豊野孝, 細川隆司, 瀬田祐司
2. 発表標題 筋芽細胞株C2C12における, アミノ酸(うま味)受容体T1R1遺伝子の転写調節機構の解析
3. 学会等名 平成28年度公益社団法人日本補綴歯科学会九州支部, 中国・四国支部合同学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 豊野孝, 平田祐基, 片岡真司, 中富満城, 瀬田祐司
2. 発表標題 ゲノム編集法を用いたマウスアミノ酸受容体T1R1遺伝子の転写調節における転写因子Tbx3の機能解析.
3. 学会等名 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Toyono, Yuki Hirata, Shinji Kataoka, Mitsushiro Nakatomi, Ryuji Hosokawa, Yuji Seta
2. 発表標題 Analysis of the function of SP/KLF family in the promoter of mouse T1R1 amino acids (umami) receptor gene in C2C12 cells.
3. 学会等名 15th international Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yuki Hirata, Takashi Toyono, Chihiro Masaki, Ryuji Hosokawa, Yuji Seta,
2. 発表標題 romoter Analysis for the Mouse Amino Acids Receptor T1R1 Gene.
3. 学会等名 IADR/AADR/CADR GENERAL SESSION & EXHIBITION. (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 平田 祐基, 豊野 孝, 片岡 真司, 中富 満城, 細川 隆司, 瀬田 祐司
2. 発表標題 筋芽細胞株C2C12の筋管細胞への分化段階における、アミノ酸(うま味)受容体T1R1遺伝子の転写調節機構の解析
3. 学会等名 第76回九州歯科学会総会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 平田 祐基, 豊野 孝, 細川 隆司, 瀬田 祐司
2. 発表標題 筋芽細胞株C2C12における、アミノ酸(うま味)受容体T1R1遺伝子の転写調節機構の解析
3. 学会等名 日本補綴歯科学会 九州支部, 中国・四国支部合同学術大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 豊野 孝, 平田 祐基, 片岡 真司, 中富 満城, 細川 隆司, 瀬田 祐司
2. 発表標題 筋芽細胞株C2C12における、転写因子KLF2によるアミノ酸(うま味)受容体T1R1遺伝子の転写調節機構の解析
3. 学会等名 第122回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中富 満城 (Nakatomi Mitsushiro) (10571771)	九州歯科大学・歯学部・講師 (27102)	
研究分担者	片岡 真司 (Kataoka Shinji) (80364149)	九州歯科大学・歯学部・助教 (27102)	
研究分担者	瀬田 祐司 (Seta Yuji) (90291616)	九州歯科大学・歯学部・教授 (27102)	