

## Thesis Abstract

Name	Chirada Dusadeemeelap
Title (In Japanese and English)	Inhibition of TET-mediated DNA demethylation suppresses osteoblast differentiation (TET を介した DNA 脱メチル化阻害により骨芽細胞分化を抑制する)
<p>DNA のメチル化は、発生や疾患におけるクロマチン構造の制御や遺伝子発現の調節に重要である。10-eleven translocation (TET) 酵素ファミリーは、5-メチルシトシン (5mC) を 5-ヒドロキシメチルシトシン (5hmC) に酸化して 5mC の水酸化とその後の脱メチル化を触媒する。TET の機能については、DNA のヒドロキシメチル化を制御する化合物が存在しなかったため、そこで本研究では、新規のシトシン選択的 TET 酵素阻害剤である Bobcat339 (BC339) を用いて、BMP が誘導する骨芽細胞分化における TET を介した DNA のヒドロキシメチル化の役割を検討した。</p> <p>C2C12 細胞を BC339 で処理すると、細胞生存に影響を与えることなく、5mC を増加させ、逆に 5hmC を減少させた。BC339 は、BMP が誘導する骨芽細胞分化マーカーの発現を抑制した。メチル化 DNA 免疫沈降とバイサルファイトシーケンスにより、BC339 による TET の阻害は、骨芽細胞分化に必須の転写因子である Sp7 のプロモーターの CpG リッチ領域で 5mC が増加することが示された。プロモーターの 5mC は転写抑制と関連しており、Sp7 のプロモーター活性を示すルシフェラーゼ活性は DNA メチル化または BC339 によって抑制された。クロマチン免疫沈降法により、TET が Sp7 のプロモーター領域に存在することが確認された。最後に、SP7 を強制的に過剰発現させたところ、BC339 による骨芽細胞分化抑制効果が解除された。</p> <p>TET は Sp7 プロモーターを含むゲノム領域の DNA を脱メチル化し、骨芽細胞分化を制御する。</p>	