

28H-am07

レポーターアッセイを用いたヒトFMO3遺伝子の転写調節機構の解析

○清水 万紀子¹, 永島 里美¹, 村山 典恵¹, 山崎 浩史¹(昭和薬大)

【目的】フラビン含有モノオキシゲナーゼ 3 (FMO3) は、各種医薬品および食品由来トリメチルアミン等の酸素添加反応を触媒する。演者らは、日本人の *FMO3* 遺伝子 5' -上流領域およびコーディング領域の解析から、7種の *FMO3* 遺伝子ハプロタイプを報告した。本研究では FMO3 触媒活性の個人差を明らかにする目的で、野生型コーディング領域を有する *FMO3* 遺伝子ハプロタイプ 1-3 における転写調節に着目し、レポーターアッセイにより解析した。

【方法】*FMO3* ハプロタイプ 1-3 の 5' -上流領域(転写開始点から-3.4 kb)を組み込んだレポータープラスミドおよび *FMO3* ハプロタイプ 1 の欠失および変異導入プラスミドを HepG2 細胞に導入し、デュアルルシフェラーゼアッセイを行った。

【結果および考察】ハプロタイプ 1 のルシフェラーゼ活性は、ハプロタイプ 2 および 3 に比較して高い活性を示した。ハプロタイプ 1 の段階的欠失プラスミドを用いて調べた結果、-2064 bp (ATG の A を+1 とした)から上流において、各プラスミドのルシフェラーゼ活性はいずれも低値を示したが、-2064 から-1804 bp 領域に *FMO3* 遺伝子発現を活性化する領域が存在した。本領域において、推定 HNF-4 α 結合サイトおよび CCAAT ボックスに変異を導入することにより、それらのルシフェラーゼ活性は低下した。以上の結果より、*FMO3* 遺伝子ハプロタイプ 1-3 の転写抑制機構は、5' -上流の遺伝子変異部位を含む複雑な抑制機構が機能していること、およびハプロタイプ 1-3 に共通して推定 HNF-4 α 結合サイトおよび CCAAT ボックスが転写活性化に寄与することが推察された。