

30E03-am08S

ヒト *TP53* 遺伝子プロモーター領域のレスベラトロール応答性エレメントの解析
○杉澤 馨子¹, 佐々木 萌¹, 田沼 靖一¹, 内海 文彰¹(¹東京理大薬)

【目的】 p53 は DNA 損傷や細胞外ストレスに応答する癌抑制遺伝子 *TP53* にコードされる転写因子である。リン酸化等により活性化された p53 は細胞周期停止、DNA 修復、あるいはアポトーシス等を誘導する。レスベラトロール (Rsv) は、種々の生物で寿命延長効果が認められている天然の化合物で、NAD⁺依存性脱アセチル化酵素 SIRT1 を活性化する。種々の培養細胞を用いた実験では、Rsv による p53 タンパク質発現の上昇が認められている。また、これまでに我々は 556-bp のヒト *TP53* 遺伝子 5'-上流域を単離することに成功している。そこで、本研究では、Rsv 処理後の HeLa-S3 細胞における *TP53* プロモーター活性、遺伝子発現及び p53 タンパク質発現変動について詳細に解析することを目的とした。

【方法・結果】 HeLa S3 細胞培地に Rsv(10-20 μ M)を加え、経時的に細胞を回収した。Luc アッセイ、RT-PCR 及びウェスタンブロット分析を行った結果、*TP53* 遺伝子プロモーター活性、転写産物量及び p53 タンパク質発現量が Rsv 処理後にそれぞれ増大することが明らかとなった。次に、556-bp の *TP53* 遺伝子プロモーター領域に欠失変異を導入した。報告されている cDNA の最も 5'-上流のヌクレオチド番号を+1 とした場合、-111 から+78 の領域に Rsv 処理応答性が認められた。

【考察・展望】 以上より、Rsv は *TP53* プロモーター活性を増大し、p53 生合成を促進することが明らかとなった。Rsv の *TP53* 遺伝子転写調節メカニズムが解明されれば細胞老化の人為的調節に貢献できるはずである。現在、*TP53* 遺伝子プロモーター中の-111 から+78 までの 189-bp 領域にさらに欠失あるいは点突然変異を導入する実験を始めており、Rsv 応答エレメントと結合因子について検討する予定である。