

28amC-006

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
○佐々木 優貴¹, 杉澤 馨子¹, 内海 文彰^{1,2}, 田沼 靖一^{1,2} (¹東京理大薬, ²東京理大総研機構RNA研)

【背景・目的】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ある。興味深いことに、種々の培養細胞を用いた実験では、Rsv は p53 タンパク質の量的な増大をもたらす効果のあることが示されている。昨年度は、HeLa S3 細胞において p53 をコードする TP53 遺伝子プロモーター活性とその発現及び p53 タンパク質レベル、すべてが Rsv 処理によって顕著に増大する結果について報告した。今回、我々はヒト TP53 プロモーター領域 551-bp 中の Rsv 応答エレメントと結合因子の同定を目的とし、以下の実験を行った。

【方法・結果】まず、551-bp の TP53 プロモーター領域に種々の欠失あるいは点突然変異を導入し、ルシフェラーゼ (Luc) 発現プラスミドを構築した。これらの Luc 発現プラスミドを HeLa S3 細胞にトランスフェクションし、Rsv (10~20 μM) 処理 24 時間後に細胞を回収して Luc アッセイを行った。詳細なデリベーション及び点突然変異導入実験を行った結果、cDNA の最も 5'-上流のヌクレオチド番号を+1 とした場合、+36 から+43 の E2F エレメントが Rsv に応答すると結論された。

【考察・展望】本研究結果から、HeLa S3 細胞内で Rsv によって誘導されたシグナルが E2F エレメントに作用して TP53 プロモーター活性を増大し、その結果 p53 の転写促進が起こると考えられた。現在、Rsv 処理後の E2F ファミリー遺伝子とタンパク質のそれぞれ発現及び量的な変動を解析しており、ChIP アッセイと EMSA 分析法による結果も併せて、Rsv による E2F エレメントを介した TP53 プロモーター活性化メカニズムを解明する予定である。