

---

## ルテオリンによる遺伝子発現制御機構の 統合システムバイオロジー解析

京都大学大学院生命科学研究科・准教授 増田 誠司

---

### ■ 目的

食品成分の多くは実に様々な生理活性を持つことが明らかにされてきている。中には、ガンや高血圧に抵抗性を示す化合物も見いだされている。ただ、従来の解析法は、細胞の増殖、脂肪の蓄積、酵素の活性化といった単一の指標で評価されてきた。このため、細胞全体として見た場合、相反する結果が得られることもしばしば見られている。この理由として、食品成分の活性物質は多くが低分子であるために複数の細胞内標的を持ち、それぞれの反応が異なっているためと考えられている。今こそ、食品成分が細胞に与える影響について細胞全体の応答として網羅的に解析することが求められている。本研究は食品成分を、「内因性の生理活性物質に比べて弱い生理活性物質」、「多様な生体内標的を持つ化合物」として捉え、このような特質を持つ化合物を対象としたゲノムワイドかつプロテオームを統合した新規解析法を確立することを目的とする。食品成分の例として、ガンを抑制する活性を見いだしているルテオリンをリード化合物として取り上げる。

### ■ 方法

ヒト骨肉腫由来 U2OS 細胞を定法により培養を行った。約 40%コンフルエントな細胞に、ルテオリンを添加した。RNA は、Sepasol RNA I Super G を用いて取得し、定法により cDNA 化した。cDNA を 10 倍に希釈したものを鋳型とし、特定の遺伝子を増幅させるプライマーを用いて、PCR によって増幅させた。RT-PCR によって得られた増幅産物をアガロースゲルで電気泳動を行い、イントロンを含むバンドと含まないバンドのシグナルを定量した。

### ■ 結果および考察

ルテオリンによる遺伝子発現の変化を観察するために、まず必ず変化する遺伝子情報を得ることとした。そのために様々な遺伝子のイントロンを挟む形でエキソンを増幅させた。しかし、ポジティブコントロールである GEX1A と比較すると、その変化は小さく、またターゲットとする遺伝子によって変化に差がみられた。そこで、先行論文でアピゲニンとルテオリンが hnRNP A2 に作用し、選択的スプライシングに影響を与えることが報告されている Caspase-9 のエキソン 2 からエキソン 7 について PCR を行い、スプライシングの変化を観察した。エキソン 3 から 6 を含む Caspase-9a と、エキソン 3-6 がスキッピングによって除かれた Caspase-9b を比較したところ、ルテオリンを投与した細胞から調製したサンプルでは Caspase-9b が減少していた。このことからルテオリンが作用していることを如実に観察できる標的が見いだされたと判断できる。今後は、ルテオリンによる遺伝子発現の変化を網羅的に解析することを計画している。

### ■ 結語

ルテオリンが RNA スプライシングと遺伝子発現に与える影響を明らかにすることを目的として、網羅的解析を行う準備段階として、サンプルの評価を行う系の確立を行った結果、選択的スプライシングのパターンが大きく変動する遺伝子を見いだした。この系を用いて大規模解析を進めたい。