

카테킨의 항 히스톤 아세틸화 활성 및 안드로젠 수용체 매개 전사조절에 미치는 영향
연세대학교 의과대학, 수원대학교 식품영양학¹: 김미정, 정명구,이유현,¹윤호근*

**Effect of anti-histone acetyltransferase activity from various catechins in
Androgen receptor-mediated transcriptional regulation**

College of Medicine, Yonsei University

Food science and nutrition, The University of Suwon¹

Mi-Jung Kim, Myung Gu Jung, Yoo-Hyun Lee,¹ and Ho-Geun Yoon*

실험목적 (Objectives)

항 HAT 및 항암 활성 함유 천연물을 탐색, 분리 중 선별된 녹차를 대상으로 그 유효 성분인 다양한 카테킨의 활성을 검토하고 작용기작을 규명함으로써 녹차의 항암 및 항 HAT 활성의 과학적 근거를 제시하여 향후 건강기능식품과 의약품개발의 근거로 사용하려 함.

재료 및 방법 (Materials and Methods)

○ 실험재료

catechin, EC, EGC, EGCG, 전립선암 세포주(LNCaP) 및 cell culture medium, [³H]acetyl-CoA, 항체(p300, CBP, androgen receptor, acetyl-Lys), Protein A/G PLUS agarose bead, transfection kit

○ 실험방법

- *In vitro* HAT assay: 녹차의 유효성분인 카테킨 종을 대상으로 실시
- 전립선암 세포주를 이용한 세포사멸여부의 검토
- 상기의 HAT assay system을 이용한 p300, CBP 등 다양한 HAT 단백질들에 대한 효소활성 저해특이성 검토
- Androgen-responsive reporter assay 시스템을 이용한 안드로젠 수용체 매개 전사활성 억제 여부 검토
- mRNA 발현 억제 분자기전을 real time PCR을 통하여 규명
- Chromatin 레벨에서의 히스톤 단백질의 아세틸화에 미치는 영향을 ChIP assay를 통하여 검토

실험결과 (Results)

- 본 연구그룹이 보유한 700여개의 천연물 라이브러리 스크리닝을 통하여 항 HAT 활성 함유 녹차의 활성을 확인하여 그 유효성분인 다양한 카테킨 종의 항 HAT활성을 검토함(Fig1a).
- 전립선 암세포주에서 농도 의존적인 세포사멸 결과를 통하여 항암 효과를 확인함 (Fig.1b).

(Corresponding author) : 윤호근 E-mail : yhgeun@yumc.ac.kr Tel : 02-2228-1684

- Reporter assay system을 이용한 안드로젠 수용체 매개, 에스트로젠 수용체 매개 등 각 수용체 별 전사활성억제를 카테킨 종류별로 검토한 결과, EGCG에서 가장 유의적으로 높은 억제효과를 나타냄(Fig.2a).
- Real-time PCR을 이용한 mRNA 발현을 검토한 결과, EGCG에서 가장 유의적으로 AR target gene의 현격한 감소를 확인함(Fig.2b).
- 가장 활성이 높은 EGCG 첨가시 안드로젠 수용체의 아세틸화 감소와 Chromatin 레벨에서의 히스톤 단백질(H3)의 아세틸화 정도를 ChIP assay를 통한 현격한 아세틸화 감소 결과를 확인함.

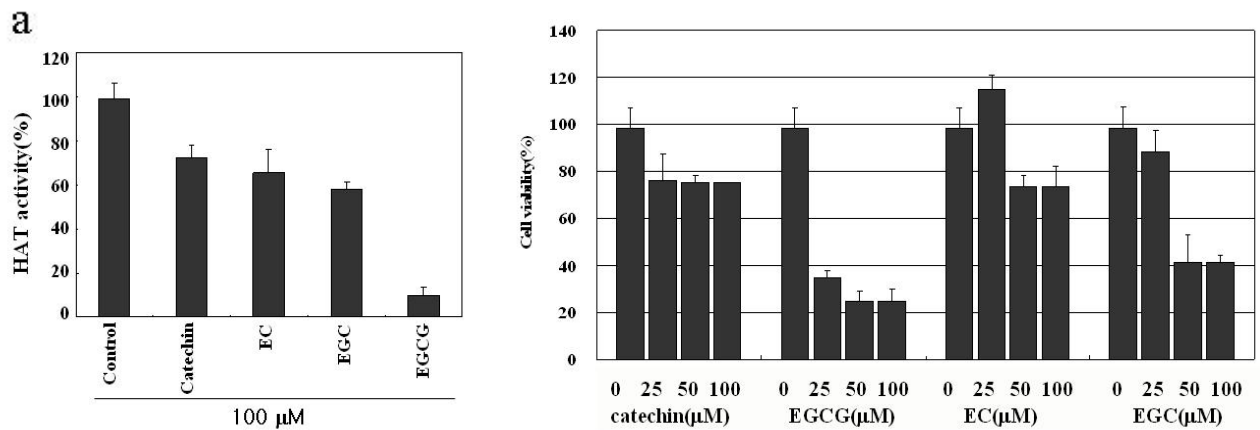


Fig.1. HAT inhibitory activity(a) and cell viability(b) in the presence of various catechins.

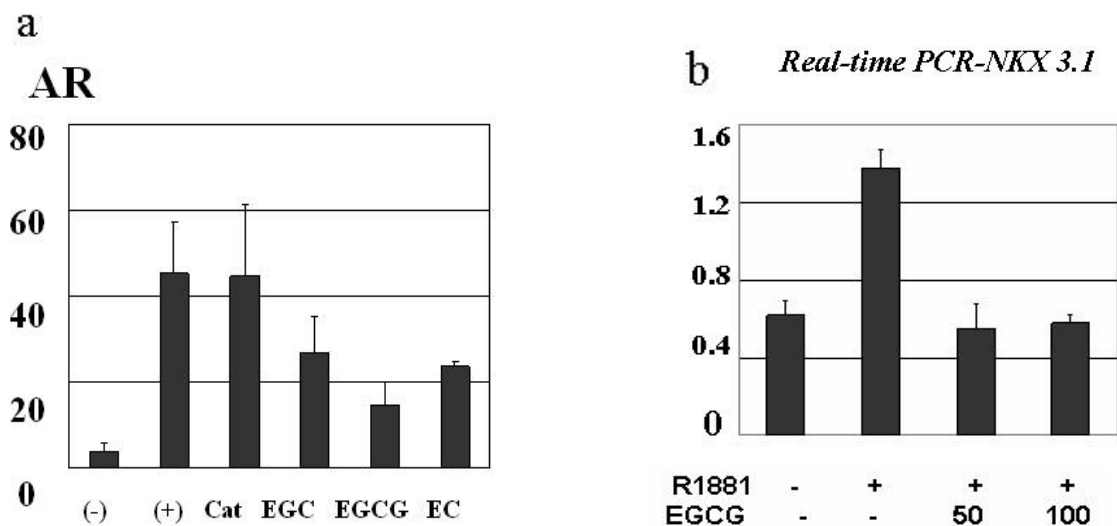


Fig.2. Repression of AR-mediated transcription activation: reporter assay(a) and real time PCR(b) in the presence of various catechins.