

## 29【P1】Ⅲ-208

糖質応答領域結合タンパク質のクローニングと発現ドメインの機能解析

○梶島 力<sup>1</sup>, 入江 貞治<sup>1</sup>, 竹下 歩<sup>1</sup>, 太田 和子<sup>1</sup>, 甲斐 雅亮<sup>1</sup>(<sup>1</sup>長崎大院医歯薬)

【目的】糖質代謝に関与する酵素遺伝子の上流には、糖質応答領域 (ChRE) と呼ばれる配列が存在し、これにより、酵素遺伝子の転写は調節されている。最近、L-型ピルビン酸キナーゼ (L-PK) の上流の ChRE に結合する転写因子として、ChRE binding protein (ChREBP) がラット肝臓より精製された。我々は、この ChREBP の核内移行や DNA 結合能が、リン酸化/脱リン酸化により調節されていることを明らかにしてきた。今回、ChREBP のさらなる機能解析のために、ラット肝臓 cDNA ライブラリーより、ChREBP 遺伝子のクローニングを行い、さらに大腸菌での発現を試みた。

【方法および結果】ヒトおよびマウス ChREBP 遺伝子の塩基配列をもとに、ラット肝臓 cDNA ライブラリーより ChREBP 遺伝子のクローニングを行った。ラット ChREBP は、865 個のアミノ酸残基からなり、ヒトおよびマウスとの相同性は、それぞれ 82%、95% だった。ChREBP には 3 ケ所のリン酸化部位があり、これらのリン酸化/脱リン酸化により核内移行や DNA 結合能は調節されている。そこで、核移行シグナルと N 末端側のリン酸化部位を含む領域を P1、proline-rich stretch と 2 番目のリン酸化部位を含む領域を P2、DNA 結合領域と C 末端側のリン酸化部位を含む領域を P3 ドメインとして、それぞれのドメインごとに大腸菌中で発現させた。次に、P3 ドメインの DNA 結合能を、L-PK の ChRE を用いたゲルシフトアッセイにより調べたところ、発現させた P3 ドメインは、野生型の ChREBP と同じ性質であった。現在、ChREBP と相互作用する分子を検索中である。