

281-am03

亜鉛フィンガー型人工転写因子—細胞内濃度が転写活性化のカイネティクスに与える影響—

○森崎 達也¹, 今西 未来^{1,2}, 中村 篤史¹, 二木 史朗¹, 杉浦 幸雄³(¹京大化研, ²JSTさきがけ, ³同女大薬)

C₂H₂ 型亜鉛フィンガーモチーフを複数個つなげたマルチ亜鉛フィンガータンパク質は、*in vitro* で長鎖 DNA 配列への結合特異性は得られるものの、モチーフ数の増加に伴い、標的 DNA との結合平衡に要する時間が増大する。しかし、このマルチ亜鉛フィンガーモチーフを DNA 結合ドメインとした人工転写因子は速やかに転写活性化を開始することを細胞内過剰発現系の実験より見出している。本研究では、亜鉛フィンガー型人工転写因子の細胞内濃度が転写活性化のカイネティクスに与える影響の詳細を明らかとし、細胞内におけるマルチ亜鉛フィンガーの標的 DNA との結合平衡到達時間に関する知見を得ることを目的とした。

マウス由来転写因子 Zif268 の 3 フィンガーモチーフ (ZF3) を 1 ユニットとし、このユニット 3 つを連結させたマルチ亜鉛フィンガータンパク質 (ZF9) を設計した。さらにそれぞれを DNA 結合ドメインとし、転写活性化能をリガンドの添加により制御できるスイッチ系を導入した亜鉛フィンガー型人工転写因子 ZF-ER-AD を設計した。転写活性化能の経時的観察において、一定濃度以上のリガンド添加 (>30 nM) では、添加直後から ZF9-ER-AD は ZF3-ER-AD と同様にレポータ遺伝子の発現を速やかに活性化した。さらに、ZF3-ER-AD はリガンド濃度によらず、速やかな転写活性化パターンを示したのに対し、ZF9-ER-AD はリガンド濃度を低下させるに伴い、その転写活性化が顕著に遅延することが明らかとなった。

以上の結果は、細胞内においてもマルチ亜鉛フィンガーの挙動は、結合平衡到達時間が増大するという *in vitro* での実験結果が反映されることを示唆するものであり、亜鉛フィンガーモチーフの標的 DNA への結合様式を理解する上で重要な知見を提供するものであると考えられる。