

## 28I-am04

メディエーター複合体の新規キナーゼサブユニットの機能解析

○梅村 啓靖<sup>1</sup>, 筒井 大気<sup>1</sup>, 田中 亜紀<sup>1</sup>, 廣瀬 豊<sup>1</sup>, 大熊 芳明<sup>1</sup> (<sup>1</sup>富山大院薬)

【目的】近年、真核生物において Pol II 最大サブユニットの C 末端(CTD)をリン酸化することにより、遺伝子発現の制御に関わる重要な因子としてメディエーター複合体が同定された。この複合体には、少なくとも 3 種類のサブ複合体が存在し転写活性が異なることを我々は報告している。この転写活性の違いの一つとしては、CTD のキナーゼである hCDK8 が考えられており、我々は hCDK8 が転写にどのような影響を与えるかを RNA 干渉とレポーター解析を組み合わせた手法で検討した。一方、近年 Conaway らによって hCDK11 がメディエーター複合体の新規キナーゼサブユニットであることが報告された(Mol Cell. 2004 Jun 4;14(5):685-91)。hCDK11(別名 hCDK8-L)は hCDK8 とアミノ酸配列が約 80%同じであり高等生物にしか存在しない。なぜメディエーター複合体には、hCDK8 と同じくリン酸化活性をもつ hCDK11 が存在し、またその機能に違いがみられるのかを明らかにするために hCDK11 についても CDK8 と同様の実験を行った。

【方法】(1)HeLa 細胞に siRNA を導入し、細胞内で発現する hCDK8、hCDK11 が効果的に減少する条件を決めた。(2)その条件下で、さらにレポーター遺伝子と siRNA によって分解を受けないような hCDK8、hCDK11 をコードした発現ベクターを共に導入しルシフェラーゼ活性を測定することで、hCDK8、hCDK11 が Gal4-VP16 依存的な転写活性化に対する影響を検討した。

【結果・考察】(1)hCDK8 は、そのリン酸化活性を介して Gal4-VP16 依存的な転写の活性化に寄与することが分かった。(2)一方 hCDK11 は Gal4-VP16 依存的な転写の場合、hCDK8 とは逆に転写を抑制することが示唆された。