

# 28amC-004

ヒト *ZNF* 遺伝子群の 5'-上流領域の解析

○小林 洋太<sup>1</sup>, 河合 一<sup>1</sup>, 秋山 良介<sup>1</sup>, 大山 貴央<sup>1</sup>, 内海 文彰<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>東京理大薬,  
<sup>2</sup>東京理大・総研機構RIST・RNA研セ)

【背景・目的】ZNF(ジンクフィンガー)タンパク質は、DNA、タンパク質と相互作用する共通の ZNF 構造を持っており、遺伝子発現制御に関係しているものが多い。しかしながら、現在までに ZNF 遺伝子群の転写調節メカニズムについては比較検討がほとんどなされていない。本研究では、種々の ZNF 遺伝子 5' 上流領域をクローニングし、ルシフェラーゼ(Luc)発現ベクターの構築を行った。そして、12-O-テトラデノカイル-ホルボル-13-アセテート(TPA)による HL-60 細胞分化誘導時における、それぞれのプロモーター領域中のエレメントと活性変動について比較検討することを目的とした。

【方法・結果】ヒト培養細胞のゲノム DNA を鋳型として PCR を行い、*ZNF*1、*ZC3HAV1*、*ZNF*1-*AS1*、*ZNF*252、*ZNF*343、*ZNF*555、*ZNF*558、*ZNF*782 の 5' -上流領域約 500-bp を増幅し、それぞれを pGL4.10[luc2]プラスミドに組み込んだ。これらの Luc 発現ベクターを HL-60 細胞にトランスフェクションし、24 時間 TPA 処理した細胞の抽出液を用いて Luc アッセイを行った結果、*ZNF*1、*ZC3HAV1*、*ZNF*252、*ZNF*782 プロモーターの活性は TPA 処理 24 時間後に増大することが明らかとなった。特に顕著に応答した *ZNF*1 遺伝子発現を RT-PCR 法により解析した結果、TPA 処理後に転写産物量の増大することが明らかとなった。

【考察】今回解析した TPA 応答性のプロモーター領域には重複 GGAA モチーフが存在しており、それに含まれる ETS1 結合エレメントの他に、その上流 100-bp 以内に *ZNF*354C 結合エレメントが存在する。そのため、以上のエレメントに結合する因子を同定することによって HL-60 細胞分化に伴ったプロモーター活性化の分子メカニズムを解析することができる。