

G4 含有プロモーターを制御する機能性ポリペプチドの開発

○苅米 倭¹・山梨舞子¹・石原顕紀¹・大吉崇文^{1,2,3} (¹ 静大院理、² 静大院創造、³ 静大グリーン研)

Development of functional polypeptides regulating G4-containing promoter (Graduate School of Integrated Science and Technology, Shizuoka University¹, Graduate School of Science and Technology, Shizuoka University², Research Institute of Green Science and Technology, Shizuoka University³) KARIKOME, Yamato¹; YAMANASHI, Maiko¹; ISHIHARA, Akinori¹; OYOSHI, Takanori^{1,2,3}

グアニン四重鎖 (G4) 構造形成配列は多くのプロモーター配列に存在することが報告されており、転写に対する重要な構造として考えられている¹⁾。プロモーター中に G4 構造を有するガン遺伝子である *bcl-2* は、G4 結合性転写因子である Nucleolin によって転写が活性化される一方で、同様にプロモーター中に G4 構造を有する *c-myc* においては、Nucleolin によって転写が抑制されることが報告されている^{2,3)}。このように異なるプロモーター中の G4 によって転写の制御機構が異なっているが、G4 と G4 結合性タンパク質による転写に関わる詳細な制御機構はほとんど明らかになっていない。そこで我々は、G4 構造をプロモーターにもつ遺伝子について、人工的に転写を抑制および活性化を行うことができる G4 結合性ポリペプチドの開発を行い、各遺伝子におけるプロモーター中の G4 構造の役割を明らかにすることを目的とした。この G4 結合性ポリペプチドとして、当研究室で既に G4DNA に特異的に作用することが報告した TLS/FUS の RGG 領域を基にした新規 G4DNA 結合性ポリペプチドを (RGGF) を用いることとした⁴⁾。さらに、この RGGF に単純ヘルペスウイルスの転写活性化因子である VP16 の転写活性化領域を RGGF に融合させた VP16-RGGF を作成した⁵⁾。

RGGF をヒト細胞に高発現させたとき、プロモーター中に G4 構造を有する *bcl-2* と *c-myb* 及び *c-myc* の遺伝子において、転写が抑制された (Fig. 1,2)。さらに、VP16-RGGF をヒト細胞に高発現させたとき、*bcl-2* と *c-myb* の転写は活性化されたが、*c-myc* の転写は抑制された (Fig. 1,2)。これらの結果より、*bcl-2* と *c-myb* 及び *c-myc* のプロモーター中の G4 は、結合する G4 結合性タンパク質によらず、各プロモーター中の G4 の転写制御における役割が異なっていることが示唆された。

RGGF をヒト細胞に高発現させたとき、プロモーター中に G4 構造を有する *bcl-2* と *c-myb* 及び *c-myc* の遺伝子において、転写が抑制された (Fig. 1,2)。さらに、VP16-RGGF をヒト細胞に高発現させたとき、*bcl-2* と *c-myb* の転写は活性化されたが、*c-myc* の転写は抑制された (Fig. 1,2)。これらの結果より、*bcl-2* と *c-myb* 及び *c-myc* のプロモーター中の G4 は、結合する G4 結合性タンパク質によらず、各プロモーター中の G4 の転写制御における役割が異なっていることが示唆された。

- 1) *Nucleic Acids Res.* **2007**, *35*, 406-413, 2) *J. Biol. Chem.*, **2007**, *282*, 12439-12449,
- 3) *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 23622-23635, 4) *ACS. Chem. Biol.* **2015**, *10*, 2564-2569,
- 5) *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 275-280

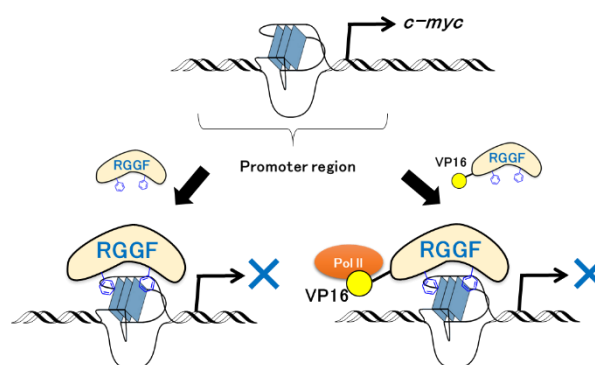


Fig 1. The model transcriptional mechanism with functional polypeptide in *c-myc*

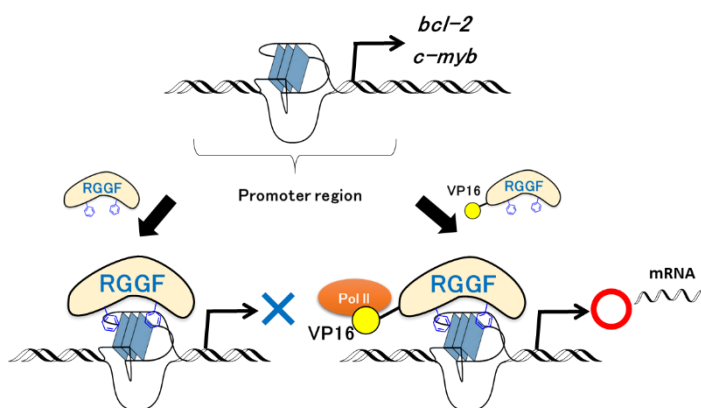


Fig 2. The model transcriptional mechanism with functional polypeptide in *bcl-2* and *c-myb*