

## G4 含有プロモーターを制御する G4 結合タンパク質の開発

(静大院理<sup>1</sup>・静大院創造<sup>2</sup>・静大グリーン研<sup>3</sup>) ○山梨 舞子<sup>1</sup>・苅米 倭<sup>1</sup>・石原 顕紀<sup>1</sup>・大吉 崇文<sup>1,2,3</sup>

Development of G4 binding protein regulating G4-containing promoter (<sup>1</sup>Graduate School of integrated Science and Technology, Shizuoka University, <sup>2</sup>Graduate School of Science and Technology, Shizuoka University, <sup>3</sup>Research Institute of Green Science and Technology, Shizuoka University) ○Maiko Yamanashi,<sup>1</sup> Yamato Karikome,<sup>1</sup> Akinori Ishihara,<sup>1</sup> Takanori Oyoshi<sup>1,2,3</sup>

G-quadruplex (G4) structures formed by guanine-rich nucleic acids are abundant in promoter regions and are thought to regulate gene expression<sup>1)</sup>. However, it is unclear how G4 structures regulate transcription. In order to elucidate this mechanism, it is necessary to develop a simple tool that can regulate transcription by targeting the G4. In this study, we developed two kinds of G4 binding proteins containing RGGF. One is fused with a peptide in VP16 which is a transcriptional activator that directly recruits RNA polymerase II<sup>3)</sup>. Second is fused with a part of CREB binding protein (CBP) that has histone acetyltransferase (HAT) activity<sup>4)</sup>. We investigated the transcript levels of *c-myc*, *bcl-2* and TERRA by Real-time PCR in the presence of these G4-binding proteins. These results showed that each transcription level of *c-myc* and *bcl-2* was activated by G4-binding proteins fused with peptides from VP16, and that of TERRA was activated by G4-binding proteins fused with part of CBP (Figure 1).

**Keywords :** G-quadruplex; G-quadruplex binding protein; Oncogene; Gene expression; Transcriptional control

グアニン豊富な核酸が形成するグアニン四重鎖 (G4) 構造は、プロモーター領域に多く存在し遺伝子発現の制御をしていると考えられているが、G4 構造がどのように転写を制御しているかは不明である<sup>1)</sup>。この機構を解明するためには、G4 構造を標的とした転写を制御できるシンプルなお具の開発が必要であると考えられる。そこで本研究では、当研究室で見出された G4 結合タンパク質である RGGF という G4DNA に特異的に結合する人工 G4 タンパク質<sup>2)</sup>直接 RNA ポリメラーゼIIをリクルートする転写活性化因子である VP16 中の polII と結合するペプチド<sup>3)</sup>またはヒストンアセチル基転移酵素(HAT)活性を有する CBP の一部<sup>4)</sup>を融合した G4 結合タンパク質を作成した。これらの G4 結合タンパク質存在下における細胞中の *c-myc* と *bcl-2*、TERRA の転写量をリアルタイム PCR で調べたところ、VP16 中のペプチドを融合した G4 結合タンパク質では、*c-myc* と *bcl-2* の転写が活性化され、HAT 活性を有する CBP の一部を融合した G4 結合タンパク質では、TERRA の転写が活性化された (図 1)。

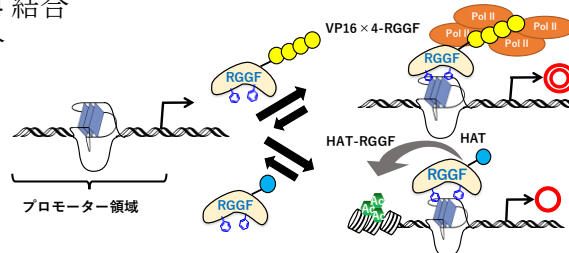


図 1 G4 結合タンパク質による転写制御モデル

1) *Nucleic Acids Res.* 2007, 35, 406-413 2) *Acs. Chem. Biol.* 2015, 10, 2564-2569

3) *Genes. Dev.* 1988, 2, 718-729 4) *Nature.* 1996, 384, 641-643