

亜鉛フィンガー：機能性分子デザインへの展開

京都大学化学研究所生体反応設計研究部門（杉浦研究室）助手

永岡 真

E-mail: nagaoka@scl.kyoto-u.ac.jp



はじめに

亜鉛フィンガーは、亜鉛がその2次構造形成に関与し、タンパク質にDNA認識能を賦与する新しいタイプのDNA結合モチーフである。亜鉛フィンガーはその繰り返し構造からDNAを3塩基ずつ認識するモジュールの連結体としてみる事ができ(図1)、DNA塩基認識コードも徐々に確立されつつある。したがって、亜鉛フィンガーは、染色体遺伝子の特定位置の切断や、特定塩基配列部位への選択的結合などの機能を有する分子の合理的設計に極めて有用であり、それによりアンチセンス分子や人工リプレッサーを用いる遺伝子治療について価値ある知見が得られる。

ここでは、私が学生時代から現在に至る間に携わった、ヒト転写因子Sp1の亜鉛フィンガー由来の亜鉛フィンガー型機能性分子のデザインとその今後の展望について、簡単に紹介してみたい。

3'- GGG GCG GGG -5'

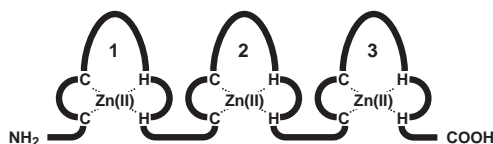


図1 亜鉛フィンガーのモジュール構造

マルチ化による認識配列の拡張⁽¹⁾

亜鉛フィンガーは、そのモジュール構造ゆえに、フィンガー数の拡張が認識配列の拡張に直結することが期待される。そこで、Sp1由来の3つの亜鉛フィンガーからなるドメインを3ユニット直列に連結した9フィンガータンパク質をデザインし、約30塩基対のDNA配列を認識することを試みた(図2)。9フィンガータンパク質Sp1ZF9は予想した約30塩基対の配列に特異的に結合した。DNA結合には時間を要するものの解離もかなり遅く、コンプレックス自体は比較的安定なものであった。

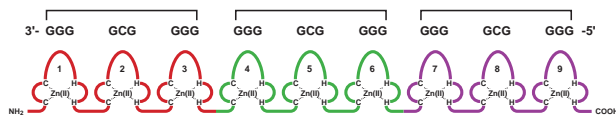


図2 9フィンガータンパク質 Sp1ZF9

マルチフィンガーによるDNA構造変化の誘発⁽²⁾

DNAの構造変化、中でもとりわけDNA湾曲は遺伝子の転写に必須のものである。その人為的制御は遺伝子発現の転写レベルでの制御に極めて有効な手法の1つとなり得る。DNA湾曲の誘発には、物理的にDNAを曲げる方法や、化学的にリン酸バックボーンの電荷を打ち消す方法などが知られている。前述のマルチフィンガーにおいて、フィンガー間のリンカーの長さを適当に調節し、1分子の亜鉛フィンガータンパク質

を離れた2ヶ所でDNAに結合させることができれば、物理的にDNA湾曲を引き起こすことが可能となる。このようなコンセプトの基にデザインされたSp1ZF6(Gly)₇は、11塩基対を介して離れた2ヶ所でDNAに結合し、その介在配列のほぼ中央でDNA湾曲を誘起した(図3)。フィンガー間のリンカー長をえることにより、湾曲の程度をアナログ的に制御することも可能と考えられ、数種のDNA湾曲フィンガーによる細胞内での遺伝子転写制御も目下検討中である。

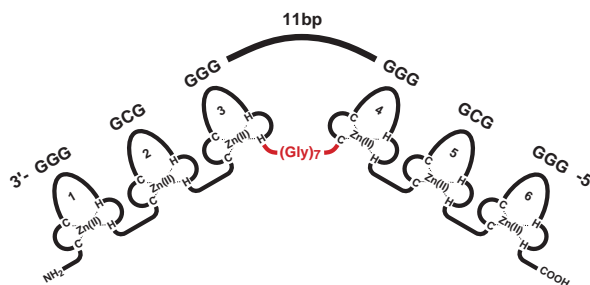


図3 DNA湾曲誘起亜鉛フィンガー

亜鉛フィンガーヌクレアーゼ⁽³⁾

モジュール構造とDNA認識コードという2つの特徴を有する亜鉛フィンガーは、自由な組成・長さのDNA配列を認識し切断するいわゆる「人工制限酵素」のデザインには最適である。そのモデルとして亜鉛フィンガーのアミノ末端側にDNA切断部位を導入したSp1GGHは、DNAをその結合部位近傍の1ヶ所で特異的に切断し、亜鉛フィンガーが人工制限酵素のデザインに有効であることを示した(図4)。



図4 亜鉛フィンガーヌクレアーゼ

以上のように私は学生時代から一貫して(正確に言えば、民間企業で働いていた2年間を除いて) 亜鉛フィンガーを基にした機能物質のデザインを行っている。現在は天然にはない新しい機能・構造を有するフィンガーのデザインを鋭意検討及び実行中である。

おわりに

学会等でお会いしたときには、お気軽にお声をおかけください。いろいろディスカッションできたらと思っております。

References

- (1) Kamiuchi, T. et al. *Biochemistry*, **37** 13827 (1998).
- (2) Imanishi, M. et al. *Biochemistry*, **39** 4383 (2000).
- (3) Nagaoka, M. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **116** 4085 (1994).