

転写因子 MTF-1 を介する重金属依存性転写制御

帝京大薬・○大塚 文徳、下山多映

安衛研・鈴木 薫、小泉 信滋

メタロチオネイン (MT) の誘導は細胞内における重金属毒性防御システムとして主要なものの一つであり、その重金属による誘導に必須な転写因子が MTF-1 である。MT の欠失とは異なり、MTF-1 の欠失は致死であることから、本因子は重金属シグナルの収束点として特定の遺伝子群を包括制御している重要な因子であると考えられる。しかし MTF-1 の重金属応答機構に関してはいまだ統一的な結論には至っていない。今回、MTF-1 の重金属応答機構に関する現在までの仮説を概説するとともに、MTF-1 の Cys・His 点変異体を用いてその重金属応答性を多角的に解析した結果を紹介する。

MTF-1 の重金属応答として重金属依存的な核移行の報告があるが、抗 MTF-1 抗体を用いて種々の培養細胞を免疫染色すると内在性 MTF-1 は重金属処理の有無にかかわらず核に局在していた。同様の結果は FLAG や EGFP タグを MTF-1 の C 末端に付加して強制発現させても認められた。しかし、面白いことに MTF-1 の N 末端に EGFP を付加した融合タンパクは細胞質に局在し、亜鉛依存的に核移行することを見いだした。これは EGFP と MTF-1 の間のリンカー部分に存在する Leu-rich なモチーフが NES として働くためであったが、様々な欠失変異体や Cys・His 点変異体を解析することにより、この亜鉛依存的な核移行には MTF-1 の 6 個の亜鉛フィンガーのうち第 1〜5 フィンガーと C 末端領域に存在するシステインクラスターが関与していることが分かった。すなわち、これらのタンパク領域が直接的あるいは間接的に亜鉛と相互作用することにより MTF-1 の構造変化を惹起した結果、人工的に付加された NES 機能が変化することを示唆する。そこでレポーターアッセイにより MTF-1 の様々な Cys・His 点変異体の亜鉛依存的な転写活性化能を解析したところ、上記と同一の点変異体において著しい転写活性化能の低下を認めた。亜鉛フィンガーモチーフの変異は DNA 結合性低下を招来するが、第 5 および第 6 フィンガーの変異による DNA 結合能低下はほとんど認められず、他とは機能的に異なるフィンガーであることが確認され、特に第 5 フィンガーの重要性が示唆された。以上の結果より、MTF-1 の亜鉛応答性は亜鉛フィンガーモチーフとシステインクラスター領域を介するタンパク構造の変化が基盤となっているという作業仮説が得られ、それをもとに MTF-1 の重金属応答機構についてさらに検討を進めている。