

281-am07

核内受容体FXRと相互作用する因子群の解析

○大野 雅恵¹, 藤田 真由¹, 国本 真明¹, 西塚 誠¹, 長田 茂宏¹, 今川 正良¹(¹名古屋市大院薬)

【目的】核内受容体はリガンド依存性の転写因子として、様々な遺伝子の発現を制御する。核内受容体は機能に基づいて、AからFの領域に分けられる。A/B領域はリガンド非依存的転写活性化能を有するのに対して、E/F領域はリガンド依存的転写活性化能に重要な役割を担う。近年、リガンド依存的転写制御に必要な転写共役因子が同定され、その機構は解明されつつあるが、リガンド非依存的転写制御については不明な点が多く残されている。これまでに当研究室では、リガンド非依存的転写制御機構を明らかにすることを目的として、farnesoid X receptor (FXR) の A-C 領域と相互作用する因子の探索を行った。その結果、DNA-PKcs, Ku80, Ku70 を同定した。そこで、これら同定した因子の更なる解析を行った。

【方法】同定した因子群と FXR 以外の核内受容体との相互作用について、A-C 領域の GST 融合タンパク質と HeLa 細胞核抽出液との pull-down assay により、検討を行った。次に、大腸菌に発現させた FXR 及び Ku70, Ku80 を用いて pull-down assay を行い、結合性を検討した。また、HeLa 細胞に FLAG 融合 FXR を発現させ、免疫沈降法により、細胞内での相互作用について検討を行った。さらに、Ku80 が FXR の標的遺伝子のプロモーター活性に与える影響について検討を行った。

【結果・考察】FXR に相互作用する因子として同定した因子は、thyroid hormone receptor α を含む複数の核内受容体の A-C 領域と相互作用することが示された。また、Ku80, Ku70 と FXR は直接相互作用すること、及び細胞内で相互作用することが示された。さらに、Ku80 が FXR を介したプロモーター活性を上昇させることを見出した。現在、Ku70 が核内受容体を介したプロモーター活性に与える影響などについて解析中である。