

## 核内受容体 TR $\alpha$ と相互作用する因子の機能解析

○藤田 真由<sup>1</sup>, 大野 雅恵<sup>1</sup>, 西塚 誠<sup>1</sup>, 長田 茂宏<sup>1</sup>, 今川 正良<sup>1</sup>(<sup>1</sup>名市大院薬)

【目的】核内受容体を介する転写制御機構には転写共役因子が重要な役割を担っている。我々は, thyroid hormone receptor  $\alpha$  (TR $\alpha$ ) を含む様々な核内受容体の DNA 結合領域 (DBD) 及びリガンド非依存的転写活性化能, activation function (AF) -1 に関与する領域と相互作用する因子として, DNA-PKcs, Ku80, Ku70 を同定している。TR $\alpha$ は甲状腺ホルモン ( $T_3$ ) をリガンドとし, 成長, 異化, 代謝に関与する。TR $\alpha$ を介した転写制御機構を明らかにするために, 同定された因子と TR $\alpha$  の細胞内での相互作用および各領域との結合を検討した。TR $\alpha$ の標的遺伝子には,  $T_3$  の存在下で転写が促進される遺伝子と抑制される遺伝子が存在する。この転写制御に, Ku タンパク質が与える影響について検討を行った。

【方法】HeLa 細胞に TR $\alpha$ を発現させ, 細胞内での相互作用について, 免疫沈降法により検討を行った。また, TR $\alpha$ の各領域の GST 融合タンパク質と HeLa 細胞核抽出液との pull-down assay により, 同定した因子が相互作用する TR $\alpha$ の領域を解析した。さらに, TR $\alpha$ の標的遺伝子のプロモーター活性に Ku80 が与える影響についてレポーターアッセイにより解析を行った。

【結果・考察】同定された因子群は, 細胞内において相互作用することが示された。また, DNA-PKcs は TR $\alpha$ の DBD とリガンド結合領域を介して, Ku80, Ku70 は AF-1 に関与する領域と DBD を介して相互作用することが明らかとなった。さらに, Ku80 が TR $\alpha$ を介したプロモーター活性を減少させることが示唆された。これらの結果より, Ku80 が TR $\alpha$ の転写共役因子として働く可能性が考えられた。現在, Ku70 が TR $\alpha$ 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。