

27J-am02S

核内転写因子のチロシンリン酸化を介したクロマチン凝縮の誘導

○徳武 友香¹, 赤津 亜希¹, 中村 怜央¹, 高倉 勇氣¹, 帯刀 隆¹, 安藤 充岐¹, 山口 憲孝¹, 山口 直人¹ (¹千葉大院薬)

【目的】c-Ab1 は分子内に 3 つの核移行シグナルと 1 つの核外移行シグナルを持ち、核内外をシャトリングしている非受容体型チロシンキナーゼであるが、その核内での機能には未知の部分が多い。本研究では、c-Ab1 の核内新規基質として bHLH 転写因子に着目し、そのチロシンリン酸化によるヒストン修飾の変化と、クロマチンの形態変化について検討した。【方法・結果】c-Ab1 とこの転写因子を共発現させ、免疫沈降およびウエスタンブロットィングを行ったところ、転写因子がチロシンリン酸化を受けることを見出した。また、転写因子を細胞に発現させて DNA 染色および免疫染色を行い顕微鏡で観察したところ、ヒストン修飾の一つであるヒストン H3 の 9 番目のリジンのトリメチル化 (H3K9Me3) の亢進とヒストン H4 のアセチル化 (H4Ac) の減弱が見られ、クロマチンが斑点状に凝縮した形態をとることを発見した。さらに c-Ab1 阻害剤であるイマチニブを用いて同様の実験を行うと、チロシンリン酸化は減弱し、クロマチンの凝縮は抑制された。次に、ホスホプロテオーム解析を行い、転写因子における c-Ab1 によるリン酸化部位を複数同定し、そのうち一つのチロシン残基をフェニルアラニン残基に置換した変異体を作製した。この変異体では、野生型に比べてチロシンリン酸化がおよそ 25%減弱し、ヒストン修飾の変化とクロマチンの凝縮も抑制されることがわかった。【考察】bHLH 転写因子がヒストン修飾の変化とそれに伴うクロマチンの凝縮を誘導することを発見した。c-Ab1 阻害剤やリン酸化を減弱させた変異体を用いた実験ではクロマチンの凝縮が抑制されたことから、そのメカニズムには転写因子の c-Ab1 によるキナーゼ活性依存的なチロシンリン酸化が関与していると考えられる。今後は、このメカニズムについてより詳細な解析を行っていきたい。