



Title	Molecular Biological Studies on Autosomal Recessive-Juvenile Parkinsonism-Related Protein, Parkin, and Its Yeast Homologue
Author(s)	小柳, 智義
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42485
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	小 柳 智 義
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 9 8 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 13 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学 位 論 文 名	Molecular Biological Studies on Autosomal Recessive-Juvenile Parkinsonism-Related Protein, Parkin, and Its Yeast Homologue (家族性パーキンソン病原因遺伝子産物 Parkin 及びその酵母ホモログに関する分子生物学的研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 谷澤 克行 (副査) 教 授 二井 将光 教 授 永井 克也 助教授 黒田 俊一

論 文 内 容 の 要 旨

RING-box モチーフは N 末端から RING finger-IBR (in between RING)-RING finger の順に 3 つの Zn-finger をもつ約 200 アミノ酸からなるタンパク質モチーフであり、出芽酵母からヒトまで、真核生物中の各種タンパク質に保存されている。哺乳動物由来の転写活性化因子、RBCK1 の転写活性化ドメインにこのモチーフが存在していることから、このモチーフをもつタンパク質すべてが転写活性化能をもつと予想された。RBCK1 のほかに出芽酵母由来の二つの ORF、YKR017c と YML068w の産物（それぞれ RPY1、RPY2 と命名）と、劣性遺伝型若年性パーキンソン病 (AR-JP) 原因遺伝子産物、Parkin が RING-box モチーフをもつことがこれまでに判明している。本研究では RPY1 と Parkin の転写活性化能、及び RPY1 の生理的役割を調べた。

RPY1 の転写活性化能を β -galactosidase をレポーターとする yeast one-hybrid assay 法によって測定したところ、有意な転写活性化が認められ、さらに RPY1 の各種欠失変異体の解析により、RING-box そのものよりも coiled-coil モチーフを含む領域が転写活性化に必須であることがわかった。また、RPY1 の転写活性化能は、酵母細胞への低浸透圧ストレスによって顕著に増大することがわかった。そこで、RPY1 活性化シグナルカスケードを同定することを目的として、各種シグナル伝達関連遺伝子の破壊株における RPY1 の転写活性化能を調べた。その結果、 $\Delta mpk1/slt2$ 株において野生株で見られた低浸透圧ストレス条件下での転写活性化が抑制された。さらに、RPY1 の強制発現により $\Delta mpk1/slt2$ 株の温度感受性が抑圧されたことから、RPY1 は MPK1/SLT2 のシグナル下流に存在することが示唆された。RPY1 強制発現株の DNA アレイ解析を行ったところ、RPY1 は低浸透圧ストレス条件下において各種ストレス応答遺伝子の発現を亢進していた。以上の結果から、RPY1 は MPK1/SLT2 のシグナル下流において、いくつかのストレス応答遺伝子の転写活性化因子として働いていることが示唆された。次に、Parkin の転写活性化能を、ヒト胎児腎臓由来細胞 HEK293 においてホタルルシフェラーゼをレポーターとする mammalian one-hybrid assay によって測定したところ、プロテインキナーゼ A (PKA) を共発現させたときに Parkin は高い転写活性化能を示すことがわかった。N 末端側の領域 (1-230 アミノ酸残基) を欠失した変異体 Parkin も全長 Parkin と同様の挙動を示したことから、Parkin の転写活性化ドメインは RBCK1 と同じく RING-box を含むことがわかった。この転写活性化能は Parkin のみを発現させた時には観察されなかったことから、Parkin は PKA によるリン酸化で制御を受ける転写活性化因子であることが示唆された。また、RPY1 の結果をあわせて考察すると、Parkin も何らかのストレス応答遺伝子の発現を制御していることが予想され、その機能不全がパーキンソン病の原因となるドーパ

ミン産生ニューロンの細胞死を引き起こしていると推定された。

以上の結果から、Parkin をはじめとする RING-box をもつタンパク質群は、各種プロテインキナーゼの制御下において転写活性化因子として働き、種々のストレス応答遺伝子を活性化して細胞の生存維持に関わっていると推定された。本研究による Parkin の転写活性化因子としての機能解明は、今後のパーキンソン病発症の分子機構の全容解明と新たな治療法の開発につながると期待される。

論文審査の結果の要旨

小柳智義君は、本論文において、新規タンパク質モチーフ RING-box をもつタンパク質に属する家族性パーキンソン病原因遺伝子産物の Parkin タンパク質とそのホモログである出芽酵母由来の RPY1 タンパク質の機能解析を行った。その結果、両タンパク質が転写活性化能をもつことを明らかにするとともに、RPY1 は低浸透圧ストレスシグナルを受けてストレス応答遺伝子群の発現を制御していることを示した。また、両タンパク質の転写活性化能は種々のプロテインキナーゼにより調節を受けることも明らかにした。これらの成果は、RING-box タンパク質は一般に細胞外刺激を受けてストレス応答遺伝子の発現を制御する転写活性化因子であることを示しただけでなく、パーキンソン病の発症機構を分子レベルで解明する上で極めて重要な知見を提供するものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。