The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Isolation and Characterization of Two Novel p53-inducible Genes, TP53TG3 and p53RFP
Author(s)	呉, 晶晶
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44068
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	呉（うん）　晶（ちん）　晶（ちん）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　１７５４２　号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 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	Isolation and Characterization of Two Novel p53-inducible Genes, *TP53TG3* and *p53RFP* (p53 によって誘導される新しい遺伝子 TP53TG3 と p53RFP の単離と解析)
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　近藤　寿人 （副査） 教　授　野島　博　　教　授　岡田　雅人

論　文　内　容　の　要　旨

p53 が腫瘍の進展を抑制するメカニズムは従来考えられていたよりかなり複雑である。生理的条件下で p53 およびその標的遺伝子は細胞周期停止、アポトーシス、DNA 修復及び血管新生の阻害に関する機能を有する。更に p53 は標的遺伝子の転写を介して蛋白質の分解にも関与する。

私はラクトースオペロン制御下に野生型 p53 を発現する大腸癌細胞株（SW480）を用いて蛍光標識ディファレンシャルディスプレイ法により野生型 p53 により発現が誘導される遺伝子を単離した。ここに新規 p53 誘導遺伝子 TP53TG3（TP53 target gene 3）の単離およびにその機能解析について述べる。

TP53TG3 は 16 番染色体 p13 に位置し、選択的スプライシングにより複数の転写産物を発現する。そのうち２つの主要な転写産物である TP53TG3a 及び TP53TG3b はそれぞれ 124、132 アミノ酸残基からなる蛋白質をコードしその発現は精巣で優位である。MYC タグを結合した TP53TG3 を発現するプラスミドベクターを HeLa 細胞および H1299 細胞にトランスフェクションし 20 時間後に免疫染色で観察したところ、その蛋白質は主に細胞質に存在したが、40 時間後に観察した際にはいくつかの細胞で核に集積していた。この蛋白質には既知の核移行シグナルが存在しないため、他の蛋白と複合体を形成して核に移行し、p53 によるシグナル伝達の重要な因子として機能しているものと推測される。

また、私は更なる p53 により発現が誘導される候補遺伝子群を単離するため変異型 p53 を有するグリオーマ細胞株 U373MG に外来性に p53 を発現させその遺伝子発現を cDNA マイクロアレイ法を用いて解析した。この方法により我々は新規の p53 標的遺伝子 p53RFP（p53 inducible RING-finger protein）を単離した。

この遺伝子は 6 番染色体の短腕に位置した。主要な p53RFP の転写産物は 4,770 塩基からなり 303 アミノ酸残基の蛋白質をコードしていた。SMART、Pfam、BLOCKS を用いたデータベース解析でこの蛋白質は RING finger-IBR (In Between RING fingers)-RING finger モチーフを有していた。現在までに報告されている知見によると RING-finger ドメインを有する蛋白質はユビキチン経路における E3 ligase または E3 複合体の重要な補助因子として機能するものと考えられている。p53RFP の発現量と $p21^{WAF1}$ 蛋白質量は負の相関を示した。このことは p53RFP が直接 $p21^{WAF1}$ に作用しユビキチン化することによりこの蛋白質の分解に深く関与していることを示唆している。

p53RFP は MDM2 に次ぐ２つめの E3 ligase として機能する p53 標的遺伝子である。この結果は p53 が p53RFP の発現誘導を介して $p21^{WAF1}$ を不安定化することにより新たな細胞周期制御機構に関与していること示唆する。

論文審査の結果の要旨

p53 蛋白質は、細胞増穂、DNA 修復、プログラム細胞死、がん抑制などにおいてゲノム活性の調節の要となる機能をもった調節蛋白質であり、DNA に直接に結合してさまざまの機能にかかわる遺伝子の転写を調節する。本研究は、p53 によって転写を直接に制御されるヒトの遺伝子 *TP53TG3* 及び *p53REP* を同定し、それらによってコードされる蛋白質の性質を明らかにしたものである。

申請者は、p53 によって調節される遺伝子を、p53 の強制発現によって発現が著しく上昇する遺伝子として単離した。そのような遺伝子の検出のために、蛍光 Differential Display 法を採用して *TP53TG3* 遺伝子を同定し、cDNA マイクロアレイを用いて *p53REP* 遺伝子を同定した。いずれの遺伝子についても、申請者は、p53 が直接的に転写を活性化することを証明した。

申請者は更に、p53REP 蛋白質のアミノ酸配列から、それが Ring Finger 構造をもつとともにユビキチン化における E3 リガーゼ活性を持つことを予想した。そして p53REP が $p21^{WAF1}$（細胞周期を G1 期で停止させる蛋白質）をユビキチン化してその分解を促すことを示し、p53 による $p21^{WAF1}$ 活性の調節の分子機構を担う可能性を示した。

本研究は、p53 によって転写調節される遺伝子群を同定することによって、p53 による細胞機能の調節機構の理解に重要な基礎を与えたものである。博士（理学）の学位論文として十分価値があるものと認める。