

Title	Transcriptional and Ubiquitin Ligase Activities of a RING Protein RBCK1 Regulated by Protein Kinases and Its Splice Variant Lacking the RING Motif
Author(s)	立松, 健司
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49752">https://hdl.handle.net/11094/49752</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;大阪大学の博士論文について&lt;/a&gt;</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	たてまつけんじ 立松健司
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 22529 号
学位授与年月日	平成20年9月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Transcriptional and Ubiquitin Ligase Activities of a RING Protein RBCK1 Regulated by Protein Kinases and Its Splice Variant Lacking the RING Motif (転写活性とユビキチンリガーゼ活性を持つRINGタンパク質RBCK1のタンパク質リン酸化酵素とRINGモチーフを欠損したスプライス変異体による制御)
論文審査委員	(主査) 教授 谷澤 克行 (副査) 教授 金澤 浩 教授 岡田 雅人 准教授 黒田 俊一

## 論文内容の要旨

RING-IBR タンパク質 RBCK1 は、プロテインキナーゼ C (PKC)  $\beta$  との相互作用によりラット脳の cDNA ライブラリーから酵母 Two-Hybrid アッセイによりスクリーニングされた。本研究では、RBCK1 の転写活性化能の機序について検討を行い、この研究過程において新たにユビキチンリガーゼ活性もあわせ持つことも発見した。RBCK1 は、RING フィンガーモチーフと IBR モチーフを必須とする転写活性化能を有しており、この転写活性化能は、PKA により促進され、MEK1、MEKK1 により抑制された。

RBCK1 のクローニングの過程において、全長 260 アミノ酸残基で N 末端側 240 アミノ酸残基が RBCK1 と相同なスプライス変異体 RBCK2 がクローニングされた。RBCK2 は RING-IBR ドメインを持たず、それ自身は転写活性化能を示さないが、RBCK1 と相互作用することにより RBCK1 の転写活性を抑制することが分かった。転写因子の多くは、しばしば細胞内局在を制御されることにより転写活性化能が調節されている。そこで内在性 RBCK1 の細胞内局在を調べたところ、細胞質と核の両方に局在しており、核内では急性前骨髄球性白血病の原因遺伝子産物 PML と共局在し顆粒状の凝集体 (Nuclear Body) を形成していた。また、核外移行シグナル配列レセプターの機能を阻害するレプトマイシン B で細胞を処理すると細胞質の RBCK1 は核内に移行した。このことから、RBCK1 は核外移行シグナルをもち、核と細胞質をシャトリングすることが示唆された。次に RBCK1 の核外移行シグ

ナル配列に変異を導入したところ、RBCK1 は核内で Nuclear body に局在し、その転写活性は野生型 RBCK1 に比べて上昇した。さらに RBCK1 は Nuclear body 構成タンパク質である PML、CBP と相互作用し、CBP により転写活性が上昇し、この CBP 依存的な転写活性上昇は PML により抑制されることがわかった。

多くの RING フィンガータンパク質は、ユビキチンリガーゼ活性をもつことが報告されている。本研究では、RBCK1 が自己ユビキチン化活性を有し、ユビキチン・プロテアソーム経路により分解を受けることを発見した。RBCK1 の自己ユビキチン化活性は RBCK2 との相互作用および PKC $\beta$  によるリン酸化により阻害され、その結果として RBCK1 はプロテアソームによる分解を受けずに細胞内に蓄積された。いくつかの RING タンパク質は、RBCK1 と同様に転写活性とユビキチンリガーゼ活性をあわせ持ち、CBP と結合することが報告されている。また CBP は、ユビキチン鎖の伸長を促進することも報告されていることから、RBCK1 は Nuclear body において CBP を足場として転写因子のユビキチン化にかかわっていることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

申請者の立松健司氏は、プロテインキナーゼ C  $\beta$  (PKC  $\beta$ ) と結合するRINGタンパク質の一種 RBCK1 が転写活性化能とユビキチンリガーゼ活性を併せもつことを明らかにするとともに、両活性にRINGモチーフが必須であること、両活性が種々のプロテインキナーゼにより調節を受けることを見出した。特に、PKC  $\beta$  によるリン酸化により、RBCK1 のユビキチンリガーゼ活性は完全に阻害された。また、RBCK1 分子内の核-細胞質間移行シグナルにより核内のタンパク質凝集体に移行したRBCK1は、転写因子PML及びCBPと相互作用することを示し、このCBPとの相互作用がRBCK1の転写活性化に重要であることを発見した。さらに、RINGモチーフを含まないスプライス変異体RBCK2が細胞質内でRBCK1と結合してRBCK1の核移行を阻害し、両活性を抑制することも見出した。これらの知見は、核内においてユビキチン・プロテアソーム系と転写調節系がRINGタンパク質を介して密接に連携することを初めて示したものである。研究結果は質・量共に十分で、関連する研究領域の今後の発展にも大きく寄与するものである。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。