



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	https://hdl.handle.net/11094/49752
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

【113】

氏 名	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ニ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)β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ニ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と共に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、ユビキチニ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が自己ユビキチニン化活性を有し、ユビキチニン・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の自己ユビキチニン化活性はRBCK2との相互作用およびPKCβ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ニ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、ユビキチニ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ニ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Cβ(PKCβ)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ニ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、PKCβによるリン酸化により、RBCK1のユビキチニ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ニン・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。