



# 岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

## レチノイドX受容体とRINGタンパク質の相互作用とそのユビキチン化・転写への効果

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-03-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 岡野, 幸雄, 吉岡, 孝, 武藤, 吉徳 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/2845">http://hdl.handle.net/20.500.12099/2845</a>

レチノイド X 受容体と RING タンパク質の  
相互作用とそのユビキチン化・転写への効果

16570093

平成16年度～平成17年度科学研究費補助金  
(基盤研究 (C)) 研究成果報告書

平成18年4月

研究代表者 岡野幸雄

岐阜大学大学院医学系研究科教授

## はしがき

ユビキチン付加酵素(UBE2E2)の binding partner としてクローニングされた RING-finger タンパク質 RNF8 がレチノイド X 受容体(RXR)と相互作用することを明らかにした。RNF8 及び RXR それぞれの部分欠失変異体を作製して、これらの相互作用に必要な領域を、two-hybrid assay や in vitro 結合実験で明らかにした。野生型 RNF8 は核に局在するが、N 末側欠失変異体( $\Delta$ N)及び RING 構造を破壊した変異体(C403S)は核外に局在した。EGFP-RXR と BFP-RNF8 を COS 細胞に同時に導入して、FRET 法によってこれらの相互作用を明らかにした。一方、RNF8 は RXR の転写活性を高め、この転写活性化にはリガンドは必要ではなかった。また、 $\Delta$ N や C403S では転写活性化作用が認められず、これらの RNF8 変異体が核に局在しないことと一致した。また、RNF8 の RING 構造も転写活性化に必要であり、RING 構造を介して他のタンパク質と相互作用することの重要性も示唆された。

さらにスペインのグループとの共同研究で以下のことを明らかにした。ユビキチン付加酵素の UBC13 を bait とした two-hybrid assay を行い、variant E2 の UEV、及び RNF8、KIAA00675、CHFR、KF1 及び ZNRF2 の RING-finger タンパク質をクローニングした。UEV は UBC13 とヘテロ 2 量体を形成し、ユビキチンの通常の Lys48(K48)ではなく K63 を介してイソペプチド結合を形成することが知られている。一方、野生型ユビキチン(UbWT)、UbK48,63R、UbK29,63R、及び UbK29,48R を用いて RNF8 の自己ユビキチン化の実験、UBC13 の dominant-negative 変異体(UBC13-C87A)と UbK29,48R を共発現させた実験から、UBC13 による RNF8 のユビキチン化が K63 を介したものであり、K48 を介したものではないことが明らかとなった。

## 研究組織

研究代表者：岡野幸雄（岐阜大学大学院医学系研究科教授）

研究分担者：武藤吉徳（岐阜大学医学部教授）

研究分担者：吉岡 孝（岐阜大学大学院医学系研究科助手）

## 交付決定額

	直接経費	合計
平成16年度	1,900,000円	1,900,000円
平成17年度	1,800,000円	1,800,000円
総計	3,700,000円	3,700,000円

## 研究発表

### (1) 学会誌等

- 1) Takano Y, Adachi S, Okuno M, Muto Y, Yoshioka T, Matsushima-Nishiwaki R, Tsurumi H, Ito K, Friedman.S.L, Moriwaki H, Kojima S & Okano Y: The RING finger protein, RNF8, interacts with retinoid X receptor  $\alpha$  and enhances its transcription-stimulating activity. *J Biol Chem*, 279, 18926-18934 (2004)
- 2) Sasai K, Katayama H, Stenoien DL, Fujii S, Honda R, Kimura M, Okano Y, Tatsuka M, Suzuki F, Nigg EA, Earnshaw WC, Brinkley WR, & Sen Subrata: Aurora-C kinase is a novel chromosomal passenger protein that can complement Aurora-B kinase function in mitotic cells. *Cell Motil Cytoskelet*, 59, 249-263 (2004)
- 3) Kimura M, Uchida C, Takano Y, Kitagawa M & Okano Y. Cell cycle-dependent regulation of the human aurora B promoter. *Biochem Biophys Res Commun*, 316, 930-936 (2004)
- 4) Mori K, Muto Y, Kokuzawa J, Yoshioka T, Yoshimura S, Iwama T, Okano Y,

- & Sakai N.: Neuronal protein NP25 interacts with F-actin. *Neurosci Res*, 48, 439-446 (2004)
- 5) Mori K, Yoshioka T, Kokuzawa J, Yoshimura S, Iwama T, Muto Y, Okano Y, & Sakai N.: Neuronal protein NP25 increases during neural differentiation. *Acta Sch Med Univ Gifu*, 52, 14-19 (2004)
- 6) Plans V, Scheper J, Soler M, Loukili N, Okano Y, & Thomson TM.: The RING finger protein RNF8 recruits UBC13 for lysine 63-based self polyubiquitylation. *J Cell Biochem*, 97, 572-582 (2006)
- 7) Kuwata H, Yoshioka T, Muto Y, Kuwata K, & Okano Y.: Structural and functional characterization of NP25, a single CH domain protein. *Acta Sch Med Univ Gifu*, 54, 1-7 (2004)

( 2 ) 口頭発表

なし

( 3 ) 出版物

- 1) Kimura M, & Okano Y. Function of Aurora kinases in mitosis and cancer. In : Miki T. (Ed) "Signal transduction of cell division" Research Signpost, Kerala, India. pp141-169 (2005)
- 2) Muto, Y. and Okano, Y. Immuno-FRET microscopy of the actin-binding protein NP25 in situ. In: A. Mendez-Vilas (Ed.), "Current issues on multidisciplinary microscopy research and education", Formatex Research Centre, Badajoz, Spain. pp39-44 (2005)

## 研究成果

次ページ以降に別刷を掲載して研究成果とする。