



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

## ステロイド受容体のユビキチン化の分子機構

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 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/622">http://hdl.handle.net/20.500.12099/622</a>

# は し が き

我々は、自らクローニングした N 末伸長型ユビキチン付加酵素(UBE2E2)の細胞生物学的な機能を解明するために研究を行ってきた。この目的を達成するために、UBE2E2 を bait とした yeast two-hybrid screening を行い、得られた数個の陽性クローンの中から ARA54 と RNF8 について解析した。これらの遺伝子は RING-finger タンパク質をコードしており、bait に用いた UBE2E2 と特異的に相互作用した。ARA54 と RNF8 は、細胞内で発現させると、プロテアソーム阻害剤で発現が亢進し、HA-ユビキチンとの同時細胞内導入によってユビキチン化(Ub 化)されることが明らかとなった。また、大腸菌や昆虫培養細胞に発現させたタンパク質を用いて in vitro でも Ub 化されることが、E3 として作用することが明らかになった。ARA54 はアンドロゲン受容体(AR)と会合することが報告されているが、AR の Ub 化に関与するとの証拠は得られなかった。また、ARA54 と RNF8 の細胞内局在を明らかにした。

我々は、RNF8 がステロイド受容体スーパーファミリーの 1 つであるレチノイド X 受容体(RXR)と会合することを明らかにした。RNF8 及び RXR の部分欠失遺伝子を構築し、two-hybrid assay により両者のいずれも N 末で会合することを明らかにした。RNF8 は自己 Ub 化されて E3 として作用するが、RXR を標的とするとの結果は得られなかった。しかし、UBE2E2 によって RXR の Ub 化は亢進し、この E2 が作用することが示唆された。一方、RNF8 は、RXR の転写活性を有意に亢進させた。この転写活性化作用はリガンドの有無に関係なく、RNF8 の N 末欠失変異( $\Delta N$ )や RING 構造を壊した変異タンパク質(DN)では活性化を認めなかった。さらに、RNF8 の wild type は核に局在するが、 $\Delta N$  や DN は核に局在しないことが明らかとなった。