

論文内容の要旨

申請者氏名 友田紀一郎

本論文は、高等動物細胞の増殖制御において重要な役割を果たしている細胞周期制御因子 Cdk インヒビター p27^{Kip1} に会合する新規蛋白質の解析を通して、p27^{Kip1} の作用制御機構を明らかにしたものである。

第 1 章では、高等動物細胞の増殖制御を担う細胞周期制御機構について、特に G1 期制御に焦点をあて、これまでの研究を概観するとともに、その流れのなかで、本研究のテーマである Cdk インヒビター p27^{Kip1} に着目するに至った背景を説明している。

第 2 章では、実験系、材料ならびに方法について、yeast two-hybrid screen 法、各種発現プラスミドの作成、細胞系、蛋白質の解析法、遺伝子発現の解析法などを述べている。

第 3 章では、まず、yeast two-hybrid screen により、p27 に結合するものとして同定した 3 種類の蛋白質遺伝子 (Kic1, 2, 3) を解析し、それぞれ Jab1、Grb2、L-asparaginase をコードすることを明らかにした。さらに、Grb2、Jab1 については、cDNA ライブラリーから全長をクローニングするとともに、Cdk インヒビター p27^{Kip1} の作用制御機構におよぼす影響について詳細な解析を行った。

Jab1 は 38kDa の蛋白質で、転写因子 c-Jun や JunD と結合し、その転写活性を上昇させる分子である。まず、Jab1 が、細胞周期制御因子のうち p27 特異的に結合することを見い出し、その結合領域を決定した。つぎに、Jab1 の過剰発現により、p27 分子の安定性が減少することを見い出し、その機構についての詳細な解析を進めることにより、p27 は Jab1 の存在によりプロテアソーム依存的に細胞質に運ばれること、そしてこの移行が p27 の分解に必須であることを明らかにした。

Grb2 は SH2 および SH3 ドメインからなるアダプター分子であり、レセプター型チロシンキナーゼの下流に存在し、増殖因子からのシグナルを Ras に伝える機能をもっている。細胞内において、Jab1 存在下で p27 と Grb2 が結合することを確認するとともに、Grb2 と結合することにより p27 が分解を受け易くなることを明らかにした。すなわち、上での知見と併せ、p27 は、Jab1 により核外移行され、Grb2 と結合することにより分解を受けることを明らかにした。

第 4 章では、以上の知見に基づいて、Cdk インヒビター p27^{Kip1} の制御機構についての要約を行い、細胞周期制御ならびに細胞増殖制御機構との関連で、考察を行っている。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 友田紀一郎

Cdk インヒビター $p27^{Kip1}$ は、細胞周期特に G1 期制御因子として、高等動物の細胞増殖制御において重要な役割を果たしている。従って、その活性制御機構を理解することは、増殖制御機構のみならず細胞のがん化や分化の機構を理解するうえでも大きな手がかりとなることが期待される。本論文は、 $p27$ に結合する因子として 3 種類の蛋白質 (Jab1、Grb2、L-asparaginase) を同定するとともに、Jab1、Grb2 について、それらが $p27$ の活性を制御する機構について詳細な解析を行うことにより、以下の成果を上げている。

1) Jab1 は 38kDa の蛋白質で、転写因子 c-Jun や JunD と結合し、その転写活性を上昇させる分子として報告されていた。まず、Jab1 が、細胞周期制御因子のうち $p27$ 特異的に結合することを見い出し、その結合領域を決定した。興味深いことに、Jab1 の過剰発現により、 $p27$ 分子の安定性が減少することを見い出し、その機構についての詳細な解析を進めることにより、 $p27$ は Jab1 の存在によりプロテアソーム依存的に細胞質に運ばれること、そしてこの核外移行が $p27$ の分解に必須であることを明らかにした。この結果、Jab1 により、 $p27$ による G1 期停止が部分的に解除される。なお、Jab1 は、細胞内で Cop9/シグナロソーム複合体を形成している。この複合体は植物においては光形態形成に関与することが明かとなっていたが、動物細胞内での機能は未知であった。本研究での知見は、その機能解明のための大きな手がかりとなるものである。

2) Grb2 は SH2 および SH3 ドメインからなるアダプター分子であり、レセプター型チロシンキナーゼの下流に存在し、増殖因子からのシグナルを Ras に伝える機能をもっている。Jab1 存在下で、 $p27$ が核外へ移行し Grb2 と結合することを見い出すとともに、Grb2 と結合することにより $p27$ が分解を受け易くなることを明らかにした。このことは、細胞内シグナル伝達と細胞周期制御を結び付ける手がかりとなるものである。

以上、本論文は高等動物細胞の細胞周期制御に関わる Cdk インヒビター $p27^{Kip1}$ の作用制御機構を分子レベルで明らかにし、細胞の増殖制御機構を明確に示したもので、細胞生物学の学術上、応用上貢献するところが大きい。よって、審査員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）学位論文として価値あるものと認めた。