

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

A novel nucleolar protein interacts with ribosomal protein S19

(リボソームタンパク質 S19 と結合する新規核小体タンパク質)

氏名 前田紀子 

【目的】 リボソームタンパク質 S19 (RPS19) は、タンパク質合成装置であるリボソームを構成する 79 種のタンパク質のひとつであるが、最近ダイヤモンドブラックファン貧血症 (DBA) 患者の原因遺伝子のひとつとして報告された。この貧血症は赤血球分化の障害により重篤な貧血を呈する先天性の疾患で、DBA 患者の 25% に RPS19 遺伝子の変異が認められる。これは RPS19 がリボソームに組み込まれずに血球分化に対し、何らかの機能をしていると考えられるが、その役割は全くわかっていない。RPS19 と結合するタンパク質を検索することで、血球分化に対する RPS19 の役割の手がかりを得ることを目的にこの研究を行った。

【材料と方法】 酵母ツーハイブリッド法により RPS19 と結合するタンパク質を単離し、その解析を行った。

酵母ツーハイブリッド法： RPS19 の cDNA を

「bait」にしてマウス cDNA ライブラリーのスクリーニングを行い、単離された陽性クロー

ンの塩基配列を決定した。

結合の特異性： GST 融合 RPS19 を作製し、*in vitro* で転写・翻訳させた S19BP との結合を pull-down 法で調べた。

各種臓器での発現状況： マウス各種臓器 mRNA のドットブロットパネルを用いノーザンハイブリダイゼーション法を行った。

間接的免疫蛍光染色法： HA-または Myc- タグタンパク質を持つ HA-RPS19 と Myc-S19BP を COS-7 細胞内に一過性に発現させた。抗 HA、抗 Myc の一次抗体と反応後、FITC 及び TRITC で蛍光ラベルした二次抗体で二重染色し、蛍光顕微鏡により細胞内での分布を観察した。

【結果と考察】 単離された 3 個の陽性クローンは塩基配列解析の結果、同一のクローンであった。このクローンは分子量約 16,000 の塩基性タンパク質をコードしていると予想されたが、N 末側の短いポリリジンを含む核小体局在シグナル以外には特徴的なモチーフを持たない新規のタンパク質であった。Pull-down 法

による試験管内結合実験でこのタンパク質は RPS19 と特異的に結合した。また酵母菌体内での結合実験でも他のいくつかのリボソームタンパク質との結合はみられず、RPS19 に対して特異的であった。これらのことから、この新規のタンパク質を S19 結合タンパク質 (S19BP) と命名した。S19BP の発現はマウス各種臓器で見られたが、顎下腺、副睾丸に特に多かった。S19BP を RPS19 と共に COS-7 細胞に強制発現させると、両者は核小体に共局在していたが、S19BP は核質にも分布していた。

S19BP の機能は不明であるが、臓器での発現パターンからは特異的な機能が考えられる。また細胞内での局在からリボソームのアッセムブリに関わる分子シャペロンの可能性もあるが、RPS19 の核小体局在シグナルに変異がある DBA 患者の報告もあり、S19BP は RPS19 とともに DBA 発症に関わっている可能性も考えられる。今後はこれらの血球分化、DBA 発症との関係を調べていきたい。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	前田紀子
論文審査委員	審査日	平成 17 年 12 月 27 日	
	主査教授	成田 研二 (成田)	
	副査教授	森 直樹 (森)	
	副査教授	松崎 吾朗 (松崎)	
(論文題目)			
A novel nucleolar protein interacts with ribosomal protein S19.			
(論文審査結果の要旨)			
上記論文に対し、研究に至る背景と目的、論文の内容とその学術的水準、研究成果とその意義について慎重に審査し、次のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的：Diamond-Blackfan anemia の患者の 25% にリボソームタンパク質 S19 遺伝子の異常が報告されているが、それ以外の原因遺伝子は不明である。一方、多くのリボソームタンパク質がリボソームの外で遺伝情報の発現調節などに関わっていると考えられるようになっている。このような背景から、この貧血症の他の原因も S19 と関りのあるタンパク質にある可能性が高いと考えられる。			
本研究は S19 の造血への関りと、S19 以外の原因遺伝子同定への手がかりを探ることを目的として、マウスを用いて行なわれた。			
2. 論文内容と学術的水準：酵母ツーハイブリッド法によってリボソームタンパク質 S19 と特異的に結合する全く新しいタンパク質を発見し、cDNA の塩基配列からタンパク質の構造を決定した。またデータベース上の配列データから遺伝子を同定し、マウス DNA から PCR により分離した遺伝子の構造を決定した。構造上の特徴からこのタンパク質の機能を推定することは出来なかった。このタンパク質は顎下腺などに強く発現し、核内特に核小体に強く局在することが示された。			
新しい方向から遺伝性疾患の原因遺伝子を探ろうとした本研究は国際的に評価される高い水準にあるもの判断される。			

- 備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 3 *印は記入しないこと。

3. 研究成果と意義：リボソームタンパク質 S19 と結合する新しいタンパク質を発見しその構造を明らかにした。また、その遺伝子構造を解析し、発現の組織特異性や細胞内局在を明らかにして、その機能解明への手がかりを与えた。この成果はリボソームタンパク質の新しい生理機能の解明に極めて有意義なものである。

以上の結果から、本研究は学位授与に充分値するものと判断した。