

Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) 由来 k-cyclin の制御機構
○吉岡 秀哲¹, 片山 和浩¹, 三橋 純子¹, 杉本 芳一¹, 野口 耕司¹ (慶應大薬)

【背景・目的】Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) にコードされる k-cyclin は、KSHV の潜伏感染時に発現するタンパク質の一つである。k-cyclin は cyclin D2 のホモログであり、CDK6 と結合することが知られている。本研究では、k-cyclin のタンパク質分解機構および k-cyclin と CDKN2A/p16^{INK4a} との相互作用について検討した。

【方法】k-cyclin、CDK6 を単独に発現、あるいは共発現する HEK293 細胞を作成した。これらの細胞をプロテアソーム阻害剤である MG132 で処理し、k-cyclin の発現量の変動を western blot で調べた。また、k-cyclin 発現細胞を p16^{INK4a} の siRNA で処理した後に k-cyclin を抗 FLAG M2 抗体で免疫沈降し、沈降物中の CDK6 の量および kinase 活性を調べた。

【結果および考察】k-cyclin 発現細胞においては、MG132 処理により、ポリユビキチン化 k-cyclin が検出された。一方、k-cyclin/CDK6 共発現細胞では、MG132 を処理してもポリユビキチン化 k-cyclin は検出されなかった。これにより、CDK6 と結合していない free の k-cyclin は、ユビキチン・プロテアソーム系で分解されると考えられた。k-cyclin 発現細胞を p16^{INK4a} の siRNA で処理したところ、細胞全体の CDK6 の発現量は変わらなかったが、k-cyclin と共沈してくる CDK6 の量は著しく増加した。また、k-cyclin を抗 FLAG M2 抗体で免疫沈降した沈降物の kinase 活性が増大した。これにより、p16^{INK4a} は通常では k-cyclin と CDK6 の結合および kinase 活性を負に制御していると考えられた。本研究で明らかになった k-cyclin の細胞内における制御機構は、G₁ cyclin である cyclin D の制御機構と非常に類似したものであった。