

主　論　文　の　要　旨

論文題目 Kap121p による細胞周期依存的核移行機構の構造基盤

氏　名　小林　純也

論　文　内　容　の　要　旨

すべての真核生物において核-細胞質間の物質輸送とその厳密な制御は遺伝子発現、シグナル伝達、細胞分化や増殖などの多様な生理機能の調節のために必須である。この輸送は核膜を貫通する巨大な蛋白質複合体である核膜孔複合体を通して起こる能動輸送であり、多様な輸送経路は可溶性の輸送因子によって担われている。その方向性の制御は G 蛋白質である Ran が輸送因子と cargo の結合と解離の制御を行うことで成立している。Closed mitosis を行う出芽酵母などの種においては細胞分裂時にも多くの有糸分裂に関わる因子の物質輸送が正常な細胞周期の進行のために必須である。出芽酵母の核移行受容体 Kap121p による cargo の核内輸送が細胞周期依存的に制御されることが知られている。これは核膜孔複合体の構成要素の一つである Nup53p が M 期特異的に Kap121p と直接結合することで起こる（Nup53p は Kap121p と特異的に結合する領域 KBD:Kap121p Binding Domain を有している）と考えられている。間期においては Nup53p の KBD は他の蛋白質との相互作用によりマスクされているため、Kap121p は正常に cargo を核内に輸送する。一方、M 期になると NPC 内部で構造が再編成されることで、今までマスクされていた KBD が表面に露出する。それにより Nup53p が Kap121p と結合できるようになり、NPC 内部にトラップするため Kap121p による核移行が阻害されるという作業仮説が建てられている。だがその分子メカニズムは未解明である。

近年、核膜孔複合体が単なる静的な穴を形成するのではなく、シグナルに応じて様々な変化する動的な蛋白質複合体であるとの認識が深まる中で、本研究ではその新しい一面を見ることができる点で斬新である。また細胞周期進行に

直接関わる点で生物学的にも興味深い。この Kap121p による核移行阻害が spindle check point (SAC) に関与しており、spindle のための核内環境の調節のために必要であることが示唆されている。本研究では Kap121p による核内移行の制御機構の分子メカニズムを原子レベルで解明することを目的とし、X 線結晶解析を用いて Kap121p 単独、cargo との複合体、Nup53p との複合体、RanGTP との複合体の立体構造を決定した。

Kap121p は 24 の HEAT リピートからなる右巻きの超らせん構造をしており、本研究で初めてその構造を解明した。Cargo との複合体の結晶構造から、Kap121p が特異的に認識する核移行シグナル配列 (KV/Ix_{1,2}K/H/R) を同定し、Kap121p の中央部の内部 (HEATs 8-12) が cargo との結合部位であることを明らかにした。また Kap121p と Nup53p の結合様式は cargo のそれと完全に同一であった。よって Nup53p は cargo と直接競合することで Kap121p と結合するため、Kap121p による核移行を阻害するということが示唆された。さらに RanGTP との結合により Kap121p 超らせん構造の N 末側のアーチが大きく構造変化していた。RanGTP 複合体と cargo 複合体の構造比較から、核内で起こる RanGTP による cargo の解離は、Kap121p 超らせん構造の cargo 非結合型への構造変化および cargo との立体障害による直接的な追い出しの組み合わせにより active に起こることが示唆された。

以上のように本研究では、新規の核移行受容体 Kap121p の結晶構造およびその核移行サイクル (核移行シグナル認識機構および RanGTP による cargo 解離機構) を解明した。さらに、核膜孔複合体の動的特性による生理機能調節機構 (核-細胞質間輸送の新しい制御機構) の一端の構造基盤を確立した。