

## 論文審査の結果の要旨

氏名：地引和也

博士の専攻分野の名称：博士（理学）

論文題目：核輸送受容体 **importin  $\alpha$**  の多機能性を担う **IBB domain** に関する研究

審査委員：(主査) 澤 田 博 司

(副査) 岩 本 政 明

(副査) 安 原 徳 子

真核細胞では、核は核膜によって細胞質と隔てられており、タンパク質は細胞質で翻訳される。そのため、核タンパク質は核膜に存在する核膜孔を通過して核内に運ばれる。しかし、多くの核タンパク質は拡散によって核膜孔を通過できないため、核輸送受容体によりエネルギー依存的に核内へ輸送される。核輸送受容体の一種である **importin  $\alpha$**  は、細胞質において輸送基質となる核タンパク質の NLS (**Nuclear Localization Signal**) と結合し、別の核輸送受容体である **importin  $\beta$**  と三者複合体を形成し、核タンパク質を核内へ輸送する。**importin  $\alpha$**  の構造の大部分は **ARM (Armadillo) repeat** と呼ばれる 10 回繰り返し構造をとっており、その中に 2 か所の NLS 結合部位が含まれる。N 末端には **importin  $\beta$**  との結合ドメインとして知られる **IBB (importin  $\beta$  binding) domain** が存在し、C 末端には **Nup50 (Nucleoporin 50)** や **CAS (cellular apoptosis susceptibility)** との結合部位が含まれている。また、**importin  $\alpha$**  には 7 種類のファミリー遺伝子が存在し、ファミリーメンバーごとに発現する組織が異なることで核輸送の選択性につながり、様々な生命現象における核機能制御における分子基盤となっている。更に、**importin  $\alpha$**  は、このような選択的な核輸送機能に加えて、紡錘体形成やラミン重合、核膜形成、タンパク質分解、ストレス応答、遺伝子発現、細胞表面機能、mRNA 関連機能など様々な機能を持つことが知られている。そのため、細胞活動における **importin  $\alpha$**  の役割を包括的に理解するためには核輸送及び非核輸送機能の分子メカニズムと機能間のバランス調整の仕組みを理解することが重要となる。しかし、そのような非核輸送機能の詳細な分子メカニズムを始め、細胞内での機能間の切り替え機構はほとんど明らかになっていない。本研究は、**importin  $\alpha$**  が関与する非核輸送機能の分子メカニズムと核輸送及び非核輸送機能の全体像の解明の一環である。特に本論文では、**importin  $\alpha$**  の非核輸送機能であるクロマチン結合と **importin  $\alpha$**  の多機能性を担う **IBB domain** に着目し、各種の実験やバイオインフォマティクス解析などを行い、その結果をまとめたものであり、以下の 4 章からなっている。

第 1 章の序論では、2 章以降の研究目的を理解する上で重要な情報となる **importin  $\alpha$**  による核輸送機構、**importin  $\alpha$**  の機能ドメイン、**importin  $\alpha$**  のファミリー遺伝子などについて詳細に説明し、本研究の意義を明確にしている。

第 2 章では、**importin  $\alpha$**  とクロマチン DNA との相互作用に関する分子メカニズムについて詳細に調査を行っている。その結果、**importin  $\alpha$**  が **IBB domain** 内の核酸結合ドメ

インを介してゲノム DNA の複数の領域に直接結合すること、その結合は、マルチモーダル、静電的、半特異的であることを明らかにした。このような importin  $\alpha$  と DNA の結合様式から、importin  $\alpha$  が、促進拡散モデルによって DNA の周辺を移動する可能性を導き出した。また、NLS 輸送基質は、importin  $\alpha 2$  の存在下で DNA 上に局在することも明らかにしている。これらの知見から、importin  $\alpha$  がファミリー分子特異的に核タンパク質を核内へ輸送しつつ、核内では核タンパク質をクロマチン DNA 上に誘導するという新たな遺伝子調節モデルの存在を提言している

第 3 章では、機能的・構造的に多様性をもっている importin  $\alpha$  の IBB domain に対する結合パートナーとの相互作用や機能のスイッチングの分子メカニズムの解明を目的として、ファミリーごとに進化的に保存されたコンセンサス配列を作成し、既知の構造を鋳型にホモロジーモデリングなどのバイオインフォマティクス解析を行っている。また、IBB domain を構成する残基の生化学的性質を解析することにより、相互作用ごとに重要なアミノ酸及び生化学的性質の区別成功している。その結果、これまでに知られていなかった重要なアミノ酸残基を発見し、ファミリーメンバー間の複合体形成能力の違いの原因となるアミノ酸残基が予測された。さらに、importin  $\alpha$  はファミリーごとに機能間の切り替え効率が異なることも示唆している。

第 4 章の総括では、1 章から 3 章をまとめ、本論文で明らかにした importin  $\alpha$  の DNA との相互作用の特徴と輸送基質の多様性の観点から、様々な DNA 結合タンパク質の標的領域探索機構が解明される可能性について言及している。また、相互作用ごとに IBB domain の重要な残基が区別されたことにより、importin  $\alpha$  の特定の機能についての解析、importin  $\alpha$  ファミリータンパク質以外が持つ IBB domain 様配列の機能解析が可能になったことを述べている。さらに、生物種間で保存されているにもかかわらず、いずれの相互作用への寄与が小さいと予測された残基が見つかったことから、IBB domain の新規結合パートナーおよび importin  $\alpha$  の新規機能の発見という今後の展望にも言及している。

以上のように、本論文は、IBB domain の新たな機能を明らかとし、多数の結合パートナーと相互作用するという IBB domain の特性が詳細に示された。そして、新たに明らかにした importin  $\alpha$  の機能や特性は、転写因子が多大なゲノム配列からどのように効率よく短いシス配列を認識して結合するのか、といった重要な課題の答となり得る重要な発見であり、非常に価値のある成果で高く評価できる。

よって本論文は、博士（理学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以上

令和 4 年 2 月 7 日