

今本細胞核機能研究室

主任研究員 今本 尚子 (Ph.D.)



(0) 研究分野

分科会: 生物

キーワード: 核-細胞質間輸送、核膜孔複合体、インポーター、Hikeshi、細胞ストレス

(1) 研究背景と研究目標

核と細胞質の隔たりは真核生物の基礎であり、その隔たりを制御するのが核膜孔を介した核-細胞質間輸送である。核-細胞質間輸送はさまざまな細胞プロセスに関わる細胞内反応であり、細胞の恒常性維持を支える基礎であるとともに、発生・分化や疾患などの高次生命機能にも深く影響する。核-細胞質間輸送研究では、輸送反応の基本メカニズムが解明されており、最近になって輸送装置である核膜孔複合体の原子レベル構造情報が蓄積されてきているなど、研究の進展は著しい。その一方で、細胞内に存在する輸送経路多様性の問題は混沌としている。膨大な数の分子が核膜孔を絶え間なく流通しているが、それらが、多数の異なる運搬体で分担されて輸送されている。大部分の分子はImportinファミリーと総称される運搬体分子群で運ばれると考えられているが、それぞれの運搬体が何を運び、一つの細胞内に何故これほど多くの輸送経路が存在する意味があるのかといった基本的な問題が明らかになっていない。我々は核-細胞質間輸送の“輸送経路多様性”の問題に多角的に取り組むことで、核-細胞質間輸送で制御されるさまざまな細胞プロセスを具体的に示して行きたいと考えている。

(2) 2019年度成果と今後の研究計画(中長期計画2025年度まで)

(A) ヒト細胞におけるImportinファミリー輸送経路の機能解析

私たちは、特定の輸送経路で核内へ輸送される基質タンパク質を同定する技術を使って、12のImportin β ファミリー核内輸送運搬体の大規模基質同定を行うことで、Importinファミリーが構成するヒト細胞の核内輸送経路全てを網羅した。その結果、一つの輸送経路は基質タンパク質を介して多くの細胞プロセスに関与し、特定の細胞プロセスもまた複数の輸送経路に依存することが明らかになってきた (Fig.1)。また、それぞれの運搬体は機能の異なる基質を運ぶことがわかり、輸送経路が複雑に役割を分担していることが考えられる。同時に、一つ一つの運搬体が少なくとも200~300分子もの異なる基質を特異的に認識して運ぶこともわかってきた。驚いたことに、それぞれの運搬体の基質候補タンパク質の間には共通なコンセンサス配列が見つからない。

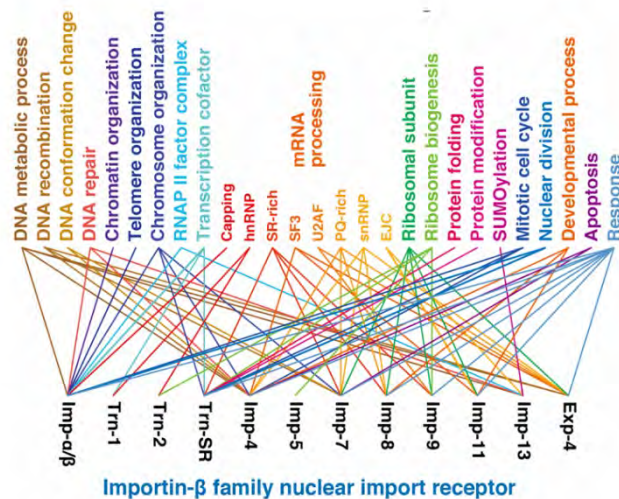


Fig.1 Importin β ファミリーに役割分担

このことから、運搬体が基質を認識するためには特定のアミノ酸配列や構造が必要であるという、教科書にも載っているこれまでの考え方が一般的には当てはまらないことがわかる。そのため、一つの運搬体がこれほど多くの基質を特異的に認識するメカニズムは何かという新しい問題が提起される。本年度は、運搬体-基質結合を明らかにする目的で、運搬体の蛋白質構造上の多様性の観点から研究を進めた。我々の解析で、一次構造上の相同性が高いにもかかわらず共通基質が少ないTransportin-SRとImportin-13の2つの運搬体について、基質結合部位の多様性を解析した。産総研グループとの共同研究によって、運搬体-基質の結合様式には、従来考えられていたような基質上の共通配列(核移行シグナル)と運搬体分子上の特定部位の定型的な結合を遥かに超えた多様性があり、運搬体-基質の特異性決定は予想以上に複雑であ

ることが明らかになってきた（論文投稿中）。

今後の計画 引き続き運搬体-基質の結合を、蛋白質構造上の多様性の観点から解析を進める。また、輸送経路が役割分担することの生理的重要性を明らかにしていきたい。細胞の分化や老化が誘導できる様々な細胞モデル系を用いて、運搬体の発現情報と、発現変化する運搬体の基質情報を組み合わせて解析することで、輸送の制御による細胞分化・細胞老化誘導のメカニズムを明らかにする。

(B) Hikeshi輸送経路の機能解析

私たちは、熱ストレスを受けると平常時の細胞で活発に働く Importin核-細胞質間輸送経路の活性が低下すること、それとは逆に熱ストレスを受けた細胞内で、平常時には働かない Hikeshi と名付けた輸送運搬体が担う核-細胞質間輸送経路が駆動することを見つけた。最初は、Hikeshi は、熱ストレス時に、分子シャペロン Hsp70 を細胞質から核に運ぶ活性のある運搬体として同定した。Hikeshi は酵母から高等動物に至るまで、真核生物で広く保存されたタンパク質だが、どの生物種においてもその機能は明らかにされてこなかった。一方で、Hikeshi をノックアウトすると、マウスは生まれるが生後すぐに致死になること、Hikeshi 点変異でヒト遺伝子疾患が誘引されるなど、熱ストレスをかけなくても高等真核生物で

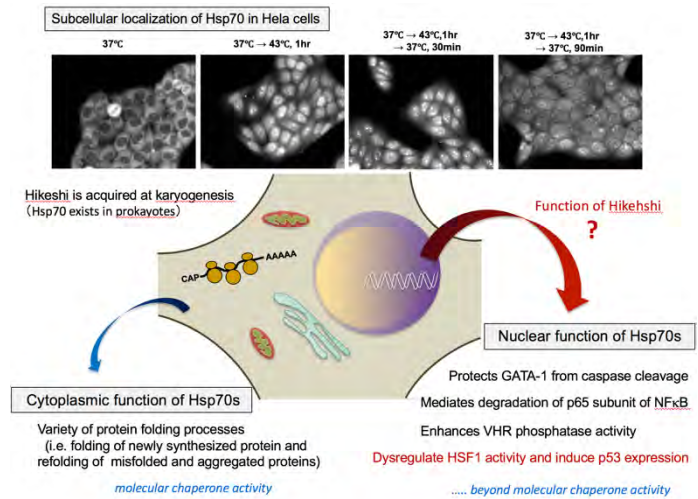


Fig.2 Hsp70の核と細胞質の機能

は Hikeshi の機能が損なわれると個体レベルで様々な影響が見られることがわかってきた。最近、Hikeshi が欠損すると Hsp70 の核内移行が熱ストレス時に阻害されるだけでなく、正常細胞においても Hsp70 の緩やかな核内移行が阻害されることがわかってきた。また、Hikeshi の構造情報や Hsp70 と Hikeshi の相互作用情報から、Hikeshi が核に運ぶのは Hsp70/Hsp70 だけではないかと考えるようになってきた。つまり、Hikeshi の機能欠損で見られる様々な影響は、核内 Hsp70 の喪失によるものであると考えることができる。しかし、細胞質における Hsp70 の機能は良く解析されているのに対して、Hsp70 の核内機能については殆ど情報がないのが現状である (Fig.2)。現在、Hikeshi ノックアウト細胞を使った遺伝子発現プロファイルなどの解析を通して、Hsp70 の核内ターゲットを探している。**今後の計画** 1) Hsp70 の核内ターゲットを同定することで、Hikeshi が担う核-細胞質間輸送経路の機能を明らかにすることを目指す。2) タンパク質毒性ストレスで Hikeshi 輸送経路が活性化する分子メカニズムを明らかにしていく。3) ゲノムワイドに Hikeshi 遺伝子と相互作用する遺伝子を同定して、Hikeshi 機能の解析の助けにしたい。4) 疾患モデルマウスの作成を通して、Hikeshi 点変異で白質ジストロフィーが誘発されるメカニズムを明らかにする。

(3) 研究室メンバー

(主任研究員)

今本尚子

(専任研究員)

小瀬真吾、高木昌俊、木村誠、水野武

(研究員)

小川泰

(2019年度)

(テクニカルスタッフ)

細野美子、米野久栄、渡邊愛

(研修生)

吉岡咲恵

(アシスタント)

徳久有子、高野雅栄

(4) 発表論文等

1. “Nuclear import of IER5 is mediated by a classical bipartite nuclear localization signal and is required for HSF1 full activation.”, Yamano, Sh\$, Kimura, M\$, Chen, Yu., Imamoto, N#, Ohki, R#, *Exp. Cell Res.* 386 (2020) 111686. \$ equal contribution, # equal correspondence
2. “Editorial overview: Cell nucleus”, Imamoto, N, Larson, D., *Curr. Opin. Cell Biol.* Jun;58:iii-iv (2019)
3. “Analysis of Function of Hikeshi” Imamoto N., NT Nucleocytoplasmic Transport “Airlie” meeting. Peebles Hydro, Scotland, August 25 – 30, 2019, invited talk

Laboratory Homepage

https://www.riken.jp/research/labs/chief/cell_dyn/index.html , <http://www2.riken.jp/celldynamics/index.html>