

53BP1 の核移行シグナルと importin- α 3 の共結晶構造 Crystal structure of importin- α 3 bound to 53BP1 NLS

松浦能行^{1,2,*}¹国際医療福祉大学薬学部, 〒324-8501 栃木県大田原市北金丸 2600-1²名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻, 〒464-8602 名古屋市千種区不老町Yoshiyuki MATSUURA^{1,2,*}¹Department of Pharmaceutical Science, School of Pharmacy, International University of Health and Welfare, 2600-1 Kitakanemaru, Ohtawara City, Tochigi 324-8501, Japan²Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8602, Japan

1 はじめに

真核細胞において、核-細胞質間の高分子能動輸送は、細胞核機能とその制御を支える重要なプロセスであり、核膜を貫通する核膜孔複合体を通しておこる。

細胞質から核へ数多くのタンパク質を輸送する運搬体タンパク質である importin- β :importin- α ヘテロダイマーは、まず細胞質で積み荷タンパク質(cargo)の核移行シグナルを認識して結合する。このとき cargo と直接結合するのは importin- α である。次に importin- β :importin- α :cargo 3 者複合体は、核膜孔複合体構成タンパク質群との相互作用により、核膜孔を通過する[1]。核膜孔通過反応の仕組みはまだ十分に解明されていないが、核膜孔タンパク質のうちの 1 つである Nup153 と importin- α の相互作用が、importin- β :importin- α ヘテロダイマーによる核移行を促進するとの報告がある[2]。核膜孔複合体の全体構造は大きく分けて 3 つの部分(cytoplasmic filament, central core, nuclear basket)から成り、Nup153 は nuclear basket の構成因子であるので、核移行の最終段階で機能している可能性がある。

本研究では、Nup153 が importin- α :cargo 複合体とどのように相互作用するのかを明らかにすることを当初の目的とし、X 線結晶解析に取り組んだ。

2 実験

大腸菌の発現系を利用して DNA 損傷修復因子 53BP1 の核移行シグナル(NLS)とヒト importin- α 3 のアルマジロリピートドメインの複合体を精製し、これに合成ペプチド(ヒト Nup153 residues 1459-1475 に相当)を加えてハンギングドロップ蒸気拡散法により結晶化した。

得られた単結晶を凍結して高エネルギー加速器研究機構 Photon Factory ビームライン BL-17A で X 線回折データを収集し、ヒト importin- α 3 の構造をサーチモデルとした分子置換法により結晶構造を解いた。

3 結果および考察

本研究では Nup153 ペプチドの存在下で 53BP1 の核移行シグナルとヒト importin- α 3 の複合体を結晶化した。この結晶は空間群 $I2$ に属しており、単位パラメータは $a = 95.70$, $b = 79.60$, $c = 117.44$ Å、 $\beta = 95.57^\circ$ であった。importin- α の結晶構造はこれまでに多数報告されているが、この結晶系で構造が解かれたことは過去に無く、新規の結晶系であった。分子置換法により 1.9 Å 分解能で構造を解き、 R -free 22.14%まで構造精密化した[3]。

今回解いた結晶構造では、importin- α 3 の表面に結合している 53BP1 の核移行シグナルの電子密度は明瞭に観察されたが、Nup153 ペプチドに相当する電子密度は全く見えなかった。今回用いた Nup153 ペプチドは importin- α と相互作用するといわれている領域[2]に相当するものであるが、今回の結晶化条件では importin- α 3 との結合が弱かったのか、結晶化のパッキングの影響で結合が妨げられたのかは不明である。

興味深いことに、今回解いた結晶構造での 53BP1 と importin- α 3 の結合様式は、かつて筆者が解いた importin- α 1:53BP1 複合体の結晶構造[4]における結合様式とは異なるものであり、53BP1 の bipartite 型核移行シグナルが importin- α 3 の 2 分子にまたがって結合していた。この結晶構造に見られる 4 次構造に生理的意義があるのか現時点では不明であるが、この知見は importin- α の 2 量体化の意義に関して一石を投じるものである。

参考文献

- [1] M. Stewart, *Nat Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 195 (2007).
- [2] Y. Ogawa *et al.*, *Traffic* **13**, 934 (2012).
- [3] Y. Matsuura, *Data in Brief* **47**, 108988 (2023).
- [4] Y. Matsuura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **510**, 236 (2019).

* ymatsuura@iuhw.ac.jp