

織毛虫テトラヒメナの二種類の核を分ける核膜孔複合体の構造と動態 岩本政明・原口徳子

アルベオラータ生物群に属する織毛虫類は、大核と小核という機能の異なる核をもつ二核性の単細胞生物である。我々は、二核性という特殊な細胞内環境における核-細胞質間輸送の仕組みを理解するため、輸送制御の分子基盤である核膜孔複合体に着目した研究を行い、テトラヒメナ (*Tetrahymena thermophila* Nanney and McCoy) の大核と小核の核膜孔複合体が構造的に互いに異なっていることを明らかにした。両者の構造はどのように異なっているのか、それが核-細胞質間輸送の制御にどう関わっているのか、また、そのような核膜孔構造の違いが核分化過程のどの段階で生じるのか等、テトラヒメナの核膜孔複合体の構造と動態について我々がこれまでに得た知見を紹介する。

織毛虫の二核性と核膜孔

織毛虫の大核は高い転写活性を示す多倍体のゲノムを含み、体細胞核に相当する機能を持つ。一方、小核は転写不活性な二倍体のゲノムを含み、生殖細胞核に相当する機能を持つ。両者はこの他にも、ゲノム構造、DNA複製のタイミング、核分裂の様式とタイミング等が異なっている (Karrer 2012)。このように機能と振る舞いの異なる二種類の核を同一の細胞質内に維持するには、それらの制御に関わる因子を正しい核に正しいタイミングで運び入れることが必要である。その輸送に関与するのが核膜孔である。もし、大核と小核で核膜孔が全く同じであるなら、制御に必要な因子をそれぞれの核へ適時的に運び分けるのは困難であろう。二核性を成立させるためには大小核の核膜孔に細胞質が認識できる何らかの違いが存在する可能性がある。

テトラヒメナの核膜孔複合体

核膜孔複合体は、核膜に存在する巨大なタンパク質構造体である。ヒトや酵母の核膜孔複合体は、約 30 種類のヌクレオポリンと呼ばれるタンパク質 (Nup と略) から構成されることが分かっている (Rout *et al.* 2000, Cronshaw *et al.* 2002)。Nup の中には、膜貫通領域を持ち、複合体を核膜にアンカーするのが約 3 種類、複合体の基本骨格を構築する構造タンパク質が約 17 種類、天然変性領域を持ち基本骨格の上に配置してチャンネルを形成するものが約 10 種類存在し、それらで構成されるユニットが 8 つ核膜を貫いて円を描くように配列して、その中央に孔を形成する。我々は、テトラヒメナの Nup を 28 種類同定し、それらがどちらの核の核膜孔に局在するかを調べた。その結果、18 種類が両核の核膜孔に局在し、5 種類が大核の核膜孔に特異的に局在し、5 種類が小核の核膜孔に特異的に局在することが分かった (Iwamoto *et al.* 2009, Iwamoto *et al.* 2017)。これは、大核・小核の核膜孔複合体が、共通の分子で構築されながらも、それぞれに特異的な構造領域をもつことを示している。

2 種類の核膜孔複合体の相違点

上述したように、大小核に共通する Nup として 18 種類を同定した。その中に含まれる基本骨格の構造単位である Nup93 コンプレックスを構成する各分子は、GFP 融合タンパク質として発現させた時の核膜上の蛍光量が大小核と同程度であった。それに対して、別の構造単位である Nup107 コンプレックスを構成する各分子は、小核核膜上の蛍光量が大小核より 3~4 倍大きかった。逆に、これらの構造単位に含まれない Nup88 と Nup185 は大核核膜上の蛍光量が小核より 2~3 倍大きかった。これらの結果は、共通因子であっても大小核で異なる構造を構築していることを示唆しており、大核と小核では、核膜孔複合体の基本骨格の形状が異なっていると考えられる (図 1) (Iwamoto *et al.* 2017)。その理由は、おそらくそれぞれの核に特異的な分子 (下述) の局在を可能にする異なった構造基盤を形成するためと考えられるが、同一セットの分子を違う様式で積み上げる構造的な仕組みと、2 種類の基本骨格の実際の分子形状については明らかになっていない。

大小核で異なる Nup として同定された 10 種類の Nup はすべて特定の立体構造をもたない天然変性領域をもつタンパク質で、核膜孔内のチャンネルを形成する分子であった (図 1) (Iwamoto *et al.* 2017)。天然変性領域には特徴的なアミノ酸配列が繰り返し出現するリピート配列が存在する。このリピート配列は、一般に Phe-Gly あるいはその派生配列の繰り返しであることから FG リピートと呼ばれ、核輸送担体と相互作用し、それらが核膜孔を通過する際の足場としての役割をもつ (Terry & Wentz 2009)。このような FG リピートをもつ FG-Nup が大核と小核の核膜孔複合体で異なっていることによって、それぞれの核輸送担体に対する親和性と透過性を大小核間で変えて輸送効率を差別化することができる。基本骨格の構築には共通の分子を用い、核輸送担体の足場となる分子だけを特殊化させることは、効率的に核膜孔複合体の機能を分ける理に適った方式といえる。

異なる FG リピートと核輸送におけるその働き

大核と小核で異なっている FG-Nup のうち、特に Nup98 のリピート配列は大小核間で顕著に異なっており、大核特異的な MacNup98A と MacNup98B では Gly-Leu-Phe-Gly の GLFG リピートであるのに対し、小核の MicNup98A と MicNup98B では Asn-Ile-Phe-Asn の NIFN リピートである (Iwamoto *et al.* 2009)。これらのリピート配列は N 末側領域に存在しているが、局在の核特異性を規定しているのは C 末側領域であるため、大核型と小核型の Nup98 をそれぞれ分子中央付近で切断し、前後を繋ぎ変えたキメラ分子を発現させると、大核の GLFG リピートを小核核膜孔に、小核の NIFN リピートを大核核膜孔にそれぞれ異所局在させることができる。

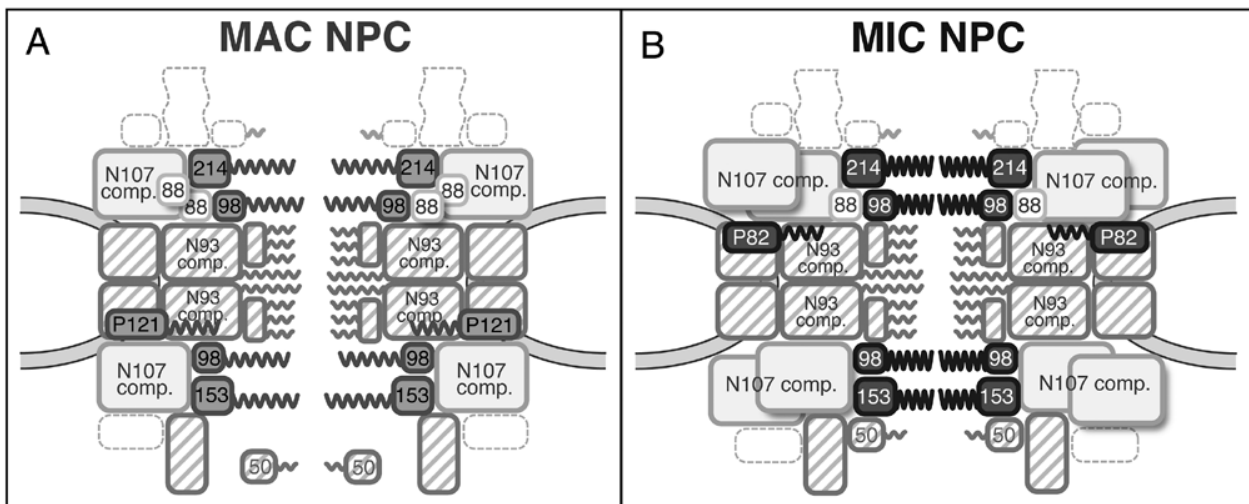


図1. *T. thermophila* の核膜孔複合体の分子構成 (モデル図)。A. 大核の核膜孔複合体, B. 小核の核膜孔複合体。上側が細胞質, 下側が核内。Nup93 コンプレックス (図中の N93 comp.) を含む斜線模様で示されたブロックは大核と小核の核膜孔複合体に同程度含まれる。Nup50 (50) は小核では主に核膜に局在するが, 大核では核質に局在する。Nup107 コンプレックス (N107 comp.) は小核の核膜孔複合体により多く含まれ, Nup88 (88) は大核の核膜孔複合体により多く含まれる。Nup185 のポジションは不明。FG リピート領域 (波線) をもつ FG-Nup のうち細胞質側と核内側に局在するものには大核と小核にそれぞれ特異的なパラログが存在 [Nup214 (214), Nup98 (98), Nup153 (153), Pom121 (P121) または Pom82 (P82)]。破線の成分はテトラヒメナでは見つからないもの。Iwamoto *et al.* (2017) の Fig. 7 を改変。

そのような Nup98 リピートの異所局在が核タンパク質の輸送にどのように影響するかを調べたところ, 大核特異的のリンカーヒストン H1 の大核への取り込み量および小核特異的のリンカーヒストン MLH の小核への取り込み量が著しく減少したが, 両核に局在するコアヒストン H2B の取り込み量は変化しなかった (Iwamoto *et al.* 2009)。この結果は, 大核の GLFG リピートは小核特異的 MLH の輸送に阻害的に働き, 小核の NIFN リピートは大核特異的 H1 の輸送に阻害的に働くが, 両者は共通輸送には影響しないことを意味しており, それぞれの核に特徴的な FG リピート配列が, 核タンパク質の運び分けに関与していることを示すものである。

核分化過程における核膜孔複合体の動態

核膜孔複合体の構造的な違いはいつ生じるのだろうか。繊毛虫では接合時にそれまでの大核が破棄され, 2つの接合細胞それぞれの小核に由来する2個の配偶核が融合してできた受精核から新たな大核と小核が作り出される。テトラヒメナの場合, 受精核が核分裂を2回行って4核を生じ, そのうちの2核が大核に, 別の2核が小核に分化する。受精核の第二分裂以降の核分化過程をタイムラプス観察したところ, 受精核とその複製核には小核型の核膜孔複合体が存在したが, 第二分裂直後から大核に分化する運命の2核では小核型の核膜孔複合体が減少し, 大核型の核膜孔複合体が形成されることが分かった (Iwamoto *et al.* 2015)。この現象は, 予定大核がまだ形態的に小核と見分けのつかない時期に起こる最も早い大核分化の兆候であるため, 核膜孔複合体の分化がその後の大規模な大核分化の引き金になっていると考えられた。核膜孔複合体のリモデリングが核機能や細胞の分化に先立って起こるという現象はこれまで知られていなかったが, 今後, 類似の事例が他の生物種でも見出され

る可能性がある。

繊毛虫の二核性の研究では, その獲得起源, 核分化のメカニズム, 核機能の制御機構などが興味の対象となっているが, それらの全てに核-細胞質間輸送が関与していると考えられる。そのため, 繊毛虫の核膜孔複合体に関する知見が新たに加えられたことによって, 今後の二核性の研究における新しい展開が期待される。

引用文献

- Cronshaw, J. M., Krutchinsky, A. N., Zhang, W., Chait, B. T. & Matunis, M. J. 2002. Proteomic analysis of the mammalian nuclear pore complex. *J. Cell Biol.* 158: 915–927.
- Iwamoto, M., Koujin, T., Osakada, H., Mori, C., Kojidani, T., Matsuda, A., Asakawa, H., Hiraoka, Y. & Haraguchi, T. 2015. Biased assembly of the nuclear pore complex is required for somatic and germline nuclear differentiation in *Tetrahymena*. *J. Cell Sci.* 128: 1812–1823.
- Iwamoto, M., Mori, C., Kojidani, T., Bunai, F., Hori, T., Fukagawa, T., Hiraoka, Y. & Haraguchi, T. 2009. Two distinct repeat sequences of Nup98 nucleoporins characterize dual nuclei in the binucleated ciliate *Tetrahymena*. *Curr. Biol.* 19: 843–847.
- Iwamoto, M., Osakada, H., Mori, C., Fukuda, Y., Nagao, K., Obuse, C., Hiraoka, Y. & Haraguchi, T. 2017. Compositionally distinct nuclear pore complexes of functionally distinct dimorphic nuclei in ciliate *Tetrahymena*. *J. Cell Sci.* 130: 1822–1834.
- Karrer, K. M. 2012. Nuclear dualism. *Methods Cell Biol.* 109: 29–52.
- Rout, M. P., Aitchison, J. D., Suprpto, A., Hjertaas, K., Zhao, Y. & Chait, B. T. 2000. The yeast nuclear pore complex: composition, architecture, and transport mechanism. *J. Cell Biol.* 148: 635–651.
- Terry, L. J. & Wente, S. R. 2009. Flexible gates: dynamic topologies and functions for FG nucleoporins in nucleocytoplasmic transport. *Eukaryot. Cell* 8: 1814–1827.

(情報通信研究機構 未来 ICT 研究所)