

特集：過渡的複合体が関わる生命現象の統合的理解
—生理的準安定状態を捉える新技術と応用—

核膜孔複合体の構造と機能

橋爪 智恵子, Richard W. Wong

核膜孔複合体は真核生物の核膜を貫通し、細胞質-核間の物質輸送を制御する筒状のチャンネルであり、脊椎動物では分子量約 120 MDa、約 30 種類のタンパク質からなる巨大タンパク質複合体である。高等真核生物の細胞では、有糸分裂の間に核膜孔複合体の分解と再構築が起こることが 1970 年代から知られていたが、その機能は長い間不明であった。本稿では、最初に核膜孔複合体の構造と物質輸送機能について解説し、さらに最近の研究で明らかになってきた、有糸分裂期での個々の核膜孔複合体タンパク質、及び、サブ複合体による正確な有糸分裂期進行に果たす役割について紹介する。

1. はじめに

細胞中では、ゲノム DNA や何千という RNA 分子は、核膜によって隔てられた核内に存在する。核膜は核内に面した内膜と細胞質に面した外膜という二重層の膜によってできており、それらは内腔によって仕切られている。核-細胞質間の物質輸送は、内外の核膜を貫く特別な筒状の孔を通して行われる。この孔は筒状の巨大分子の集合体でできており、核膜孔複合体 (nuclear pore complex: NPC) と呼ばれる¹⁾。二重膜でできている核膜は、この NPC によって孔が開けられているのである。核膜の外膜は小胞体へと続き、内膜はそれぞれの NPC を取り囲む曲面膜部に結合している²⁾。核内と細胞質をつなぐ唯一の通り道である NPC は細胞中で最大のタンパク質集合体であり、30 種類以上のヌクレオポリン (核膜孔複合体タンパク質) の多量体によって形成されている^{3,4)}。

本稿では、最初に基本的な NPC の構造と NPC を介した物質輸送機序を紹介する。さらに、最近ヌクレオポリンの

新たな機能として注目されている有糸分裂期での役割、及び、癌化への関与について焦点をあてる。

2. NPC の構造

NPC の構造は、最初に透過型電子顕微鏡、続いて走査型電子顕微鏡により、最近では低温電子断層撮影 (cryo-electron tomography: cryo-ET) によって研究されてきた⁵⁾。1950 年の最初の電子顕微鏡での観察で、核膜には孔が開いていることが明らかになった⁶⁾。1967 年、Gall は NPC が八角形をしていることを初めて報告した⁷⁾。これは後に Blobel⁸⁾や他の研究者らが、ラットの肝臓から単離した核を用いて生化学的に証明している。細胞あたりの NPC 数は、細胞の大きさ、及び、活性によって著しく変化する。酵母細胞では、約 200 個/核、増殖中のヒト細胞では、約 2,000~5,000 個/核 (10~20 個/ μm^2)、成熟したアフリカツメガエル卵母細胞では、約 5×10^7 個/核 (60 個/ μm^2) の NPC が存在する⁹⁾。

最近の研究により、脊椎動物の NPC は約 120 MDa の巨大タンパク質複合体であり、直径 120 nm の筒状チャンネルであると考えられている。酵母の NPC は約 66 MDa とやや小さいが、電子顕微鏡で決定された NPC 構造の比較からは、無脊椎動物から脊椎動物まで NPC の構造全体がよく保存されていることが示唆されている^{9~12)}。

NPC は約 30 種類のヌクレオポリンと呼ばれるタンパク質からできている^{9,13~15)}。ヌクレオポリン遺伝子は、酵母

金沢大学フロンティアサイエンス機構 (〒920-1192 石川県金沢市角間町金沢大学がん進展制御研究所 1 階)
Structure and function of nuclear pore complex
Chieko Hashizume and Richard W. Wong (Frontier Science Organization, Kanazawa University, Kanazawa University Cancer Research Institute 1/F, Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-1192, Japan)

表1 酵母及びヒトの核膜孔複合体の分子構成 (文献 18 より一部改変)

対称性ヌクレオポリン		非対称性ヌクレオポリン	
酵母	ヒト	酵母	ヒト
膜並置			
Seh1	Seh1	----	Nup358
Nup85	Nup75	Nup82	Nup88
Nup120	Nup160	Nup159	Nup214
Sec13	Sec13	Nup42	CG1
Nup145C	Nup96	Gle2	RAE1
Nup84	Nup107	Nup116	Nup98
Nup133	Nup133	Nup100	
----	Nup37	Nup145N	
----	Nup43	----	ALADIN
----	ELYS/MEL-28	核バスケット	
Nic96	Nup93	Nup1	Nup153
Nup192	Nup205	Nup2	Nup50
Nup188	Nup188	Mlp1	Tpr
Nup157	Nup155	Mlp2	
Nup170		Nup35	Nup60
Nup53		チャンネル	
Nup59		Nsp1	Nup62
アダプター			
Nup57	Nup54	Nup57	Nup54
Nup49	Nup58 Nup45	POM	
NDC1		NDC1	
POM34	----		
POM152	----		
----	Gp210		
----	POM121		

から進化的に離れたヒトまで保存されている^{16,17)}。内部の対称性が高いことから、それぞれのヌクレオポリンは、一つのNPC中に多数のコピーが存在し、その結果、組み立てられた一つのNPC中に500~1,000のタンパク質分子があると考えられている。ほとんどのヌクレオポリンはその分子量によって“NupX (X kDa)”と呼ばれる。しかし、それぞれの種で分子量が異なる(例えばヒトのNup88は、酵母ではNup82と呼ばれる)ため、ヌクレオポリンには種を超えた一定の命名が存在しない(表1)。ヌクレオポリンは、NPC内での位置を元に六つのカテゴリーに分類されている。(a)核膜孔に不可欠な膜タンパク質(integral membrane protein of the pore membrane domain of the nuclear envelope: POM)、(b)膜並置ヌクレオポリン、(c)アダプターヌクレオポリン、(d)チャンネルヌクレオポリン、(e)核バスケットヌクレオポリン、そして、(f)細胞質繊維ヌクレオポリンである¹⁸⁾(図1)。

個々のヌクレオポリンはモジュールであり、コイルドコイル、 α -ソレノイド、 β -プロペラなどの限られた数の構造モチーフを繰り返し使うことによって、対称性のあるNPCの構造を作っている。 β -プロペラは全体の直径が

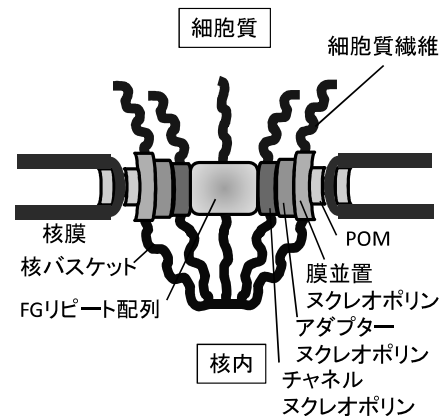


図1 核膜孔複合体の全体構造

~70 Å, 厚さが~40 Åの円盤型のドメインである¹⁹⁾。標準的な β -プロペラのコア構造は、4~8枚の環状に配置された羽によって作られている(図2左)。それぞれの羽は、四つの逆並行の β 鎖からできている。酵母ヌクレオポリン中に九つあると推定されている β -プロペラのうち、六つの立体構造が決定され、 β -プロペラのコアは構造的に強固な足場を提供することがわかった。また、酵母ヌクレオ

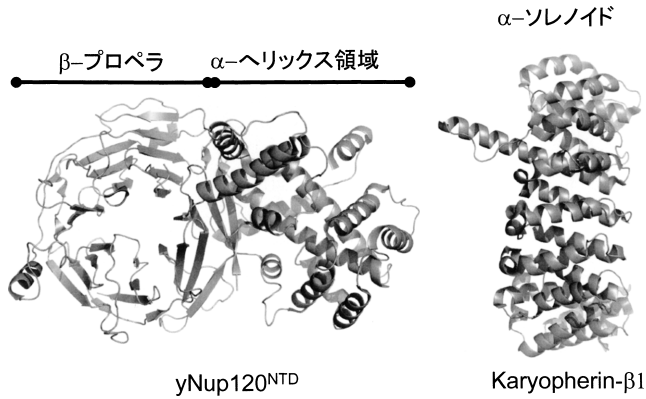


図2 スクレオポリンと輸送受容体の構造比較

(左) 酵母スクレオポリン Nup120 の N 末端ドメイン (PDB ID: 3F7F), (右) ヒト輸送受容体 Karyopherin- β 1 (PDB ID: 1F59). Nup120 の N 末端ドメインは β -プロペラ, 及び, α -ヘリックス領域で構成されている. Karyopherin- β 1 は α -ソレノイドモチーフドメインで構成されている. Nup120 の α -ヘリックスがジグザグに配置されていることがわかる.

ポリン中に 25 個あると推定されている α -ヘリックス領域のうちの八つの構造が決定され, 相同性モデリングでは同定されなかった様々な新規の折れ曲がり構造が明らかになった. これらのドメインは, α -ヘリックスがジグザグに組まれた構造をしており, 輸送受容体中で典型的に見られる標準的なスーパーヘリックスソレノイドとは著しく異なったトポロジーであった^{20,21)} (図2). 加えて, 約3分の1のスクレオポリンはタンパク質配列のところどころにフェニルアラニン-グリシン (FG) リピートドメインモチーフをもっている. FG リピートドメインは NPC 中で孔の中心に位置し (図1), 分子の自由拡散バリアとして機能している. また, FG リピートドメインには構造がないが, 積荷 (タンパク質, RNA 等) を孔へと輸送する輸送受容体 (カリオフィェリン/インポーチン) の相互作用部位として働く^{5,14,22-25)}.

3. 間期での NPC を介した RNA 及びタンパク質の輸送機序

核-細胞質間の高分子の移動は, NPC を通して行われることがよく知られている. 30 kDa 以下の低分子は, NPC を受動的に通過し拡散できる. 一方, 30 kDa 以上の高分子は, その分子中に核局在シグナル (nuclear localization signal: NLS), 又は, 核外移行シグナル (nuclear export signal: NES) として知られる短いモチーフ配列を持ち, これらがカリオフィェリン (karyopherin: 以下 kap と略すが, 他にもインポーチン, エクスポート, トランスポートと呼ばれる) と呼ばれる輸送受容体によって認識され, 能動的に核内外へと運ばれる.

kap には kap- α と kap- β の二種類がある. kap- α は積荷タンパク質の NLS に結合し核内輸送にのみ働くが, タン

パク質-kap- α 複合体だけではスクレオポリンへ結合できず, kap- β と協調し, スクレオポリンへ結合することにより初めて NPC を通過できる²⁶⁾. 一般的に, kap- β は NLS, NES, 及び, NPC のどれにも結合でき, 核内輸送 (import kaps) と核外輸送 (export kaps) の両方に働くことができる²⁶⁾.

積荷-kap 複合体の集合と解離は GTP (nucleotide guanine triphosphate), 又は, GDP (nucleotide guanine diphosphate) 結合という二つの形態をとる Ran によって制御されている (図3). kap- β 受容体ファミリー (インポーチン β ファミリー) の NPC, 及び, 積荷への直接結合活性の詳細は, 以下に述べる核-細胞質間の不均衡な Ran-GTP 分配によって制御されている. 興味深いことに, Ran-GTP は核内輸送と核外輸送とは異なる機能を持つ. Ran-GTP は積荷-核内輸送 kap- β 複合体の解離を誘導するが, 積荷-核外輸送 kap- β 複合体では逆の効果, つまりそれらの安定的な複合体形成を促進する. Ran-GTP は主には核内に局在するため, 核外輸送複合体の形成に有利に働くが, 核内輸送複合体が核内へ入った後は複合体解離を促進する. 核内輸送の間, kap- α の受容体が細胞質中の NLS を持った積荷タンパク質と結合し, この複合体が kap- β に結合して NPC を通過する. 核内では, Ran-GTP が核内へ輸送された kap- β に結合し, 積荷タンパク質, kap- α , 及び, kap- β を解離させる (図3左). 一方で, 核外輸送の間, Ran-GTP は kap- β -積荷複合体の結合を維持させる. 核外輸送された kap- β -積荷複合体は, 細胞質側の NPC 表面での GTP から GDP への加水分解によって解離が促進される (図3右). 輸送受容体は, 輸送する方向, 積荷アダプターの使用, Ran-GDP, リボソーム, 及び, mRNA のような特別な積荷を輸送することによって特徴づけられている. いくつかのグループの研究者らは kap ではなく, インポーチン/エクスポートといった選択的な用語を使う. これを kap に当てはめると, インポーチンは核内輸送 kap, エクスポートは核外輸送 kap である²⁷⁾.

ところで kap は, 積荷 RNA 中のスクレオチドモチーフを認識できる. 様々な種類の RNA は核内で作られ, 輸送受容体を介して NPC を通過し, 細胞質へ輸送される. 遺伝子発現には, このような RNA の細胞質への輸送が必要不可欠である. tRNA, 及び, microRNA のような小さな RNA の核外輸送は, kap- β /エクスポートへの直接結合による比較的単純な輸送経路によって行われる. ウイルス RNA の詳細な輸送は文献 28 を参照されたい. mRNA の輸送は他の輸送経路とは異なり, 酵母では転写, 後生動物ではスプライシングと同調して起こる. リボソーム RNA や mRNA のような大きな RNA は, 複雑なリボヌクレオタンパク質 (RNP) 粒子を形成し, RAE1-Nup98-TAP 複合体のようなクラス特異的アダプタータンパク質を介して輸送さ

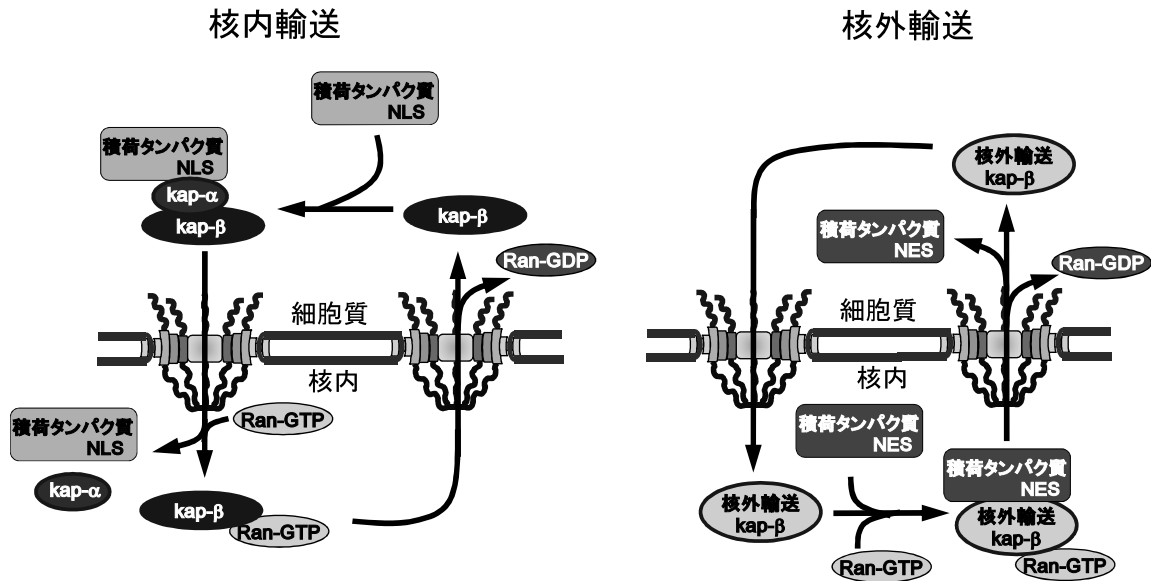


図3 核膜孔複合体を介した物質輸送機構

(左) 核内輸送機構. 核内輸送の間, kap- α 受容体が細胞質中の NLS を持った積荷タンパク質と結合し, この複合体が kap- β に結合して NPC を通過する. 核内では, Ran-GTP が核内へ輸送された kap- β に結合し, 積荷タンパク質, kap- α , 及び, kap- β を解離させる.

(右) 核外輸送機構. 核外輸送の間, RanGTP は kap- β と NES を持った積荷タンパク質の結合を維持させる. 核外輸送された kap- β と積荷の複合体は, 細胞質側の NPC 表面で Ran-GTP が GDP へ加水分解されることにより解離が促進される. このように Ran-GTP は積荷-核内輸送 kap- β 複合体の解離を誘導するが, 積荷-核外輸送 kap- β 複合体では逆に安定的な複合体形成を促進する.

れる²⁹⁾. 核-細胞質物質輸送の詳細な議論は本稿では省く. より詳細な情報は, 数々のすばらしい総説^{1,3,23,27,30~35)}を参考にされたい.

4. 有糸分裂期でのヌクレオポリンの有糸分裂装置制御機能

細胞分裂が正常に行われるためには, 紡錘体微小管によって有糸分裂期の染色体が正確に捕獲されることが必要である. 有糸分裂期の間, 微小管のマイナス端は二つの中心体極へ集まり, プラス端はキネトコアを介して染色体と相互作用し, 染色体を中期板に沿って整列させる. 紡錘体の構築は中心体や染色体だけでなく, 分子モーターや微小管動態の監視機関のような微小管結合タンパク質によって行われる^{36,37)}. 高等真核生物は核膜崩壊後に, 紡錘体微小管がキネトコアへ結合し, 細胞質中に紡錘体を形成する. 有糸分裂の初期に核膜が崩壊する時, 核膜が分解するだけでなく, NPC やラミナのような巨大分子も分解される. 有糸分裂後期に染色体が分離した後, 核膜は核の境界を再構築するために, それぞれの姉妹染色体の周りに再形成される^{36~39)} (図4). 1970年代の電子顕微鏡観察によって, 有糸分裂の間に素早く NPC の分解と再構築が起こることが明らかになっていた^{40,41)}が, それらの機能はよくわかっていなかった. しかし最近, 個々のヌクレオポリンの局在や機能がわかり始め, さらに有糸分裂中のヌクレオポリンの

キネトコア-紡錘体-中心体領域での局在を示すデータが多数報告され, NPC が有糸分裂期進行において必要不可欠な役割を果たすことが明らかになってきた^{1,23,36,42~44)}. 次のセクションでは, いかにしてヌクレオポリン (RAE1, Tpr, Nup107-Nup160, Nup358 (RanBP2), Nup88, 及び, Nup153) が, 哺乳類細胞中で染色体の異数化を防ぐために細胞周期の進行を調整しているかを述べていく.

(1) RAE1

ヌクレオポリンの一つ RNA export 1 (RAE1/GLE2/mRNP41) は, 有糸分裂期において紡錘体形成に関与している. RAE1 は病態生理学的に乳癌と関係することが報告されている⁴⁵⁾. RAE1 はトリプトファン-アスパラギン酸 (WD) リピート配列を持つ β -プロペラタンパク質で, 間期では NPC 中で構造を作るだけでなく, 核内外に動的に分配されている. 水泡性口内炎ウイルス (VSV) の M タンパク質は mRNA の核外輸送阻害機能を有しているが, RAE1 を過剰発現させるとその阻害が回復するという実験から, RAE1 が mRNA 輸送に必要な機能を有していることが示された. RAE1 は Nup98 と複合体を形成し, 間期での RNA 輸送に関与している^{48,49)}. RAE1-Nup98 複合体は, 有糸分裂期進行におけるヌクレオポリンの役割を調べるために優れたモデルケースである. RAE1 は Nup98, 及び, 有糸分裂期チェックポイントキナーゼ Bub1 と Gle2 結合部位 (GLEBS) ドメインを介して結合する. また RAE1

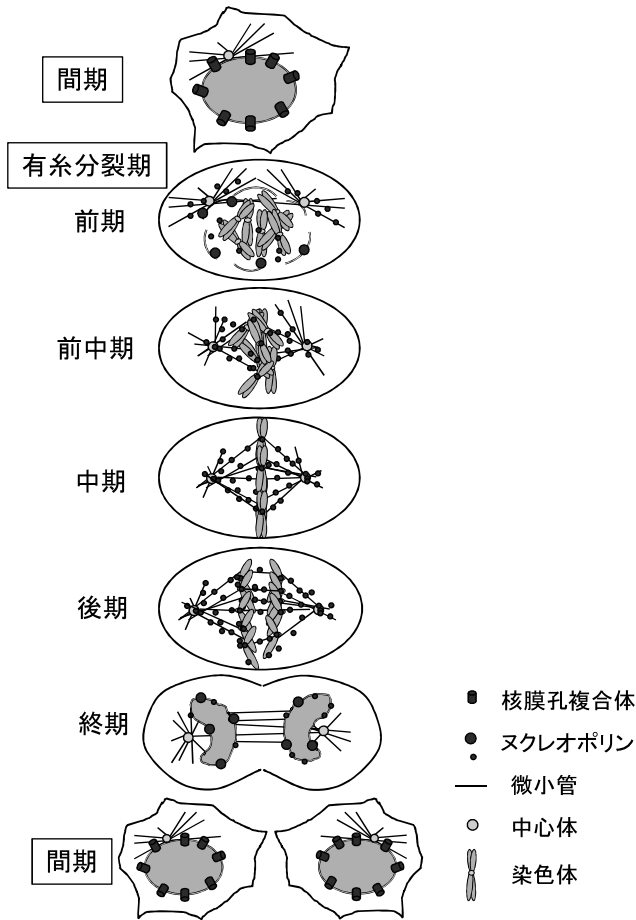


図4 細胞周期と核膜孔複合体

は Nup98 と共に Securin 分解に機能することが明らかになっている。van Deursen らは、マウスモデルを用いて RAE1-Nup98 複合体が後期促進複合体 (anaphase-promoting complex: APC) を阻害することを示した⁵⁰。加えて最近我々は、Nup98-HoxA9 融合タンパク質による急性骨髄性白血病の発症メカニズムに RAE1 が関与することを発見した⁵¹。一方、いくつかの研究から RAE1 が微小管と結合することが報告されているが、結合部位はまだわかっていない^{47,52}。アフリカツメガエルの卵⁵³、及び、ヒト子宮頸癌細胞株 HeLa⁵³ 抽出液を用いた実験では、RAE1 は微小管重合促進に必須な要素であることが明らかになった。HeLa 細胞中の RAE1 を RNAi によって欠乏させると、紡錘体形成に明らかな異常がみられたが、有糸分裂期における RAE1 の正確な役割ははまだわかっていない⁵³。最近我々は、有糸分裂期の HeLa 細胞中で、RAE1 が核有糸分裂装置タンパク質 (NuMA) と結合し、共局在することを発見した (図5)⁴⁶。NuMA は紡錘体極において、微小管の結束を助ける微小管結合タンパク質である。我々の知見から RAE1 と NuMA の正確な発現レベルのバランスは、*in vivo* での正確な双極紡錘体形成に必要不可欠であると推測され

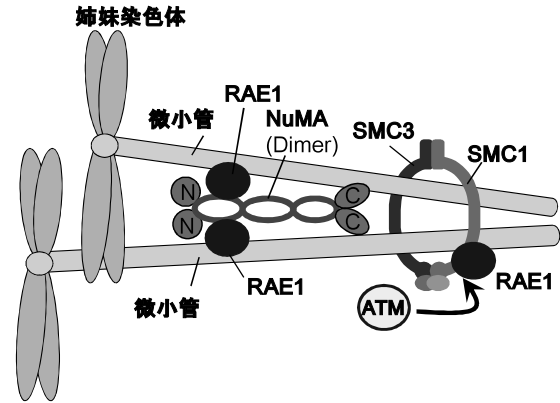


図5 RAE1 の有糸分裂期での役割

た。さらに最近我々は、RAE1 が cohesin サブユニットの一つ SMC1 の 947-967 アミノ酸残基と結合することを発見した⁵⁴。cohesin は姉妹染色体の接着に中心的な役割を果たすタンパク質複合体であり、脊椎動物では、SMC1, SMC3, RAD21, SA1, 及び、SA2 で構成されている。SMC1 と他の cohesin 構成タンパク質との結合は、ATP の結合により制御されている。加えて我々は、RAE1-SMC1 結合が紡錘体極局在リン酸化酵素 ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) によって SMC1 の Ser957, 及び、Ser966 がリン酸化された時にのみ起こることを明らかにした (図5)⁵⁴。また、RAE1-NuMA 発現レベルと同様に、RAE1-SMC1 発現レベルがアンバランスであると、多極紡錘体形成が起こった⁵⁴⁻⁵⁶。そこで我々は RAE1-cohesin の結合がどのように紡錘体極形成に貢献するかの統合的なモデルを図5のように提案してきた。我々が示してきた知見は、RAE1 が紡錘体極での微小管結束や包圍機能に関与するという全くの新規概念である。最近、いくつかの研究で紡錘体極、及び、中心体での cohesin の他のサブユニットの役割がそれぞれ独立に証明されてきたように⁵⁷⁻⁶¹ 今後有糸分裂期及び間期における cohesin の機能解析がさらに進めば、さらに詳細な RAE1-cohesin 結合の機能が明らかになるだろう。また RAE1 のさらなる新規機能、たとえばエピジェネティックに関与するというような機能の解明につながるかもしれない。今後は、RAE1-SMC1 が分子機構レベルでどのように働いているか、そして、この相互作用が cohesin への ATP 結合や加水分解サイクルとどのように潜在的に結びついているかを明らかにする必要がある。Plk1 及び Sgo1 のような cohesin 制御因子もまた RAE1-SMC1 紡錘体極集合に含まれるのだろうか？

(2) Tpr

Mitotic arrest deficient 1 (MAD1)、及び、MAD2 タンパク質は、紡錘体集合チェックポイント (spindle assembly checkpoint; SAC) のカギとなる制御因子で、ヌクレオポリンの一つ Tpr (核バスケット、酵母では Mlp1, Mlp2) と

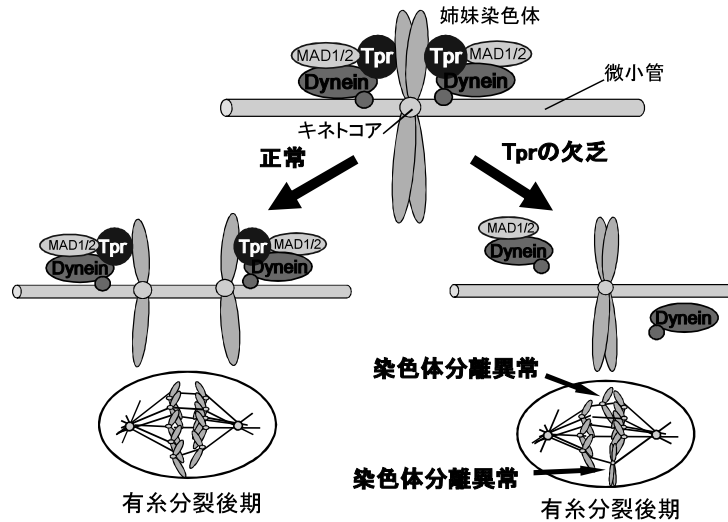


図6 Tprの有糸分裂期での役割

Tprは有糸分裂期にMAD1, 及び, MAD2を分子モーターdyneinに効果的に供給し, 分裂後期の正確な進行を促進することによって, 正確な染色体分離に貢献する。

結合する。細胞が有糸分裂前期に進行すると, MAD1とMAD2は非接着キネトコアに凝集し, キネトコア-紡錘体結合の成熟前に分裂後期が開始するのを予防するため, キネトコアにおける微小管の占有率をモニターする³⁶⁾。MAD1は, MAD1-MAD2複合体がNPC, 及び, キネトコアの両方に結合する働きを担っている⁶²⁾。Leeら⁶³⁾, Linco-Fariaら⁶⁴⁾, 及び, 我々⁶⁵⁾はTpr, MAD1, 及び, MAD2が有糸分裂期のHeLa細胞抽出液中で共沈降することを明らかにした。RNAiによってTprが欠乏した細胞では, MAD1, 又は, MAD2が欠乏した細胞と, 同程度の染色体分離異常が起こった。RNAiによる細胞内Tprの欠乏は多くの細胞株で同様に, 異常な紡錘体極形成, 染色体の変形, 及び, 欠損を引き起こした。加えて, Tprが有糸分裂期にDLC (dynein light chain)と相互作用し, 正常な染色体分離のために機能することが明らかになり, NPCの核バスケット (Tpr-MAD1-MAD2複合体)-SAC間結合の機能的な重要性は, 正確な染色体分離であることがわかった⁶⁵⁾。つまり, MAD1, 及び, MAD2を分子モーターdyneinに効果的に供給し, 分裂後期の正確な進行を促進することによって, TprはSACの時間, 及び, 空間的な制御因子として働くのである^{1, 65)}。これらの表現型は紡錘体構造形成におけるTprの直接的な役割を明らかにした。我々はsiRNAによってTprを欠乏させた細胞中の染色体欠損異常を回復させる一連のアッセイを行い, 有糸分裂期紡錘体上のTpr-dynein相互作用の機能的役割を証明した。これは, Tprによる分裂中期-後期進行, 及び, 染色体分離が機能しないことによって異常な染色体形態を起こすことを示唆している^{1, 65)}。発癌物質誘導染色体転座によるTpr-Met癌遺伝子は, Tprの二量体化ドメインと受容体で

あるMetのチロシンリン酸化部位とが融合した遺伝子であることが文献66で述べられている。細胞内Tprの減少は, 分裂中期-後期進行での染色体欠損, 及び, 紡錘体集合の異常を引き起こすことから, Tpr遺伝子の染色体転座による正常なTprタンパク質の減少は, ある種の腫瘍で染色体の不安定性を起こしているのかもしれない。Tprの有糸分裂期での機能の研究は, 哺乳類だけでなく酵母やショウジョウバエでも行われている^{1, 43)}。

(3) Nup107-160サブ複合体

最近のデータで, 脊椎動物のNup107-160 (酵母ではNup84)サブ複合体は細胞分裂の際に, キネトコア, 及び, 紡錘体に局在することが報告された^{67, 68)}。この複合体のサブユニットファミリーは少なくとも, Nup160, Nup133, Nup107, Nup96, Nup85, Nup43, Nup37, Sec13, Seh1, 及び, ELYS/MEL-28の10種類があり, さらに最近, centrin2がこの中に含まれることが同定された⁶⁹⁾。有糸分裂期の核膜崩壊はリン酸化によって制御されているが, この際, NPCはいくつかのサブ複合体に分解されることは非常に興味深い。Glavyらは, Nup107-160サブ複合体の細胞周期依存的なリン酸化を*in vivo* ³²Pラベルを用いてHeLa細胞内で調べ, Nup133, Nup107, 及び, Nup96が有糸分裂期にリン酸化されることを発見した⁷⁰⁾。この複合体中の正確なリン酸化部位をマップするため, 彼らは網羅的多段階質量分析を行い, Nup160, Nup133, Nup107, 及び, Nup96がリン酸化の標的となることを証明している⁷⁰⁾。加えて, Doyeらのグループは, Nup107-160サブ複合体がCENP-Fと結合することを発見した⁷¹⁾。しかし, CENP-FのsiRNAによる欠乏実験からCENP-FはNup107-160サブ複合体の一部をキネトコアに結合させるだけであ

ることがわかった。さらに、Nup107-160 サブ複合体の一つ Seh1 が、RNAi によって細胞内で欠乏すると、有糸分裂期の遅滞が誘導された⁷¹⁾。ヒト細胞での ELYS、及び、Nup133 の部分的な減少は、紡錘体集合や染色体分離を変化させなかったが、細胞質分裂の異常を誘導した⁷²⁾。より顕著な異常、特に細胞分裂溝の退行による二核細胞の増加は、Seh1 の欠乏によって起こった。Seh1 の欠乏した細胞では、分裂後期での中心的な紡錘体、分裂終期での中央体の両方での染色体パッセンジャー複合体 (chromosome passenger complex ; CPC)、Aurora A、及び、Aurora B の基質である MKLP1 のリン酸化レベルの減少がみられた。しかし CPC が、Nup107-160 サブ複合体の持つ多数の有糸分裂期機能の基礎となるかもしれないという仮定は推奨できない^{43,73)}。最近、Nup107-160 サブ複合体は、細胞分裂に必須であり種の間で保存されている微小管の核となる γ -tubulin ring 複合体 (γ -TuRC) を非接着キネトコアに補充することが明らかにされた⁷⁴⁾。In vivo、及び、in vitro の研究により、Mishra らは Nup107-160 サブ複合体がキネトコアでの γ -TuRC によって RanGTP が制御する微小管の核生成を通して、紡錘体集合を促進することを示している^{43,74)}。従って、Nup107-160 サブ複合体は染色体分離における極めて重要な因子の一つであると結論付けられる。

(4) Nup358 (RanBP2)

Nup358 (RanBP2) は巨大であり、多くのドメインを有するヌクレオポリンで、in vitro で SUMO E3 リガーゼ活性を持っている^{75,76)}。核膜が崩壊し、NPC が分解する有糸分裂期の始まりに、RanBP2-RanGAP1-SUMO1-Ubc9 サブ複合体は細胞質に拡散し、紡錘体微小管のプラス端、及び、紡錘体微小管を捕獲する染色体のキネトコアに蓄積する^{77,78)}。核外輸送受容体 Crm1 は、RanBP2-RanGAP1-SUMO1-Ubc9 をキネトコアへ集積させる⁷⁹⁾。HeLa や RGG 細胞での RanBP2 の欠乏は、分裂中期での染色体整列の異常、キネトコア結合タンパク質の局在異常、及び、多極紡錘体形成といったいくつかの有糸分裂期異常を引き起こす^{43,78,80)}。通常、すべての染色体上に正確に微小管が捕獲された時、有糸分裂後期が始まり姉妹染色体が分離する。これには、TOPOII (Topoisomerase II) によるセントロメアでの姉妹染色体の脱連環が含まれる。Nup358/RanBP2 は哺乳類細胞中で TOPOII を SUMO 化することによって、TOPOII をセントロメアに補充することがわかった⁸¹⁾。RanBP2 が欠失したマウスにおいて、TOPOII がセントロメアに結合できないことにより、染色体分離の異常が起こることが示された。TOPOII の欠乏と同様に Nup358/RanBP2 の欠乏は、分裂終期での染色体分離異常の一つブリッジ形成を促進した。従って、マウスでの Nup358/RanBP2 発現レベルの減少は、体細胞における重篤な染色体異数化という表現型を引き起こし、自然発生的な腫瘍形

成を促進させた⁸¹⁾。これらの結果から、Nup358/RanBP2 は癌抑制活性があるのかもしれない。

(5) Nup88

最近我々は、腫瘍マーカーである Nup88 の発現量が細胞内で変化すると、多核化、及び、多極紡錘体形成を引き起こし、結果として細胞の異数体化と染色体不安定性を導くことを発見した⁸²⁾。これらの異常は、過剰発現や RNAi によって正常な Nup88 の発現レベルが変化したことで、キネトコア-紡錘体微小管上の染色体捕獲のための相互作用が失敗したために起こったと推測できる。正確な染色体分離に失敗したまま有糸分裂が終了し、最終的に散り散りになった染色体の周りに核膜の再形成が起こり、多核化が起こったのだろう。現時点では、有糸分裂期での Nup88-Nup214 サブ複合体の正確な機能、及び、結合因子は明らかにされていない。

(6) Nup153

Mackay らは、RNAi によって Nup153 を欠乏させた細胞を観察し、二つの異なる表現型を発見した⁸³⁾。それら異常な表現型は、Nup153 内の FG-rich 領域を強制発現させることによって正常に回復した。従って彼らは、Nup153 の FG-rich 領域は有糸分裂期において、正常な細胞の分裂に重要な役割を果たしていると提案している。Nup153 発現レベルがさらに減少すると、多くの細胞で異常な多核化が起こる。この表現型は、核構造形成における Nup153 の直接的な役割のヒントになるかもしれない⁸³⁾。さらに彼らは、Nup153 を欠乏させた細胞のライブイメージ解析によって、有糸分裂初期の特徴的な遅滞を発見している^{83,84)}。最近 Mackay らのグループが、Nup153 の機能は Aurora B を介する細胞分裂離脱チェックポイントの活性化に影響することを発見した⁸⁵⁾。しかし Nup88 と同様に、Nup153 の有糸分裂期での結合因子はまだわかっていない。

5. おわりに

本稿では、基本的な NPC の構造と物質輸送機序、さらに、現在までに報告されているいくつかのヌクレオポリン、及び、サブ複合体による有糸分裂期の各段階における機能を要約した。しかしながら、個々のヌクレオポリンにおける細胞周期進行での正確な役割は、未だわからないことが多い。近い将来での挑戦的な課題は、核膜崩壊後の空間的、及び、時間的な個々の段階でのヌクレオポリンの機能を明らかにすることである。この問題に答えるためには、高解像度リアルタイム一分子画像顕微鏡技術、生化学と遺伝学、バイオインフォマティクスと構造生物学などの融合が必要である。これら方法論の組み合わせによって、近い将来、細胞周期全体でのヌクレオポリンの役割が、より明確になっていくだろう。臨床的な観点からも、個々のヌクレオポリンがヒトの癌化における様々な段階に

対して的確に作用している点が興味深い。

謝辞

本稿の執筆にあたり、ご協力をいただきました京都大学大学院・柄尾豪人先生、カリフォルニア工科大学・加藤公児博士、金沢大学フロンティアサイエンス機構・船坂龍善博士に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Strambio-De-Castillia, C., Niepel, M., & Rout, M.P. (2010) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 490–501.
- 2) Webster, M., Witkin, K.L., & Cohen-Fix, O. (2009) *J. Cell Sci.*, **122**, 1477–1486.
- 3) Blobel, G. (2010) *Cold Spring Harb. Symp. Quant Biol.*, **75**, 545–554.
- 4) Doucet, C.M. & Hetzer, M.W. (2010) *Chromosoma*, **119**, 469–477.
- 5) Lim, R.Y., Aebi, U., & Fahrenkrog, B. (2008) *Histochem. Cell Biol.*, **129**, 105–116.
- 6) Callan, H.G. & Tomlin, S.G. (1950) *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **137**, 367–378.
- 7) Gall, J.G. (1967) *J. Cell Biol.*, **33**, 391–399.
- 8) Aaronson, R.P. & Blobel, G. (1974) *J. Cell Biol.*, **62**, 746–754.
- 9) Alber, F., Dokudovskaya, S., Veenhoff, L.M., Zhang, W., Kipper, J., Devos, D., Suprpto, A., Karni-Schmidt, O., Williams, R., Chait, B.T., Sali, A., & Rout, M.P. (2007) *Nature*, **450**, 695–701.
- 10) Frenkiel-Krispin, D., Maco, B., Aebi, U., & Medalia, O. (2010) *J. Mol. Biol.*, **395**, 578–586.
- 11) Brohawn, S.G. & Schwartz, T.U. (2009) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **16**, 1173–1177.
- 12) Hsia, K.C., Stavropoulos, P., Blobel, G., & Hoelz, A. (2007) *Cell*, **131**, 1313–1326.
- 13) Wente, S.R., Rout, M.P. The nuclear pore complex and nuclear transport (2010) *Cold Spring Harb. Perspect Biol.*, **2**, a000562.
- 14) Schwartz, T.U. (2005) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **15**, 221–226.
- 15) Cronshaw, J.M., Krutchinsky, A.N., Zhang, W., Chait, B.T., & Matunis, M.J. (2002) *J. Cell Biol.*, **158**, 915–927.
- 16) Rout, M.P., Aitchison, J.D., Suprpto, A., Hjertaas, K., Zhao, Y., & Chait, B.T. (2000) *J. Cell Biol.*, **148**, 635–651.
- 17) DeGrasse, J.A., DuBois, K.N., Devos, D., Siegel, T.N., Sali, A., Field, M.C., Rout, M.P., & Chait, B.T. (2009) *Mol. Cell Proteomics*, **8**, 2119–2130.
- 18) Hoelz, A., Debler, E.W., & Blobel, G. (2011) *Annu. Rev. Biochem.*, **80**, 613–643.
- 19) Paoli, M. (2001) *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **76**, 103–130.
- 20) Cook, A., Bono, F., Jinek, M., & Conti, E. (2007) *Annu. Rev. Biochem.*, **76**, 647–671.
- 21) Chook, Y.M. & Blobel, G. (2001) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **11**, 703–715.
- 22) Xu, S. & Powers, M.A. (2009) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **20**, 620–630.
- 23) Tran, E.J. & Wente, S.R. (2006) *Cell*, **125**, 1041–1053.
- 24) Hetzer, M.W. (2010) *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2**, a000539.
- 25) Hetzer, M.W. & Wente, S.R. (2009) *Dev. Cell*, **17**, 606–616.
- 26) Hoelz, A. & Blobel, G. (2004) *Nature*, **432**, 815–816.
- 27) Yasuhara, N., Oka, M., & Yoneda, Y. (2009) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **20**, 590–599.
- 28) Cullen, B.R. (2003) *Trends Biochem. Sci.*, **28**, 419–424.
- 29) Blevins, M.B., Smith, A.M., Phillips, E.M., & Powers, M.A. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 20979–20988.
- 30) Kohler, A. & Hurt, E. (2007) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 761–773.
- 31) Stewart, M. (2007) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 195–208.
- 32) Peters, R. (2009) *Bioessays*, **31**, 466–477.
- 33) Katahira, J. & Yoneda, Y. (2011) *Traffic*, in press.
- 34) Rodríguez-Navarro, S. & Hurt, E. (2011) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **23**, 302–309.
- 35) Iwamoto, M., Asakawa, H., Hiraoka, Y., & Haraguchi, T. (2010) *Genes Cells*, **15**, 661–669.
- 36) Guttinger, S., Laurell, E., & Kutay, U. (2009) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **10**, 178–191.
- 37) Walczak, C.E. & Heald, R. (2008) *Int. Rev. Cytol.*, **265**, 111–158.
- 38) 前島一博, 今本尚子 (2008) 生化学, **80**, 118–124.
- 39) Burke, B. & Ellenberg, J. (2002) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **3**, 487–497.
- 40) Maul, G.G. (1977) *J. Cell Biol.*, **74**, 492–500.
- 41) Maul, G.G. (1977) *Int. Rev. Cytol. Suppl.*, **1977**, 75–186.
- 42) D'Angelo, M.A. & Hetzer, M.W. (2008) *Trends Cell Biol.*, **18**, 456–466.
- 43) Wozniak, R., Burke, B., & Doye, V. (2010) *Cell Mol. Life Sci.*, **67**, 2215–2230.
- 44) Nakano, H., Wang, W., Hashizume, C., Funasaka, T., Sato, H., & Wong, R. (2011) *Cell Cycle*, **10**, 425–433.
- 45) Chin, K., DeVries, S., Fridlyand, J., Spellman, P.T., Roydasgupta, R., Kuo, W.L., Lapuk, A., Neve, R.M., Qian, Z., Ryder, T., Chen, F., Feiler, H., Tokuyasu, T., Kingsley, C., Dairkee, S., Meng, Z., Chew, K., Pinkel, D., Jain, A., Ljung, B.M., Esserman, L., Albertson, D.G., Waldman, F.M., & Gray, J.W. (2006) *Cancer Cell*, **10**, 529–541.
- 46) Wong, R.W., Blobel, G., & Coutavas, E. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **103**, 19783–19787.
- 47) Faria, P.A., Chakraborty, P., Levay, A., Barber, G.N., Ezelle, H.J., Enninga, J., Arana, C., van Deursen, J., & Fontoura, B.M. (2005) *Mol. Cell*, **17**, 93–102.
- 48) Pritchard, C.E., Fornerod, M., Kasper, L.H., & van Deursen, J. M. (1999) *J. Cell Biol.*, **145**, 237–254.
- 49) Ren, Y., Seo, H.S., Blobel, G., & Hoelz, A. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **107**, 10406–10411.
- 50) Jegannathan, K.B., Malureanu, L., & van Deursen, J.M. (2005) *Nature*, **438**, 1036–1039.
- 51) Funasaka, T., Nakano, H., Wu, Y., Hashizume, C., Gu, L., Nakamura, T., Wang, W., Zhou, P., Moore, M.A., Sato, H., & Wong, R.W. (2011) *Cell Cycle*, **10**, 1456–1467.
- 52) Kraemer, D., Dresbach, T., & Drenckhahn, D. (2001) *Eur. J. Cell Biol.*, **80**, 733–740.
- 53) Blower, M.D., Nachury, M., Heald, R., & Weis, K. (2005) *Cell*, **121**, 223–234.
- 54) Wong, R.W. & Blobel, G. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **105**, 15441–15445.
- 55) Wong, R.W. (2010) *Cell Cycle*, **9**, 198–200.
- 56) Wong, R.W. (2010) *Cell Cycle*, **9**, 1754–1758.
- 57) Kong, X., Ball, A.R., Jr., Sonoda, E., Feng, J., Takeda, S., Fukagawa, T., Yen, T.J., & Yokomori, K. (2009) *Mol. Biol. Cell*, **20**, 1289–1301.
- 58) Diaz-Martinez, L.A., Beauchene, N.A., Furniss, K., Esponda,

- P., Gimenez-Abian, J.F., & Clarke, D.J. (2010) *Cell Cycle*, **9**, 1764–1773.
- 59) Diaz-Martinez, L.A. & Clarke, D.J. (2009) *Cell Cycle*, **8**, 2733–2740.
- 60) Gimenez-Abian, J.F., Diaz-Martinez, L.A., Beauchene, N.A., Hsu, W.S., Tsai, H.J., & Clarke, D.J. (2010) *Cell Cycle*, **9**, 1759–1763.
- 61) Beauchene, N.A., Diaz-Martinez, L.A., Furniss, K., Hsu, W.S., Tsai, H.J., Chamberlain, C., Esponda, P., Gimenez-Abian, J.F., & Clarke, D.J. (2010) *Cell Cycle*, **9**, 1774–1780.
- 62) Rao, C.V., Yamada, H.Y., Yao, Y., & Dai, W. (2009) *Carcinogenesis*, **30**, 1469–1474.
- 63) Lee, S.H., Sterling, H., Burlingame, A., & McCormick, F. (2008) *Genes Dev.*, **22**, 2926–2931.
- 64) Lince-Faria, M., Maffini, S., Orr, B., Ding, Y., Claudia, F., Sunkel, C.E., Tavares, A., Johansen, J., Johansen, K.M., & Maiato, H. (2009) *J. Cell Biol.*, **184**, 647–657.
- 65) Nakano, H., Funasaka, T., Hashizume, C., & Wong, R.W. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 10841–10849.
- 66) Peschard, P. & Park, M. (2007) *Oncogene*, **26**, 1276–1285.
- 67) Belgareh, N., Rabut, G., Bai, S.W., van Overbeek, M., Beaudouin, J., Daigle, N., Zatschina, O.V., Pasteau, F., Labas, V., Fromont-Racine, M., Ellenberg, J., & Doye, V. (2001) *J. Cell Biol.*, **154**, 1147–1160.
- 68) Liodice, I., Alves, A., Rabut, G., Van Overbeek, M., Ellenberg, J., Sibarita, J.B., & Doye, V. (2004) *Mol. Biol. Cell*, **15**, 3333–3344.
- 69) Resendes, K.K., Rasala, B.A., & Forbes, D.J. (2008) *Mol. Cell Biol.*, **28**, 1755–1769.
- 70) Glavy, J.S., Krutchinsky, A.N., Cristea, I.M., Berke, I.C., Boehmer, T., Blobel, G., & Chait, B.T. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**, 3811–3816.
- 71) Zuccolo, M., Alves, A., Galy, V., Bolhy, S., Formstecher, E., Racine, V., Sibarita, J.B., Fukagawa, T., Shiekhatar, R., Yen, T., & Doye, V. (2007) *EMBO J.*, **26**, 1853–1864.
- 72) Rasala, B.A., Ramos, C., Harel, A., & Forbes, D.J. (2008) *Mol. Biol. Cell*, **19**, 3982–3996.
- 73) Platani, M., Santarella-Mellwig, R., Posch, M., Walczak, R., Swedlow, J.R., & Mattaj, I.W. (2009) *Mol. Biol. Cell*, **20**, 5260–5275.
- 74) Mishra, R.K., Chakraborty, P., Arnaoutov, A., Fontoura, B.M., & Dasso, M. (2010) *Nat. Cell Biol.*, **12**, 164–169.
- 75) Matunis, M.J. & Pickart, C.M. (2005) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **12**, 565–566.
- 76) Wu, J., Matunis, M.J., Kraemer, D., Blobel, G., & Coutavas, E. (1995) *J. Biol. Chem.*, **270**, 14209–14213.
- 77) Joseph, J., Tan, S.H., Karpova, T.S., McNally, J.G., & Dasso, M. (2002) *J. Cell Biol.*, **156**, 595–602.
- 78) Joseph, J., Liu, S.T., Jablonski, S.A., Yen, T.J., & Dasso, M. (2004) *Curr. Biol.*, **14**, 611–617.
- 79) Arnaoutov, A., Azuma, Y., Ribbeck, K., Joseph, J., Boyarchuk, Y., Karpova, T., McNally, J., & Dasso, M. (2005) *Nat. Cell Biol.*, **7**, 626–632.
- 80) Salina, D., Enarson, P., Rattner, J.B., & Burke, B. (2003) *J. Cell Biol.*, **162**, 991–1001.
- 81) Dawlaty, M.M., Malureanu, L., Jeganathan, K.B., Kao, E., Sustmann, C., Tahk, S., Shuai, K., Grosschedl, R., & van Deursen, J.M. (2008) *Cell*, **133**, 103–115.
- 82) Hashizume, C., Nakano, H., Yoshida, K., & Wong, R.W. (2010) *Mol. Cancer*, **9**, 119.
- 83) Mackay, D.R., Elgort, S.W., & Ullman, K.S. (2009) *Mol. Biol. Cell*, **20**, 1652–1660.
- 84) Lussi, Y., Shumaker, D., Shimi, T., & Fahrenkrog, B. (2010) *Nucleus*, **1**, 71–84.
- 85) Mackay, D.R., Makise, M., & Ullman, K.S. (2009) *J. Cell Biol.*, **191**, 923–931.
-