

【目的】 トランスポート1 (カリオフィリン $\beta 2$: Kap $\beta 2$) は核内輸送受容体タンパク質であり、細胞質で翻訳されたタンパク質の核移行シグナル (Nuclear localization signal : NLS) を認識して結合し、核内へと輸送するはたらきを持つ。Kap $\beta 2$ が核内へと輸送するタンパク質群は高い相分離性を有しており、Kap $\beta 2$ のもうひとつの機能として相分離を抑制するはたらきが近年明らかとされた。相分離性タンパク質の相分離異常が基となる凝集沈着物は、疾患とも密接に関わることが示唆されている。したがって、Kap $\beta 2$ による輸送および相分離制御は極めて重要な機構であると考えられる。重篤な神経変成疾患である筋萎縮性側索硬化症 ALS において、Kap $\beta 2$ の輸送基質のひとつである RNA 結合タンパク質 FUS の細胞質での凝集体形成が報告されている。また、遺伝性 ALS の原因因子として *C9orf72* 遺伝子の繰り返し配列の増幅が挙げられる。*C9orf72* 遺伝子の繰り返し配列の増幅によって、5 種類の 2 アミノ酸の繰り返しペプチドが産出されるが、それらのうち、アルギニンを含むプロリン-アルギニン (PR) またはグリシン-アルギニン (GR) の繰り返しペプチドが特に高い毒性を示すことが報告されている。本研究では、これらの繰り返しペプチドが Kap $\beta 2$ による FUS の相分離制御に与える影響を明らかとし、繰り返しペプチドに起因する相分離破綻のメカニズムを解明することを目的とした。

【方法】 本研究では生化学的な観点から、精製タンパク質を用いた相互作用解析を中心に行った。相分離の抑制制御は、濁度法および蛍光顕微鏡観察により評価した。相互作用解析にはプルダウンバイndィングアッセイ法、等温滴定カロリーメトリー法、SEC-MALS 法、NMR 法を用いた。

【結果】 *C9orf72* 遺伝子の繰り返し増幅が産出し得る 5 種類の繰り返しペプチドが Kap $\beta 2$ による FUS の相分離抑制に与える影響を評価したところ、PR または GR の繰り返し配列が Kap $\beta 2$ の機能を阻害した。繰り返し PR (PRn) と Kap $\beta 2$ との相互作用をプルダウンバイndィングアッセイ法により検出したところ、繰り返し回数依存的な結合であった。等温滴定カロリーメトリー法および SEC-MALS 法により、PRn と Kap $\beta 2$ との結合が 1 対 1 であることを明らかとした。NMR 法により PRn は Kap $\beta 2$ の NLS 結合部位に、競合的に結合することが示唆された。

プロリン-アルギニン繰り返しペプチド (PRn) による Kap $\beta 2$ の相分離抑制阻害のモデル

