

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		核外輸送受容体 CRM1 の構造動態と機能の関心の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Functional significance of conformational dynamics of the nuclear export receptor CRM1			
研究氏 代表 者	カタカナ CC	姓) マツウラ	名) ヨシユキ	研究期間 B	2009 ~ 2010 年
	漢字 CB	松浦	能行	報告年度 YR	2011 年
	ローマ字 CZ	Matsuura	Yoshiyuki	研究機関名	名古屋大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		名古屋大学大学院理学研究科・准教授			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>真核細胞において、核-細胞質間の高分子能動輸送は、多様な生理機能を支える重要なプロセスである。CRM1 は代表的な核外輸送受容体(exportin)であり、Leu-rich nuclear export signal (NES)をもつ輸送基質(cargo)を認識して核から細胞質に運び出す。CRM1 による核外輸送では、まず核内で CRM1 と NES-cargo と RanGTP が3者複合体(核外輸送複合体)を形成する。この複合体は CRM1 と核膜孔複合体構成蛋白質群の相互作用により核膜孔を通過する。最後に細胞質で、Ran による GTP 加水分解を促進する蛋白質群(RanBP1, RanGAP)の作用により CRM1 核外輸送複合体は解体される。</p> <p>最近 CRM1:NES-cargo:RanGTP 複合体の結晶構造がいくつかの NES について解かれ、CRM1 による Leu-rich NES の特異的認識機構(CRM1 外側表面の疎水性の溝に NES の疎水性残基の側鎖がはまる)の理解が進んだ。一方、私たちは、細胞質における CRM1 核外輸送複合体解体反応の中間体に相当する CRM1:RanBP1:RanGTP 複合体の結晶構造を 2.0 Å 分解能で解いた。CRM1:NES-cargo:RanGTP 複合体との構造比較や、独自に開発した速度論解析系を用いた変異体解析の結果から、「CRM1 内部に、NES 結合部位(疎水性の溝)への NES 結合をアロステリックに自己阻害する調節ループ(HEAT9 ループ)が存在し、RanGTP はこのループによる自己阻害を解除することにより NES-cargo の CRM1 への結合を可能にする」ことが示唆され、「細胞質に局在する RanBP1 は CRM1 の HEAT9 ループを Ran から引き離し、NES の結合を自己阻害できる位置に移動させ、NES 結合部位を open 状態から closed 状態に変化させることで NES-cargo の解離を促進する」という分子メカニズムが明らかになった。すなわち、本研究により、CRM1 による核外輸送の方向性制御機構の構造基盤の理解が大きく進んだ。</p>					
キーワード FA	構造生物学	X 線結晶解析	核外輸送	CRM1	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	An allosteric mechanism to displace nuclear export cargo from CRM1 and RanGTP by RanBP1							
	著者名 ^{GA}	Masako Koyama & Yoshiyuki Matsuura	雑誌名 ^{GC}	EMBO J.					
	ページ ^{GF}	2002~2013	発行年 ^{GE}	2	0	1	0	巻号 ^{GD}	29
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Macromolecular transport into and out of the nucleus through nuclear pore complexes is a crucial cellular function that regulates many physiological processes including gene expression, cell proliferation and differentiation. The karyopherin CRM1 mediates nuclear export of proteins and ribonucleoproteins bearing a leucine-rich nuclear export signal (NES). CRM1 is constructed from 21 tandem HEAT repeats and, although the structural basis for the recognition of NES by CRM1 and RanGTP in the nucleus has been established, the precise mechanism by which NES-cargos are dissociated from CRM1 in the cytoplasm, which is important for transport directionality, has remained elusive. In this study we showed that the Ran-binding domains (RanBDs) of the cytoplasmic proteins RanBP1 and RanBP2, but not RanGAP, accelerate release of NES-cargos from CRM1:RanGTP by over two orders of magnitude. Moreover we determined a 2.0 angstrom-resolution crystal structure of yeast CRM1:RanBP1:RanGTP complex that shows that the NES and RanBD binding sites on CRM1 are distinct and suggests that, on association of RanBD with the CRM1:NES-cargo:RanGTP complex, RanBD and the C-terminal acidic residues of Ran induce a large movement of the intra-HEAT9 loop. The loop moves to the CRM1 inner surface immediately behind the NES-binding site and causes conformational rearrangements in HEAT repeats 11 and 12 so that the hydrophobic NES-binding cleft on the CRM1 outer surface closes, squeezing out the NES-cargo. Structure-based mutagenesis indicated that the HEAT9 loop also functions as an allosteric autoinhibitor to stabilize CRM1 in a conformation that is unable to bind NES-cargo in the absence of RanGTP.