

氏 名 小 池 牧 子

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第723号

学位授与の日付 平成15年9月30日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Determination of regions required for nuclear  
import and export of  $\beta$ -catenin: Implication  
for distinct molecular interactions involved  
in bi-directional nuclear pore passage

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 廣瀬 進  
教授 池村 淑道  
教授 吉森 保  
教授 米田 悦啓 (大阪大学)  
助教授 仁木 宏典

## 論文内容の要旨

The nucleocytoplasmic transport of macromolecules occurs through the nuclear pore complex (NPC). Most transport events through the NPC are mediated by transport receptor molecules. The localization of  $\beta$ -catenin to the nucleus is a crucial step in the transduction of the Wnt/Wingless signal. Upon activation of the Wnt pathway,  $\beta$ -catenin accumulates in the nucleus. Previous studies indicated that  $\beta$ -catenin could translocate on its own through the nuclear pores without the aid of small GTPase Ran, and shuttles between the cytoplasm and the nucleus. The export of  $\beta$ -catenin also occurs in a Ran-independent manner. Unlike receptor-mediated transport,  $\beta$ -catenin transport appears to use a rather unconventional mechanism, possibly through the direct interaction with NPC components. In this study, I have analyzed the sequence requirement of  $\beta$ -catenin for its Ran-independent import and export in living mammalian cells and in the in vitro transport assay using semi-intact cells. I confirmed that a  $\beta$ -catenin fragment containing both Armadillo repeats 10-12 and the C-terminus possesses most strong nuclear import and export activity. Further dissection of this fragment showed that C-terminus of  $\beta$ -catenin is most important for its import and export. Moreover, I found that region required for  $\beta$ -catenin import and export overlaps, but they are not identical. Competition studies using different transport receptors under different conditions indicated that interaction(s) required for  $\beta$ -catenin import and export differ at NPC.

## 論文の審査結果の要旨

$\beta$ カテニンはそれ自身で small GTPase Ran などの輸送因子に依存せずに核・細胞質間をシャトルし、Wnt/Wingless シグナルの存在下で安定化して核に局在して転写活性化因子として働くことが知られている。小池さんは、 $\beta$ カテニンの様々な領域に欠失をもつ変異体を作製し、その核内外移行活性を調べた。その結果、 $\beta$ カテニンのアルマジロリピート10-12番目とC末を含む領域が、核内外移行を担う領域であることが明らかになり、特にC末領域の重要性が示された。 $\beta$ カテニンのC末部分は、転写活性化ドメインとして知られているが、この蛋白質の核内外移行にも必要であり、C末部分の新しい役割を示すことができた。 $\beta$ カテニンのように核膜孔を Ran 非依存的にシャトルする分子の核膜孔通過反応が、その核内移行と核外移行で相互作用する核膜孔複合体構成因子が同じか否かについては解っておらず、通過反応を考える上で重要な議論の一つになっている。小池さんの解析で、 $\beta$ カテニンの核内移行と核外移行を担う領域が完全に一致していないことが明らかになった。輸送担体との競合阻害実験から、細胞質から核内へ向かう核膜孔通過反応と核から細胞質へ向かう核膜孔通過反応の分子間相互作用に違いがあることが強く示唆された。

以上のように、この論文の内容はタンパク質の核内移行と核外移行において核膜孔通過反応に違いあることを初めて示したもので、遺伝学専攻の博士論文としての条件を満たすことを審査委員全員が認めた。