

## 審査結果の要旨

氏名 畑山 実

申請者 畑山実氏の研究は神経発生や左右軸形成に関わる転写制御因子である ZIC3 の核移行シグナル (NLS) を同定し、核内輸送メカニズムを明らかにしたものである。また、ZIC3 の NLS 周辺の立体構造を解くことで、ZIC3 の持つ非典型的な NLS の立体構造と古典的な二分型 NLS の立体構造との間に類似性を見いだしている。一方、心奇形患者から単離され細胞内局在に異常をきたすヒト ZIC3 の突然変異体に対して構造生物学的な解析をおこない、細胞内局在の変化を生じる原因を追究した。

一連の核移行に関わる研究は、これまでアミノ酸の一次配列に限局していた NLS に対する概念を大きく拡張するもので、蛋白質の核内輸送の研究に大きく貢献するものである。また、突然変異体の細胞内局在の異常についても、構造生物学的知見を含めた検討をおこない、発症機序の解明に大きく貢献した。本研究により得られた新知見は、次のように要約される。

1. ZIC3 の NLS 活性は、保存性の高い Zinc finger 2 および 3 に認められた。その活性の中心は R320、K337、R350 のそれぞれのアミノ酸残基であった。
2. ZIC3 の核内への輸送に関わる受容体は Karyopherin  $\alpha 1$  および  $\alpha 6$  であった。
3. ZIC3 の NLS 周辺の立体構造 (Zinc finger 1 から 4) を解き、古典的 NLS である nucleoplasmin の立体構造と比較することにより、両者の側鎖の空間的配置に類似性を見いだした。
4. 新たに心奇形患者から発見されたおよび既知の C253S、H286R 点突然変異蛋白質は、ツメガエル胚をもちいた実験系において左右軸の誘導活性が低下していた。
5. C253S、H286R 点突然変異蛋白質は CD スペクトルの解析から、二次構造にランダムコイルが増加していた。一方 W255G 点突然変異蛋白質は Zinc finger 1 と 2 の間に生じる疎水性コアを介した相互作用が低下していた。

以上の結果から、申請者 畑山実氏の研究内容は、細胞生物学、発生生物学の領域で新知見を与えるものであり、博士 (医学) の学位に値するものとする。