

らかとなっている。Jeyakumarらはアスピリンなどの抗炎症剤やL-アスコルビン酸のようなラジカル捕捉剤をSDマウスに投与すると、12%–23%程度寿命が延長することを報告した<sup>10)</sup>。

### 3-4) 遺伝子治療

ウイルスベクターなどを用いて正常な遺伝子を導入する遺伝子治療はSDマウスに対しても試みられている。Bourgoinらはアデノウイルスをマンニトールと同時に大脳半球に投与し、正常レベルまで酵素活性を回復させることに成功している<sup>11)</sup>。アデノウイルスベクターを用いる場合は高効率で遺伝子導入を行うことができるが、発現が持続しないという難点をもっている。そこで我々は神経細胞などの非増殖性細胞に導入でき、長期に遺伝子発現が行えるレンチウイルスベクターを作製し、SDマウスから単離したミクログリア初代培養に感染を行った<sup>12)</sup>。その結果、ミクログリア内で酵素が発現し、蓄積していた生体内基質が減少すること、また野生型と同様、発現した酵素が細胞外に分泌されることが明らかになった(図3A及びB)。最近ではCachon-Gonzalezらが、Hexの $\alpha$ 鎖及び $\beta$ 鎖にprotein transduction domain (PTD)を融合させたアデノ随伴ウイルスベクターを構築し、SDマウスの脳内にマンニトールと同時に投与を行い、約12ヶ月まで寿命が延長したことを報告している<sup>13)</sup>。これは高い効率で正常遺伝子が導入され、分泌された融合酵素が広範囲に分布し、酵素欠損細胞内への取り込みが起こったためである。

## 4. おわりに

最近のSandhoff病の分子病理に関する研究知見は、GM2ガングリオシドーシスの治療法を考案する上で、神経細胞におけるGM2蓄積のみならず、ミクログリアやアストロサイトなどのグリア細胞の活性化による神経炎症にも注目する必要があることを示している。特にケモカインレセプターの阻害剤などケモカインを介した炎症をターゲットとした抗炎症療法は興味深く、現行の治療法と組み合わせた新規治療法として今後の開発が期待される。

- 1) Gravel, R.A., Kaback, M.M., Proia, R.L., Sandhoff, K., & Suzuki, K. (2001) *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. (Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W. S., & Valle, D. ed.), pp. 3827–3876, McGraw-Hill, New York.
- 2) Sango, K., Yamanaka, S., Hoffmann, A., Okuda, Y., Grinberg, A., Westphal, H., McDonald, M.P., Crawley, J.N., Sandhoff, K., Suzuki, K., & Proia, R.L. (1995) *Nat. Genet.*, **11**, 170–176.
- 3) Wada, R., Tiffit, C.J., & Proia, R.L. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 10954.

- 4) Jeyakumar, M., Thomas, R., Elliot-Smith, E., Smith, D.A., van der Spoel, A.C., d'Azzo, A., Perry, V.H., Butters, T.D., Dwek, R.A., & Platt, F.M. (2003) *Brain*, **126**, 974–987.
- 5) Tsuji, D., Kuroki, A., Ishibashi, Y., Itakura, T., Kuwahara, J., Yamanaka, S., & Itoh, K. (2005) *J. Neurochem.*, **92**, 1497–1507.
- 6) Wu, Y.P. & Proia, R.L. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 8425–8430.
- 7) Norflus, F., Tiffit, C.J., McDonald, M.P., Glodstein, G., Crawley, J.N., Hoffmann, A., Sandhoff, K., Suzuki, K., & Proia, R.L. (1998) *J. Clin. Invest.*, **101**, 1881–1888.
- 8) Jeyakumar, M., Butters, T.D., Cortina-Borja, M., Hunnam, V., Proia, R.L., Perry, V.H., Dwek, R.A., & Platt, F.M. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 6388–6393.
- 9) Jeyakumar, M., Norflus, F., Tiffit, C.J., Cortina-Borja, M., Butters, T.D., Proia, R.L., Perry, V.H., Dwek, R.A., & Platt, F.M. (2001) *Blood*, **97**, 327–329.
- 10) Jeyakumar, M., Smith, D.A., Willims, I.M., Borja, M.C., Neville, D.C.A., Butters, T.D., Dwek, R.A., & Platt, F.M. (2004) *Ann. Neurol.*, **56**, 642–649.
- 11) Bourgoin, C., Emiliani, C., Kremer, E.J., Gelot, A., Tancini, B., Gravel, R.A., Drugan, C., Orlacchio, A., Poenaru, L., & Caillaud, C. (2003) *Gene Ther.*, **10**, 1841–1849.
- 12) Tsuji, D., Kuroki, A., Ishibashi, Y., Itakura, T., & Itoh, K. (2005) *J. Neurochem.*, **94**, 1631–1638.
- 13) Cachon-Gonzalez, M.B., Wang, S.Z., Lynch, A., Ziegler, R., Cheng, S.H., & Cox, T.M. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 10373–10378.

辻 大輔, 伊藤 孝司

(徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部  
創薬生命工学分野)

Molecular pathogenesis and therapeutic targets of lysosomal diseases

Daisuke Tsuji and Kohji Itoh (Department of Medicinal Biotechnology, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima, 1-78 Sho-machi, Tokushima 770-8505, Japan)

## 抗腫瘍性酵素 L-メチオニン $\gamma$ -リアーゼの構造機能解析

### 1. はじめに

土壌細菌 *Pseudomonas putida* 由来の L-メチオニン  $\gamma$ -リアーゼ (EC 4.4.1.11) はビタミン B<sub>6</sub> 関与酵素群の中でも特に  $\gamma$ -ファミリーに属する酵素である。疎水性アミノ酸である L-メチオニンの脱離および置換反応を触媒する。本

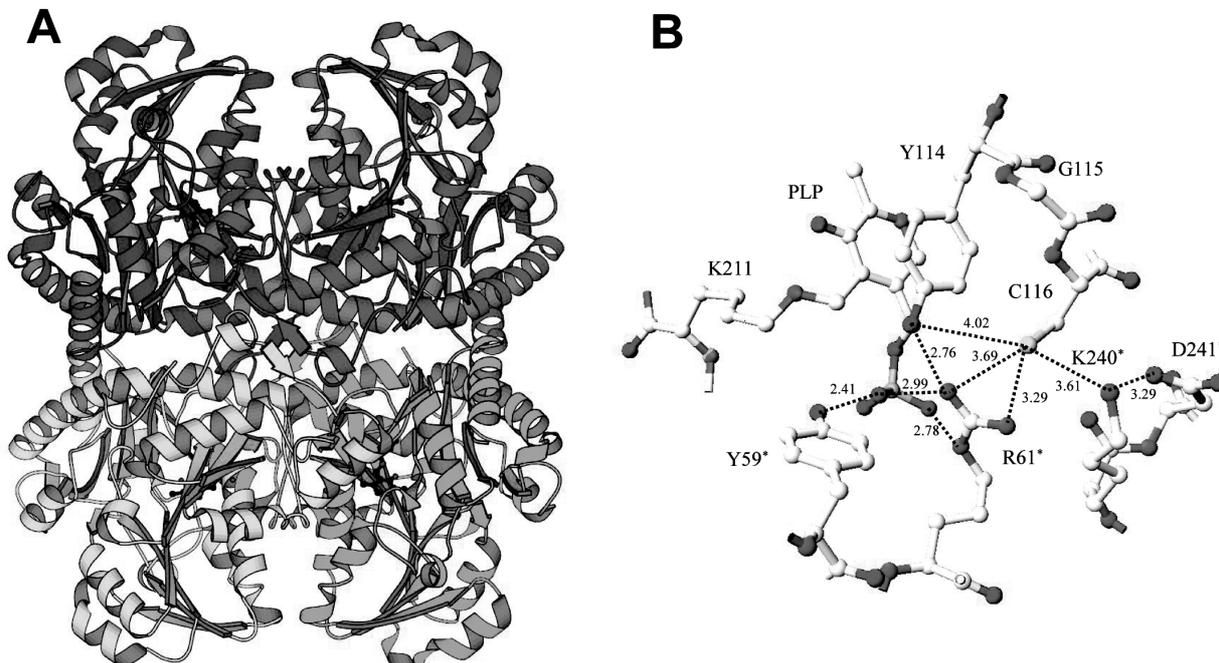


図1 *Pseudomonas putida* 由来 L-メチオニン  $\gamma$ -リアーゼの立体構造

(A)四次構造, (B)活性中心. \*を付けたアミノ酸残基は, 隣接サブユニット由来のもの. また数値は, 原子間距離 (単位Å) を示す.

酵素の類縁酵素としてシスタチオニン  $\gamma$ -シクターゼ, シスタチオニン  $\gamma$ -リアーゼ及びシスタチオニン  $\beta$ -リアーゼが挙げられる. 本酵素と大腸菌由来のシスタチオニン  $\beta$ -リアーゼでは 25%, シスタチオニン  $\gamma$ -シクターゼでは 36% のアミノ酸の相同性がある.

本稿では, 最近明らかになった L-メチオニン  $\gamma$ -リアーゼの立体構造と活性中心残基 Cys116 の機能及び本酵素の進化的考察, また抗がん剤としての応用について紹介する.

## 2. L-メチオニン $\gamma$ -リアーゼの構造と機能

L-メチオニン  $\gamma$ -リアーゼはビタミン B<sub>6</sub> (ピリドキサル 5'-リン酸, PLP) 関与酵素である. 398 アミノ酸残基からなり, 四つのサブユニットが会合することで約 170kDa のホモテトラマー構造を形成している<sup>1)</sup>. 一つのサブユニットは三つのドメイン (N 末端ドメイン, PLP 結合ドメイン, C 末端ドメイン) からなっている. 各サブユニット 1 モルに対し 1 モルの PLP 分子を有しており, ダイマー構造を形成することで活性中心を保持することができる. 本酵素は L-メチオニンとその誘導体の  $\alpha$ ,  $\gamma$ -脱離反応,  $\gamma$ -置換反応に加え, L-システインとその誘導体の  $\alpha$ ,  $\beta$ -脱離反応,  $\beta$ -置

換反応を触媒する非常に多機能な酵素である.

近年, 本酵素の結晶構造が完全に解析され, より詳細な検討が可能となった (図 1. A)<sup>2)</sup>. 特にこれまで不明であった活性中心の三次構造と N 末端ドメインに関する知見を得ることが可能となった. 他の  $\gamma$ -ファミリー酵素にも高度に保存されている隣接サブユニット由来 Tyr59 と Arg61 は, PLP のリン酸基と水素結合している. また, Tyr114 と Cys116, 隣接サブユニット由来の Lys240 と Asp241 の四つの残基を含んだ静電的ネットワークが存在することが判明した (図 1. B).

本酵素は  $\gamma$ -ファミリーに属する B<sub>6</sub> 酵素に共通して認められる Tyr 残基を 114 番目に保持している. 我々は, この Tyr114 が一般酸触媒として機能しており, 触媒回転における必須残基であることを明らかにした<sup>3)</sup>. 一方, Tyr114 近傍に存在する Cys116 は,  $\gamma$ -ファミリーに属する他の B<sub>6</sub> 酵素間では保存されていないものの, ほぼ全ての L-メチオニン  $\gamma$ -リアーゼに共通して認められる特有なアミノ酸残基であり, 活性中心近傍に存在していることから, 本酵素の反応に重要な役割を持つことが考えられた (図 1. B). この Cys116 残基の機能については NTCB (2-nitro-5-thiocyanobenzoic acid) による化学修飾<sup>4)</sup>や自殺基質である

L-プロパルギルグリシンを用いた実験, さらに変異体を用いた実験により研究がなされている。

化学修飾と自殺基質による検討で, この残基は触媒反応には直接関与していないが, 活性部位で求核性の残基として機能しうることが示唆されている。さらに, 19種類のCys116変異酵素の無細胞抽出液を用いた実験から, すべての変異酵素で比活性が野生型の約10分の1以下という結果が得られた。また, Cys116への変異導入は, 基質特異性に対して顕著な影響を与えた。変異酵素の速度論解析からCys116は本酵素のL-メチオニン分解反応において, そのアニオンとしての寄与が必要であることが示唆された。以上のことから, 本酵素においてCys116残基がL-メチオニンの $\gamma$ -脱離反応に重要であるということが強く示唆された。

Lys240とAsp241の両残基への部位特異的な変異導入により, L-メチオニン分解活性が著しく低下し, 基質特異性も影響を受けたことから, それらの残基も活性中心における水素結合ネットワーク(図1.B)を介して触媒反応に関与していることが示唆された。

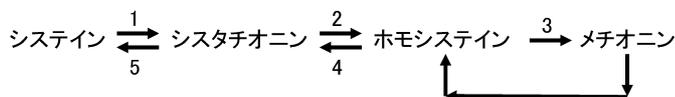
### 3. L-メチオニン $\gamma$ -リアーゼの進化学的考察

原始地球は還元的な環境であったというのが現在の定説であり, そのような極限的な環境で始原生物が誕生したと考えられている。その後生物は, 三つのドメイン(古細菌, 真正細菌, 真核細菌)に別れ, それぞれが個々の環境下で進化を遂げ, 現在に至っている。生物という一つのカテゴリーの進化について着目するのであれば, それら細胞中のDNAやタンパク質の分子進化についても興味の対象が必然的に向けられる。

現在, 広く生物界に存在するメチオニン代謝経路はシスタチオニンを中間体とする硫黄転移経路, すなわちtrans-sulfuration pathwayという経路である(図2.A)。しかしながら, *P. putida*ではシスタチオニンを介さない転移経路が提唱されている(図2.B)<sup>5)</sup>。硫黄転移経路中の3以外はPLP関与のビタミンB<sub>6</sub>酵素である。また, これらの酵素のうち3と4以外は全て $\gamma$ -ファミリーのB<sub>6</sub>酵素である。図2のBの経路を特にdirect sulfhydrylation pathwayといい, Hachamらは6のO-スクシニルホモセリンスルフィドヒドラーゼが現在確認されている酵素群の中で $\gamma$ -ファミリーの祖先型であると提唱している<sup>6)</sup>。全くの推論だが, 還元的な環境下では酸素と同族の硫黄がエネルギー代謝の主流であった, すなわちBの硫黄代謝経路がメインだったのではないかと考えられる。しかし, この反応は硫化水素などの低分子からホモシステインが直接的に合成されることから, この一反応に大きなエネルギーが必要であり, また逆反応である7の反応もエネルギー的にストレスがかかると考えられる。現在提唱されている経路Aはメチオニンの合成・分解に数段階の反応を経ることから, 酸素がエネルギーの供給源となった世界では重宝され, 経路Bは隅に追いやられたと考えられる。実際, L-メチオニン $\gamma$ -リアーゼは数えるほどの生物(細菌, 原生動物及び植物)にしか存在が報告されていない。シスタチオニン $\gamma$ -シクターゼはホモセリン誘導体とシステインからのシスタチオニン合成反応を主に触媒するが, システインの代わりに硫化水素を基質としてホモシステインを合成する活性も有していることから, 完全に経路Bが淘汰されるということは今のところ考えにくい。

面白いことに, 最近Manukhovらによって腸内細菌属の

#### A. 硫黄転移経路



#### B. *P. putida*における推定メチオニン代謝

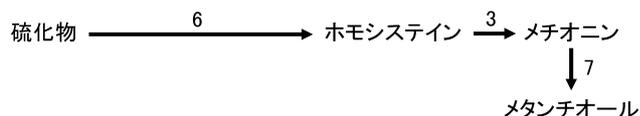


図2 硫黄転移経路(A)と*P. putida*における推定メチオニン代謝(B)

1, シスタチオニン $\gamma$ -シクターゼ; 2, シスタチオニン $\beta$ -リアーゼ; 3, メチオニンシクターゼ; 4, シスタチオニン $\beta$ -シクターゼ; 5, シスタチオニン $\gamma$ -リアーゼ; 6, O-スクシニルホモセリンスルフィドヒドラーゼ; 7, L-メチオニン $\gamma$ -リアーゼ

*Salmonella enterica*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Citrobacter rodentium* のゲノム中に、L-メチオニン  $\gamma$  リアーゼ様遺伝子の断片があることが報告された<sup>7)</sup>。彼らは、同じ腸内細菌 *Citrobacter freundii* に L-メチオニン  $\gamma$  リアーゼを発見し、同じ祖先から派生し、進化の過程で多くの微生物で L-メチオニン  $\gamma$  リアーゼ遺伝子が淘汰されたのではないかと述べている<sup>8)</sup>。今後、系統樹の根元に近い生物の L-メチオニン  $\gamma$  リアーゼの発見や機能解析が望まれる。

#### 4. L-メチオニン $\gamma$ リアーゼの抗腫瘍性

本酵素の結晶構造および機能解析から得られる成果は学術的に重要であるだけでなく、医療面から人類社会に多大な貢献が期待できる。本酵素の抗腫瘍活性は 25 年以上も前に確認されており、さまざまながん細胞に抗腫瘍活性を示すことも周知のこととなっている。一般的に多くのがん細胞はメチオニン要求性が高い。そのため本酵素によりメチオニン欠乏状態が維持されると、タンパク質や DNA の合成が阻害され、これによりがん細胞の細胞周期 S 期から G<sub>2</sub> 期への移行が阻害され、アポトーシスが誘導される。報告によると、5  $\mu$ M 以下のメチオニン濃度でがん細胞はアポトーシスを誘導する<sup>9)</sup>。我々は本酵素の抗腫瘍活性のメカニズム解析を行うとともに、精密構造機能解析の知見に基づいた機能改変を現在行っている。その目的は、野生型酵素より強力かつ安全な次世代型抗腫瘍性酵素を創出することにある。

ところで、L-メチオニン  $\gamma$  リアーゼの臨床的応用は血中投与によるものであり、これによりその安定性あるいは活性が著しく損なわれる可能性が存在する。そこで抗がん剤としての血中安定性向上のために、以下の点について研究がなされた<sup>10)</sup>。

1. L-メチオニン  $\gamma$  リアーゼのポリエチレングリコール (PEG) 修飾
2. 酸化防止のためのジチオスレイトール (DTT) 処理
3. PLP 脱離防止のための補酵素 PLP とオレイン酸の供与

PEG 修飾による臨床開発以外にもアデノウイルスを用いた遺伝子治療も検討されている<sup>11)</sup>。これは、がん細胞特異的に本酵素遺伝子を導入し、細胞内メチオニン濃度を低下させ、がん細胞のメチオニン要求性を高めることで、アポトーシスを誘導するという方法である。また今一つの方法として、自殺誘導性基質であるセレノメチオニンと共役させることで、より強力な抗腫瘍活性を獲得させるという方法も考えられている<sup>12)</sup>。L-メチオニン  $\gamma$  リアーゼは既に

抗がん剤として利用されている 5-フルオロウラシルやシスプラチンとの併用で、相乗効果が認められている<sup>13,14)</sup>。昨今の抗がん剤は重篤な副作用のリスクを抱えているが、L-メチオニン  $\gamma$  リアーゼによる副作用は動物実験においてほとんどみられていない。このことから、本酵素の新規抗がん剤としての臨床応用が大いに期待されるのである。

本酵素は抗がん剤以外にも肥満、パーキンソン病、心循環系疾患、老化、及びトリコモナス症の治療剤として<sup>15,16)</sup>、さらに近年では歯周病予防、口臭抑制剤への応用が期待されている<sup>17)</sup>。さらに薬剤としての応用以外にも、ホモシチン尿症及び高ホモシチン血症のマス・スクリーニングや、心筋梗塞や動脈硬化のリスクファクターであるホモステインの微量測定などへの応用も期待される。

#### 5. おわりに

本酵素の医学への応用範囲はがん治療に留まらず多岐にわたっており、その実用化が期待されている。このような目的においては、酵素を保有する生物の生育環境に対して最適化されている天然型の酵素をそのまま用いるよりも、それぞれの利用目的にふさわしい性質に改変した酵素を利用する方がより効果的である。このことから、本酵素の精密構造機能解析とそれに基づく高機能化が大いに望まれるところである。

- 1) Motoshima, H., Inagaki, K., Kumasaka, T., Furuichi, M., Inoue, H., Tamura, T., Esaki, N., Soda, K., Tanaka, N., Yamamoto, M., & Tanaka, H. (2000) *J. Biochem.*, **128**, 349-354.
- 2) Kudou, D., Misaki, S., Yamashita, M., Tamura, T., Takakura, T., Yoshioka, T., Yagi, S., Hoffman, R.M., Takimoto, A., Esaki, N., & Inagaki, K. (2007) *J. Biochem.*, **141**, 535-544.
- 3) Inoue, H., Inagaki, K., Adachi, N., Tamura, T., Esaki, N., Soda, K., & Tanaka, H. (2000) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 2336-2343.
- 4) Nakayama, H., Esaki, N., Soda, K., & Tanaka, H. (1988) *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 177-183.
- 5) Vermeij, P. & Kertesz, M.A. (1999) *J. Bacteriol.*, **181**, 5833-5837.
- 6) Hacham, Y., Gophna, U., & Amir, R. (2003) *Mol. Biol. Evol.*, **20**, 1513-1520.
- 7) Manukhov, I.V., Mamaeva, D.V., Rastoruev, S.M., Faleev, N. G., Morozova, E.A., Demidkina, T.V., & Zavilqelsky, G.B. (2005) *J. Bacteriol.*, **187**, 3889-3893.
- 8) Manukhov, I.V., Mamaeva, D.V., Morozova, E.A., Rastorguev, S.M., Faleev, N.G., Demidkina, T.V., & Zavilqelsky, G.B. (2006) *Biochemistry (Moscow)*, **71**, 361-369.
- 9) Kokkinakis, D.M., von Wronski, M.A., Vuong, T.H., Brent, T.

- P., & Schold, S.C. Jr. (1997) *Br. J. Cancer.*, **75**, 779–788.
- 10) Takakura, T., Takimoto, A., Notsu, Y., Yoshida, H., Ito, T., Nagatome, H., Ohno, M., Kobayashi, Y., Yoshioka, T., Inagaki, K., Yagi, S., Hoffman, R.M., & Esaki, N. (2006) *Cancer Res.*, **66**, 2807–2814.
- 11) Miki, K., Xu, M., Gupta, A., Ba, Y., Tan, Y., Al-Refai, W., Bouvet, M., Makuuchi, M., Moossa, A.R., & Hoffman, R.M. (2001) *Cancer Res.*, **61**, 6805–6810.
- 12) Gupta, A., Miki, K., Xu, M., Yamamoto, N., Moossa, A.R., & Hoffman, R.M. (2003) *Anticancer Res.*, **23**, 1181–1188.
- 13) Machover, D., Zittoun, J., Broet, P., Metzger, G., Orrico, M., Goldschmidt, E., Schilf, A., Tonetti, C., Tan, Y., Delmas-Marsalet, B., Luccioni, C., Falissard, B., & Hoffman, R.M. (2001) *Biochem. Pharmacol.*, **61**, 867–876.
- 14) Tan, Y., Sun, X., Xu, M., Tan, X., Sasson, A., Rashidi, B., Han, Q., Tan, X., Wang, X., An, Z., Sun, F.X., & Hoffman, R. M. (1999) *Clin. Cancer Res.*, **5**, 2157–2163.
- 15) Hoffman, R.M. (1997) *Hum. Cell*, **10**, 69–80.
- 16) Coombs, G.H. & Mottram, J.C. (2001) *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 1743–1745.
- 17) Fukamachi, H., Nakano, Y., Okano, S., Shibata, Y., Abiko, Y., & Yamashita, Y. (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **331**, 127–131.

工藤 大蔵, 稲垣 賢二

(岡山大学大学院自然科学研究科バイオサイエンス専攻)

Structural and functional analysis of the antitumor enzyme L-methionine  $\gamma$ -lyase

Daizou Kudou and Kenji Inagaki (Department of Biofunctional Chemistry, Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, Tsushima-naka 1-1-1, Okayama-shi, Okayama 700-8530, Japan)

## シトルリン化—ヒストンの新しい翻訳後修飾

### 1. はじめに

真核生物のDNAはヒストン八量体に巻きついてヌクレオソームを形成している。個々のヒストン(H2A, H2B, H3, H4)のN末端領域は一定の立体構造をとらないでヒストン八量体から突き出ているので、アセチル化、リン酸化、ユビキチン化、メチル化などの翻訳後修飾を受ける。このような翻訳後修飾はクロマチンの構造をダイナミックに変化させて遺伝子の発現を調節しているが、最近ヒストンのN末端尾部のシトルリン化が遺伝子の発現調節に関与する新しい翻訳後修飾として注目されるようになった。ヒストンのシトルリン化は peptidylarginine deiminase 4

(PAD4)によってCa<sup>2+</sup>依存的にアルギニン残基が脱イミノ化されて起こる(図1)。PADはこれまでに5種類のアイソフォーム(PAD1-4, PAD6)が同定されているが、PAD4のみが核移行シグナル(nuclear localization signal: NLS)を有しており、核内でヒストンのシトルリン化に関与している<sup>1)</sup>。本稿では、私たちが最近X線結晶構造解析に成功したCa<sup>2+</sup>非結合型PAD4, Ca<sup>2+</sup>結合型PAD4, Ca<sup>2+</sup>結合型PAD4-基質複合体の構造を紹介し、PAD4によるヒストン修飾(シトルリン化)の構造科学を概説する。

### 2. ヒストンのシトルリン化と転写調節

PAD4によるヒストンのシトルリン化はメチル化と拮抗して遺伝子の発現を調節している(図1)。例えば、ヒストンH3のArg17とH4のArg3はそれぞれCARM1(cofactor associated arginine methyltransferase 1)とPRMT1(protein arginine methyltransferase 1)によってジメチル化されるが、これらの部位がメチル化されるとエストロゲンレセプターを介した転写が活性化される<sup>2,3)</sup>。一方、PAD4はヒストンH3のArg2, Arg8, Arg17, Arg26およびH4のArg3をシトルリン化するが、ヒストンH3のArg17とヒストンH4のArg3がシトルリン化されるとCARM1とPRMT1によるメチル化が阻害される<sup>4,5)</sup>。また、CARM1とPRMT1によるアルギニン残基のジメチル化はモノメチル化を経て起こるが、PAD4はこのモノメチル化されたアルギニン残基もシトルリン化し、結果的にモノメチル化されたアルギニン残基を脱メチル化する(図1)<sup>4,5)</sup>。ヒストンのメチル化は他の翻訳後修飾に比べて安定で、これまでヒストンの脱メチル化反応を触媒する酵素は見つかっていなかったが、モノメチル化されたアルギニン残基をシトルリン化することが示されたことでPAD4はヒストンの脱メチル化に関与する初めての酵素としても注目されるようになった。

### 3. PAD4の構造

PAD4は細長いブーツ状の分子で、二つのドメイン(N末端ドメインとC末端ドメイン)から構成されている(図2A)<sup>6)</sup>。Ca<sup>2+</sup>はN末端ドメインに三つ、C末端ドメインに二つ、いずれもEFハンド\*とは異なるモチーフで結合している。N末端ドメインは1-300番目のアミノ酸から構成されているが、このドメインにはさらに二つのサブドメインが存在する。二つのサブドメインはともに免疫グロブリン様の構造をとり、サブドメイン1には核移行シグナル(NLS)が存在している。このシグナル領域は二つの $\beta$ ストランドを結ぶ分子表面のループ領域に存在しているが、