

審査の結果の要旨

氏名 野崎 翔平

ブラシノステロイド (BR) は植物において葉や茎などの器官成長促進、植物細胞分裂・伸長・分化の制御、受精促進、葉緑体制御から、植物の自然免疫やストレス耐性向上などの環境応答機構にも及ぶ多岐にわたる生理活性を有する植物ホルモンである。BR の生理作用には、BR シグナル伝達のマスター転写因子である BZR 転写因子によって引き起こされる特異的かつ多様な遺伝子応答が不可欠である。本論文は、BZR 転写因子に着目し、この転写因子特有の DNA 配列認識機構を生化学・構造生物学的アプローチにより解析したものであり、第 1 章「序論」を含め 6 つの章から構成されている。

第 2 章では、BZR 転写因子の DNA 配列に対する結合特性について述べている。BZR 転写因子の DNA 結合ドメインが真核生物で広く保存されている bHLH 転写因子と類似の二次構造および塩基配列認識モチーフをもつことに着目し、両転写因子の各種 DNA 配列に対する結合アッセイの比較解析を行い、BZR 転写因子は、bHLH 転写因子が認識する G-box 配列 (5'-CACGTG-3') に対して強く結合するが、5'末端側の CA 塩基に対する特異性が bHLH 転写因子よりも緩いことを示した。また、BZR 転写因子はその DNA 結合ドメインで二量体を形成し DNA に結合することを示した。BZR 転写因子によって直接制御される BR 応答性遺伝子のプロモーター上には G-box 配列に加え BRRE 配列 (5'-CGTG^c/T^cG-3') が多く存在することがわかっていたが、以上の結果は、BZR 転写因子はその DNA 結合ドメインで CGTG (BRRE コア配列) を主として認識することを示している。

第 3 章では、BZR 転写因子の一つである BIL1/BZR1 と標的 DNA の複合体構造の解析について述べている。結晶化促進タグとして改変したマルトース結合タンパク質 (MBP) と BIL1/BZR1 のキメラ体を作製するなどの工夫を重ね、X 線結晶構造解析により 2.17 Å 分解能で MBP 融合 BIL1/BZR1 と G-box 配列を含む DNA との複合体構造を決定することに成功した。これにより、植物間で高度に保存されている BZR 転写因子で初の立体構造が明らかとなり、水分子の位置を高精度に可視化して BIL1/BZR1 と DNA の詳細な相互作用様式を解析することを可能にした。

第 4 章では、BIL1/BZR1 と DNA の複合体構造と変異解析に基づいて、BIL1/BZR1 の DNA 配列認識の構造基盤について述べている。BIL1/BZR1 の DNA 結合ドメインは

bHLH 転写因子のそれと類似の構造をとるが、C 末端領域に形成された特有の β ヘアピン構造が BIL1/BZR1 のプロトマー間の接触面に位置することで二量体形成に影響を与え、BIL1/BZR1 の DNA 結合ヘリックス間の角度を bHLH 転写因子との比較で約 20° も広げていることを見出した。この違いにより、DNA 結合ヘリックス上のアミノ酸残基と DNA の主鎖リン酸基との相互作用ネットワークが BIL1/BZR1 と bHLH 転写因子で大きく異なり、G-box 配列 (5'-CACGTG-3') の 5'末端側の CA 塩基を認識する両者に共通のグルタミン酸残基が、BIL1/BZR1 では塩基との水素結合が緩む配向に制限されることが示された。以上の結果は、BIL1/BZR1 が塩基認識残基から離れた二量体形成領域において bHLH 転写因子とは異なる構造をもつことで、塩基認識残基と DNA の塩基との適合度を緩めるといふ、新規な DNA 配列認識機構を獲得したものと考えられる。

第 5 章では、BIL1/BZR1 の DNA 結合能に対する BRRE コア配列周辺の塩基配列の影響とその構造基盤について述べている。BRRE コア配列を含む CPD 遺伝子プロモーター断片と IA419 遺伝子プロモーター断片に対する結合アッセイにより、BIL1/BZR1 の DNA 結合能は BRRE コア配列周辺の塩基配列に大きく依存することを示した。また、BIL1/BZR1 変異体の解析から、DNA の主鎖リン酸基と相互作用ネットワークを形成する 2 つの残基が異なる周辺配列に対する結合能の調節に寄与することを示した。本成果は、BIL1/BZR1 に特有の相互作用ネットワーク形成が G-box 配列に対する特異性を緩める一方、DNA のコンホメーション認識を介して直接結合していない周辺配列に対する感受性を高めることで、BIL1/BZR1 が植物の遺伝子プロモーター上の特定の BRRE コア配列に対して選択性を獲得していることを示唆する重要な知見である。

第 6 章では、本論文の総括を行い、DNA 配列認識機構の観点で BZR 転写因子のパラログ間の比較や他の転写因子との相互作用について考察し、今後の展望についてまとめている。

以上の研究成果は、BR シグナル伝達のマスター転写因子である BZR 転写因子に特有の DNA 配列認識機構の一端を解明し、BR による植物の遺伝子発現制御における新規知見を提供するものであり、学術上、応用上の観点で寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。