

審査の結果の要旨

氏名 王 建文

α/β -ヒドロラーゼ (ABH) フォールドスーパーファミリータンパク質は、折りたたみ構造と高い可塑性を共有し、生物界3つのドメイン中のすべての生物に存在している。また生合成、シグナル伝達、個体の成長・発達などの様々な生物学的経路に関与する多様な役割を担っている。そのため、ABH タンパク質の活性を調節することで、生命現象を解明するための化学ツールや治療薬の開発に関する研究が盛んに行われている。本研究では ABH フォールドスーパーファミリータンパク質に属する低分子受容体としてジベレリン受容体 (GID1) とカリキニン受容体 (KAI2) に着目し、これら受容体と結合し機能を制御できる化合物の結合様式について追究を行っている。本論文は、第1章の序論における研究の背景と目的の記述を含め、4章から構成されている。

第2章ではジベレリン (GA) 受容体 GID1 について、そのアミノ酸置換に伴う GA アゴニスト AC94377 への親和性変化について述べている。GA は、四環式ジテルペノイド系植物ホルモンの一種で、植物の生活環全体を通じて多くの生理現象を制御する必須の役割を有しているために、GA 活性を自在に制御できる技術は応用上有益である。AC94377 は GA 様活性を示す安価な化合物であるが、その活性は GA の 100 分の 1 と弱い。そこで GA と GID1 の対と比較して、より強力に GA 情報伝達経路を活性化できる AC94377-GID1 間の直交リガンド・レセプター対の設計を試みている。まず シロイヌナズナ GA 受容体である AtGID1a を対象に、AC94377 への親和性上昇を指向した。GA 結合ポケットを構成するアミノ酸残基にコンビナトリアル飽和変異導入法 (CSM) によって変異を導入し、酵母ツーハイブリッド法を用いて評価した。

その結果、3つの部位を置換することで、野生型に比べて 10 倍高い AC94377 結合親和性を持つ AtGID1a 変異体を見出している。次に、これらの陽性変異体に対して反復ランダム変異誘発法 (IRM) を行い、変異誘発の協奏効果を最大にするよう試みた結果、AC94377 に対する親和性が野生型と比較して約 16,000 倍に増加した選択的変異体を得ることに成功した。この AtGID1a 変異体の感受性は、GA4 に対する AtGID1a 野生型の 10-30 倍に増加していた。このバリエーション受容

体は他の親和性測定法を用いた場合も AC94377 に対して同様の親和性上昇傾向を示した。以上より直交する AtGID1a 変異体と AC94377 の組み合わせの発見により、遺伝子の冗長性を回避し GID1 を介した特定の反応を明らかにするための技術開発に成功したと結論づけている。

第3章では、カリキン (KAR) 活性阻害剤である KK181N1 とシロイヌナズナ KAR 受容体 AtKAI2 の結合様式について追究を行っている。KAR は植物燃焼物の煙や灰に由来するブテノライドの一種であり、阻害剤 KK181N1 は受容体 AtKAI2 に直接結合しその加水分解活性を抑制する。まず KK181N1 と AtKAI2 の正確な結合様式を理解するために共結晶化を試みた結果、AtKAI2-KK181N1 複合体の構造を 1.90Å の分解能で得ることに成功し、水素結合ネットワークが AtKAI2 における KK181N1 結合親和性に大きな重要性を持つことを示している。特に他の N-ヘテロ環ウレア化合物との比較から、N1 型 1, 2, 3-トリアゾールの AtKAI2 タンパク質への強い結合には、ヘテロ環上窒素原子が関与するユニークな水素結合ネットワークが大きく寄与していることを明らかにしている。また、KK181N1 のメチル基の認識に関わる AtKAI2 の残基が、KK181N1 の AtKAI2 への選択性を大きく左右していることを示している。これら知見は新規な KAI2 阻害剤を設計するための基盤情報となると結論し、阻害剤候補物質についても提案を試みている。

第4章では、直交する AtGID1a 変異体と AC94377 の組み合わせの発見とその応用について、また新しい農業上応用可能な KAI2 阻害剤の設計について考察し、今後の展望を述べている。

以上の研究成果は、ジベレリン活性を利用した新しい制御技術確立のために有益であるばかりでなく、KAI2 阻害剤の応用による新しい植物制御法の開発にもつながる。よって、本論文は博士 (農学) の学位請求論文として合格と認められる。