

要旨

植物ホルモン・ブラシノステロイドによる遺伝子発現調節機構に関する生化学的解析

植物ホルモン・ブラシノステロイド (BR) は植物の発生・成長過程の様々な場面で影響を与えることが知られている。また、BR は花成、枝の分岐数、植物の背丈、バイオマスや種子の収量、生物学的及び非生物学的ストレスに対する抵抗性など、農業上重要な植物の性質にも大きな影響を与えることが報告されている。ここ 20 年間に行われたシロイヌナズナを用いた分子遺伝学的研究は、BR 情報伝達に関する理解を大幅に進展させてきた。簡潔に説明すると、細胞表面にある BR11 受容体と BR の結合を契機に細胞質及び核内で連続したタンパク質のリン酸化・脱リン酸化反応が起こり、最終的に BR の情報は互いに高い相同性を持つ 2 種の転写因子 BES1 と BZR1 に受け渡される。さらに、活性化された両タンパク質が数千もの遺伝子の発現を誘導もしくは抑制することで、先に述べたような BR による多彩な生理現象が導かれる。上述のように BR 情報伝達の概要は解明されてきたが、BR 依存的な遺伝子の発現制御の詳細、例えば、この過程の中で核タンパク質が果たす役割など未解明な部分も多い。

本研究では、BR 情報伝達の分子機構の全体像を生化学レベルで解明することを最終目的として、まず、薬理学的手法により内生 BR 量を変化させたシロイヌナズナ T87 培養細胞における核タンパク質の動態を二次元電気泳動法により解析した。その結果、計 551 種のタンパク質スポットを検出することに成功した。これらの中で 16 種のタンパク質は BR 量の上昇に応じて存在量が増加すること、また、55 種は存在量が減少することが明らかになった。続いて、LC-MS/MS 解析を行い、BR により存在量が増減

するタンパク質 35 種を同定した。同定したタンパク質のうち 11 種は、予想通り、核局在が報告されたタンパク質であった。また、この中には NAP1;2、SAM syn.2、HD2B、NAP1;1 が存在した。これら 4 種のタンパク質はクロマチンリモデリングに関与することが知られているので、BR 情報伝達とその後起こる遺伝子発現制御にとってクロマチン構造の変化が重要であると考えられる。加えて、上記の結果は、細胞分画による核単離と二次元電気泳動法の組み合わせが、BR 依存的な核タンパク質の挙動を網羅的に追跡するのに適した方法であることを示している。

次に、T87 培養細胞から精製した BES1 を含むタンパク質複合体の特性解析を行い、パートナー・タンパク質として分子シャペロンの HSP90 を初めて同定した。また、内生 BR 量を増加させると、BES1 と HSP90 の分子間相互作用だけではなく、480 kDa 以上の分子量を示す HSP90 複合体の形成が促進されることが分かった。さらに、HSP90 の ATPase 活性の阻害剤・ゲルダナマイシンを処理すると、BES1 と HSP90 の結合が阻害されること、及び BR 生合成遺伝子である *CPD* と *DWF4* の BR 依存的な発現抑制が損なわれることが明らかとなった。これらの結果から、BES1 と HSP90 の分子間相互作用が BR 情報伝達と、これを介した内生 BR 量の恒常性維持に重要な役割を果たしていることが推測された。

以上のように本研究は、クロマチンリモデリングと BES1 転写因子に対する HSP90 のシャペロン活性が BR 情報伝達とそれに引き続く遺伝子発現制御の分子機構の一端を担っていることを初めて明らかにした。