

博士論文公聴会

ご案内

下記の要領で博士論文公聴会を開きますのでご来聴下さい。

記

日時 : 2018年2月8日(木) 13:00~14:30

場所 : 理学研究科F棟2階講義室 (F202号室)

発表者 : 中谷 陽一
宇宙地球科学専攻
大阪大学大学院理学研究科宇宙地球科学専攻 後期課程

題目 : Studies on the complex formation of the blue-light
regulated transcription factor
(青色光制御型転写因子の複合体形成に関する研究)

宇宙地球科学専攻 大学院教育教務委員
寺田 健太郎

学位申請者：中谷 陽一

論文題目：

Studies on the complex formation of the blue-light regulated transcription factor
(青色光制御型転写因子の複合体形成に関する研究)

論文要旨：

Light-Oxygen-Voltage sensing (LOV) ドメインは、細菌から植物など様々な生物のタンパク質中に見られ、青色光センサーとして働く。Aureochrome-1 (AUREO1) は、LOV ドメインと DNA 結合領域 bZIP ドメインの二つの機能領域を持ち、青色光応答性 DNA 結合タンパク質(転写因子)として機能すると考えられる。これまでの我々の研究から、還元的環境下では AUREO1 は単量体として主に存在し、青色光を受容することで二量体化して、標的塩基配列 (TGACGT) を含む DNA と複合体を形成することを定性的には示している。しかし、一般的に DNA 結合領域 bZIP ドメインのみでも二量体化して DNA に結合する能力を持つ。また、多くの LOV タンパク質は酵素などの活性部位を LOV の C 末側に持つが、AUREO1 は逆に LOV の N 末側に bZIP ドメインを持つ。そこで、LOV ドメインが、N 末側にある bZIP ドメインの活性、DNA 結合をどのように光制御しているかは明らかになっていない。本研究では、AUREO1 の光依存的な複合体形成を可能にする分子機構を明らかにすることを目的とした。AUREO1 の光応答について調べるために、酸化還元環境に対する応答性をなくした AUREO1 の機能領域 (Photozipper (PZ) と呼ぶ) を用いて以下の解析を行なった。

まず、青色光に起因する二量体化の分子機構を解明するために、N 末端側を徐々に短くした組換えタンパク質を新たに作製し、明・暗状態における単量体-二量体平衡の定量化を行った。この結果から、ロイシンジッパー (ZIP) 領域が存在すると暗状態では単量体が、明状態では二量体が安定化した。PZ が二つの安定状態を切り替える光スイッチとして機能するには、LOV ドメインだけでなく ZIP 領域が必要であることが示唆された。

次に、DNA との光依存的な複合体形成を理解するために、PZ の DNA 結合をゲルシフトアッセイ (EMSA) により定量した。PZ は、青色光照射により特異配列への親和性を約 10 倍増加させた。部位特異的変異体の解析より、ZIP 領域における塩橋 (Glu159-Lys164) の形成が、二量体・DNA 複合体を安定化させていることが示唆された。さらに、明・暗状態の PZ-DNA 平衡の 4 つの解離定数を決定した。この結果より、標的配列に対する親和性を増加させる主な要因が、青色光に起因するタンパク間相互作用の変化であることが示唆された。

本研究では PZ-DNA 平衡を定量化することで、LOV と ZIP 領域の分子内・分子間相互作用の切り替えが、AUREO1 の光依存的な複合体形成を実現していることを明らかにした。