

森田(寺尾)美代

名古屋大学・生命農学研究科
教授

重力屈性における重力シグナリングの分子機構
～分子構造から個体応答まで～

§ 1. 研究実施体制

(1)「名大」グループ

- ① 研究代表者:森田(寺尾) 美代 (名古屋大学生命農学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・ 重力シグナリング複合体を構成する因子の機能解析
 - ・ 重力シグナリング複合体の上下流で機能する新規因子の探索と機能解析
 - ・ 重力シグナリング機構解明のための生理学的・分子遺伝学的解析
 - ・ 重力屈性調節物質の創出に向けた重力シグナリング複合体形成阻害物質のスクリーニング

(2)「先端大」グループ

- ① 主たる共同研究者:平野 良憲 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科、助教)
- ② 研究項目
 - ・ 重力シグナリング複合体の構造解析
 - ・ 重力シグナリング機構解明のための生化学的・生物物理学的解析
 - ・ 重力屈性調節に向けた分子標的物質創出を指向した構造基盤研究

§ 2. 研究実施の概要

重力屈性は、植物が重力の方向を感受し、根を水分や栄養分が豊富な地中へ、地上部を光合成や生殖に有利な上方へと各器官を配置する重要な環境応答の一つである。また、植物の側生器官の空間配置によるプラントアーキテクチャ(枝振りや根の張り)を司る主要な要因でもある。我々は、重力感受細胞に含まれる比重の高い色素体アミロプラストの位置の変化が重力方向を受容する為に重要であることを示したが、アミロプラストの位置が感受細胞内でどのような信号に変換され、オーキシンの器官内偏差分布へと繋がるのか、という重力シグナリングの分子機構に関しては不明であった。我々はこの重力シグナリングの中核に関わる DLLs を見だし、その相互作用因子として4つの RLD ファミリータンパク質を単離した。本研究では、これらタンパク質複合体の構造学的解析と分子遺伝学的解析を組み合わせ、それらの分子機能や相互作用による機能制御の機構を解明するとともに、阻害剤の設計や探索を進めることにより、重力シグナリングの分子機構の理解と応用への道を開拓することを目指している。

本年度は、DLLs の相互作用因子として単離した RLD1~4 の植物体における機能を探るための分子遺伝学的解析に向けた、植物系統の確立を行った。各遺伝子を欠損した単独変異体及び様々な組合せの多重変異体を作成すると共に、変異体背景にオーキシン応答や輸送体局在等に使用する様々な分子マーカーの導入も進行している。多重変異体は、興味深い表現型を示すことが判明しつつある。各遺伝子の発現解析に向けたレポーター遺伝子を導入した形質転換体も確立し、現在解析中である。

DLLs-RLD 間の相互作用には、各々の C 端の領域のみで必要十分である。この分子間相互作用の実体を明らかにするため、C 端領域の複合体形成について、精製蛋白質の大量調整系の確立、精製蛋白質を用いた *in vitro* 結合実験、結晶化スクリーニングを行った。良好な結晶が得られたので、回折データの取得を行い、現在立体構造の解析中である。

また、DLLs-RLD 間の相互作用は、RLD の N 端側に存在するドメインによって抑制されることを見いだした。自己阻害作用の生理学的意義を探る為に、相互作用に必要な RLD 側のドメインを感受細胞にて過剰発現する形質転換体を作成すると共に、RLD の自己阻害状態の構造解析に向けて、蛋白質の大量生成系の確立、*in vitro* 結合実験等を進行中である。

