

植物特異的 Dof 転写因子の DNA 認識の構造基盤 Structural basis for DNA recognition by plant-specific Dof transcription factors

降旗大岳¹, 田之倉優¹, 宮川拓也^{1,2,*}

¹ 東京大学大学院農学生命科学研究科, 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

² 京都大学大学院生命科学研究科, 〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町

Hirotake FURIHATA¹, Masaru TANOKURA¹, Takuya MIYAKAWA^{1,2,*}

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan.

Graduate School of Biostudies, Kyoto University, Kitashirakawa-Oiwake-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan.

1 はじめに

DNA-binding with one-finger (Dof) 転写因子は、Dof ドメインと名付けられた独特な zinc finger (ZF) 型 DNA 結合ドメインを分子内に1つだけもつことを特徴とする、植物特異的な転写因子ファミリーである。モデル植物のシロイヌナズナにおいては、36 遺伝子が Dof 転写因子をコードし、それらが多岐にわたる生物学のプロセスに関与することが明らかになっている。しかし、Dof ドメインのわずか 4 塩基の結合配列の認識により、限られた標的遺伝子のプロモーターを特異的に制御できる仕組みは十分に理解されていない。そこで本研究では、詳細な DNA 認識機構を明らかにするため、Dof ドメインと結合配列を含む DNA の複合体の X 線結晶構造解析に取り組んだ。

2 実験

Dof 転写因子で最も研究が進んでいる CYCLING DOF FACTOR 1 (CDF1) に着目してその Dof ドメイン (CDF1^{Dof}) を調製し、標的遺伝子 *CONSTANS* (*CO*) のプロモーターの結合配列を含む様々な DNA 断片との共結晶化を行った。取得した結晶を X 線回折実験により評価し、最終的な X 線回折データは AR-NE3A ビームラインにて収集した。

3 結果および考察

2 つの結合配列 (AAAG またはその逆相補配列 CTTT) が 4 塩基のリンカーを介して回文構造となるように配置された DNA に 2 分子の CDF1^{Dof} が結合した複合体構造を 2.3 Å の分解能で決定した (図 1) [1]。CDF1^{Dof} は、保存された 2 つの CxxC モチーフに由来する 4 つの Cys 残基の側鎖で亜鉛イオン (Zn²⁺) を配位しており、既知の ZF 型 DNA 結合ドメインとは異なる立体構造を形成していた。DNA の主溝には 3 つの逆平行 β ストランドからなる β シートが挿入され、3 つのアミノ酸残基 (Y68, N70, N71) の側鎖が AAAG の各塩基と水素結合を形成することで、配列認識の特異性が確立されていた。加えて、CDF1^{Dof} 特有の C 末端ループが DNA の副溝と接触し、主溝と副溝を隔てる DNA 鎖を挟み込むように

CDF1^{Dof} が結合していた。これにより、CDF1^{Dof} は DNA の主溝を広げる方向を C 末端ループとは反対側 (複合体構造では内向き) に制御していることが明らかになった。この構造情報に基づく相互作用解析の結果、近接してタンデムに配置された結合配列に対して、複数の CDF1^{Dof} が効率的かつ同時に結合できることが示された。

4 まとめ

本研究で見出された CDF1^{Dof} の構造基盤および効率的に標的可能な結合配列の配置は、CDF1 による *CO* プロモーターの転写制御に不可欠であり、Dof 転写因子が標的遺伝子のプロモーターを特異的に制御する仕組みの一端を解明することに成功した。

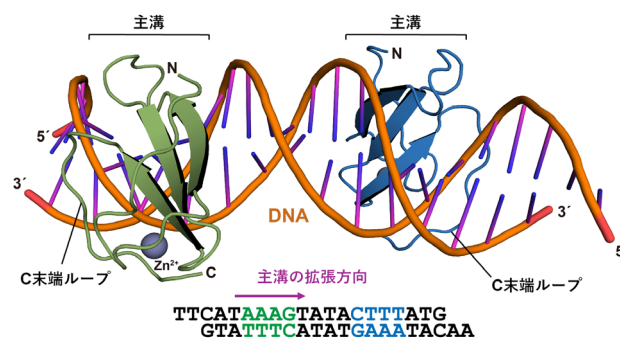


図 1 : CDF1^{Dof}-DNA 複合体の結晶構造

謝辞

本研究の X 線回折実験を行うにあたり、構造生物学研究センターの千田俊哉教授、山田悠介講師 (当時、現・東北大学准教授) をはじめ、ビームラインスタッフの皆様には大変お世話になりました。ここに感謝申し上げます。

参考文献

[1] H. Furihata *et al.*, *Nat. Plants* **11**, 836-848 (2025).

* miyakawa.takuya.7j@kyoto-u.ac.jp