

転移因子から転写因子へ : *DAYSLEEPER*, *FHY3*, and *FAR1*

転移因子の遺伝子化は domestication あるいは exaptation と呼ばれ、生物がそれまで持っていなかった新しい機能を持った遺伝子を供給する役割を持っている。また、それまでにも存在していた遺伝子ネットワークに新たな構成因子を加える意味を持つ場合があることもこれまでの研究でわかってきた。

DAYSLEEPER は転写因子として働くことが示された転移酵素由来遺伝子である (Bundock and Hooykaas 2005)。*DAYSLEEPER* はシロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana* の遺伝子である。Bundock らは Ku70 の上流に結合するタンパク質を同定する目的で酵母の One-hybrid assay を用いてスクリーニングを行った。取れてきたのが *DAYSLEEPER* と命名された遺伝子で、転移因子 hAT の転移酵素と相同なタンパク質をコードしていた。転移に必要なアミノ酸には置換が入っていたので転移酵素としては働かない。また、*DAYSLEEPER* 周辺には terminal inverted repeat (TIR) や target site duplication (TSD) も無く、転移因子としての構造は持っていないこともわかった。

DAYSLEEPER のコードするタンパク質は Ku70 の上流 229 塩基の DNA に結合し、その結合には亜鉛が必要であった。*DAYSLEEPER* は C2H2 型の BED zinc finger を持っており、ここの保存アミノ酸を置換すると DNA 結合能は失われた。

DAYSLEEPER を T-DNA を用いて破壊した株を作成すると大きな発達異常が見られ、1%程度しか光合成組織を作らない。逆に過剰発現させても同様に発達異常を引き起こす。これはおそらく *DAYSLEEPER* が転写因子として多数の遺伝子の発現を制御するためで、実際に過剰発現された *DAYSLEEPER* はいくつかの遺伝子を強く増強した。これらの遺伝子の上流部には Ku70 の制御配列である Kubox1 は存在せず、*DAYSLEEPER* は Kubox1 とは結合せず別の形で転写制御をすることが示唆された。この研究で機能が明らかになったのは DNA 結合ドメインとしての BED zinc finger であり、転移酵素由来ドメインがどのような機能を担っているのかは残念ながら証明されていない。

これに対して同じ植物でも *FHY3* (far-red-elongated hypocotyl 3) と *FAR1* (far-red impaired response 1) についてはそれぞれのドメインの機能まで研究が進んでいる。*FHY3* と *FAR1* は hAT ではなく Mutator-like (MULE、あるいは MuDR) 型 DNA トランスポゾン由来の遺伝子である。どちらのコードするタンパク質も N 末に WRKY-GCM1 family に属する C2H2 タイプの zinc finger、中央に転移酵素、C 末に SWIM zinc finger を持っている。この 2 つの遺伝子は赤外線への応答に関与する遺伝子である。Lin らは遺伝学的手法、プロモーターアッセイ、ChIP 等を駆使して、以下のことを明らかにしている (Lin et al. 2007)。(1) *FHY3* と *FAR1* は核内で働く、(2) *FHY3* は *FHY1* (far-red-elongated hypocotyl 1) と FHL

(far-red-elongated hypocotyl-like) の発現を誘導する。(3) FHY3 と FAR1 は協調して FHY1 の発現を正に制御する。(4) FHY3 は FHY1 と FHL のプロモーターに直接結合する。(5) FHY3 と FHL の遺伝子上流にある CACGCGC 配列 (FBS と命名) が FHY1 と FAR1 の標的であるが、FHY3 はより広範に結合する。(6) FHY3 と FAR1 の N 末領域だけで FHY1 と FHL のプロモーターに結合するのには必要十分である。(7) 亜鉛をキレートすると FHY3 の FBS への結合が阻害されることから zinc finger が関与している。(8) FBS は *PHYTOCHROME B*、*CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1*、*EARLY FLOWERING 4* の遺伝子上流にもあり、これらのプロモーター配列も FHY3、FAR1 と結合する。(9) FHY3 と FAR1 の C 末側領域 (N 末の zinc finger を含まない領域) に転写活性化能がある。

同じグループの続く解析 (Lin et al. 2008) では、WRKY-GCM1 zinc finger の C2H2 が確かに DNA 結合に重要であること、転移酵素由来ドメインと SWIM zinc finger が二量体化と転写活性化に重要であることを示している。転移酵素由来ドメインの保存残基 D288 は転移酵素の活性残基 DDE の最初の D に相当する。このアミノ酸の変異したタンパク質は酵母では転写活性化できなかったが、シロイヌナズナのプロトプラストを用いた実験では弱いながらも転写活性化能を保持していた。また二量体化は酵母の two-hybrid assay による結果だけなので注意が必要であるが、Mutator タイプの transposase も二量体化するという事実を考慮すると確からしい。

以上から、FHY3 と FAR1 はどちらも N 末の WRKY-GCM1 タイプ zinc finger で標的遺伝子のプロモーター配列と結合し、転移酵素由来のドメインと SWIM zinc finger とで二量体化し、転写制御因子と相互作用して転写を活性化するという機能が理解できる。Lin らは MuDR の転移酵素が自身の転写を活性化する機能を持っているという知見から、この転写制御能は祖先の Mutator タイプの転移因子から引き継いだ機能ではないかと考えている。転移因子の配列が遺伝子化

(domestication) される場合には、全く新しい機能を獲得されるのではなく、元々転移因子として持っていた機能が別の形で宿主に利益があるように流用されることが考えるのが妥当であろう。そう考えると、転移酵素は転写制御因子としての潜在能力を持っている。おそらく植物の進化においても多数の転移因子が遺伝子化されたことだろう。FHY3 と FAR1 は被子植物に広範に保存されており、Phytochrome A シグナル伝達において中心的な働きを持っている遺伝子である。この遺伝子の獲得が植物にどのような進化的貢献をしたのか大変興味深い。

Bundock P, Hooykaas P.

An Arabidopsis hAT-like transposase is essential for plant development.

Nature. 2005 Jul 14;436(7048):282-4.

Lin R, Ding L, Casola C, Ripoll DR, Feschotte C, Wang H.

Transposase-derived transcription factors regulate light signaling in Arabidopsis.

Science. 2007 Nov 23;318(5854):1302-5. Erratum in: Science. 2007 Dec 21;318(5858):1866.

Lin R, Teng Y, Park HJ, Ding L, Black C, Fang P, Wang H.

Discrete and essential roles of the multiple domains of Arabidopsis FHY3 in mediating phytochrome A signal transduction.

Plant Physiol. 2008 Oct;148(2):981-92. Epub 2008 Aug 20.

2011/01/30

小島 健司 著

禁 無断複写転載