



植物ホルモンシグナル伝達の転写制御複合体の X線結晶構造解析

宮川 拓也

東京大学大学院農学生命科学研究科

キーワード：単結晶 X線回折, 植物, 転写因子, タンパク質構造解析

1. 背景と研究目的

植物ホルモンとそれに関わるシグナル伝達経路の制御は、植物が生活環において遭遇する環境変化に順応し生長するための重要なしくみであり、それを分子レベルで理解することは、植物の生育を適切に制御して安定かつ持続的な食糧生産につなげる技術への展開に欠かすことができない。本研究では、植物ホルモンシグナル伝達の転写制御を担うタンパク質複合体を対象として、その制御メカニズムを構造生物学的な観点から解明することを目的としている。高分解能の原子座標データを得ることができる X線結晶構造解析は最適なアプローチであり、単結晶 X線回折測定が可能な BL2S1 ビームラインを利用することで転写制御複合体の立体構造を決定できれば、転写制御メカニズムの原理的な知見を得ることができると期待される。

2. 実験内容

植物ホルモンシグナル伝達の転写制御を担う GRAS タンパク質とその標的である IDD タンパク質の結晶を取得し、各結晶の評価と構造決定のための X線回折像の収集を行った。具体的には、BL2S1 ビームラインの X線回折装置に各結晶をマウントし、液体窒素気流下で 5–20 秒の単波長 X線照射(波長 1.12 Å)を行い、0.5–1° の振動角で複数の X線回折像を測定した。データ収集は CCD 検出器 ADSC Q315r を使用して行い、回折斑点の分解能を評価した。また、3.5 Å 程度かそれ以上の高分解能の結晶に関しては、構造解析のために 1° の振動角で 180° 分の X線回折像を収集した。

3. 結果および考察

IDD タンパク質単体の結晶に X線を照射して分解能を評価した結果、複数の結晶において最高分解能で 3.5–4.5 Å の X線回折像が得られた。本実験において最高分解能 3.5 Å の X線回折像を与えた結晶から 180° 分の X線回折像 (180 画像) を収集した。全ての X線回折像を解析した結果、5 Å よりも高分解能の範囲で *R* 値の上昇と Completeness の低下が顕著であり、構造解析に適した範囲の統計値は認められなかった。統計値に影響を与えた要因として、露光時間が長いことによる結晶損傷が考えられる。また、IDD タンパク質の結晶は棒状で、X線を照射する結晶の角度によっては滲んだ回折斑点が観察されており、このことも統計値を悪化させた要因の一つであると考えられる。

本実験で IDD タンパク質の結晶が分解能 3.5 Å の X線回折像を示したことは、今後の構造解析につながる有意義な結果として評価することができるため、現在取得している結晶をもとに条件の最適化を進め、BL2S1 ビームラインを利用して結晶の評価とデータ収集を行うことが望まれる。一方、GRAS タンパク質と IDD タンパク質の複合体結晶に対しても X線を照射して評価したところ、十分な分解能の X線回折像は観察されなかった。複合体結晶は数十 μm の微結晶であるため、今後はこれら結晶の大きさを改善する条件の最適化が必要である。

4. 参考文献

なし