



ジベレリンおよびオーキシン代謝酵素複合体の構造解析

竹原 清日、杉原 諒彦、上口(田中) 美弥子
名古屋大学・生物機能開発利用研究センター

キーワード：ジベレリン，オーキシン，生合成，シグナル伝達

1. 背景と研究目的

ジベレリン(GA) およびオーキシン(IAA) は、伸長や発芽など多くの生理作用に関与している植物ホルモンである。その生合成や代謝、シグナル伝達に関わる因子の構造や機能は未だ明らかになっていないものが多い。そこで本研究では、イネにおける GA、IAA の代謝酵素である OsGA2ox や OsDAO の X 線結晶構造解析による構造決定を試みた。さらに GA のシグナル伝達において中心的に働く因子である DELLA タンパク質の機能解明に向けて、当研究室で明らかにした DELLA と結合する転写因子 INDETERMINATE DOMAIN (IDD) との共結晶を作製し、GA シグナル伝達に関する新たな知見を得ることを目的とした。

2. 実験内容

今回はシッティングドロップ法により OsDAO 及び DELLA-IDD 共結晶を作製し、BL2S1 ビームラインにて単結晶 X 線回折測定を行った。どちらも 0.1 mm 程度の結晶を装置にセットし、100 Kにおいて波長 1.12 Å の X 線を照射して、検出器 ADSC Q315r により回折点を収集した。凍結保護剤はグリセロールを使用した。

3. 結果および考察

OsDAO に関しては、既に分解能 1.9 Å の回折データが得られており、その分解能向上を試みたが、今回用いた結晶に割れがあり、それ以上の結果は得られなかった。一方、DELLA-IDD 共結晶 (Fig.1) はいくつかの条件で得られ、最も良い場合では 6 Å 程度までの回折点を得られた (Fig.2) が、空間群を決定するには至らなかった。今回初めてタンパク質の結晶が得られたため、今後は 2 次スクリーニングを行うとともに、より良質な結晶を得るため、新たな結晶化条件を探索していく予定である。またいくつかの条件でアイスリングが見られたことから、凍結条件も合わせて検討する必要がある。

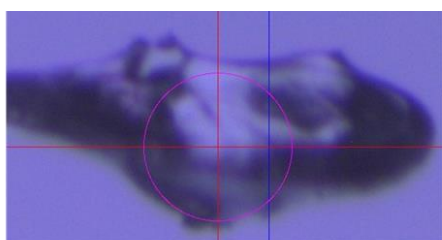


Fig.1 DELLA-IDDの共結晶
ゴニオメーターヘッドにマウントし、センタリングした後
に撮影した。Beam sizeは0.1 mm。

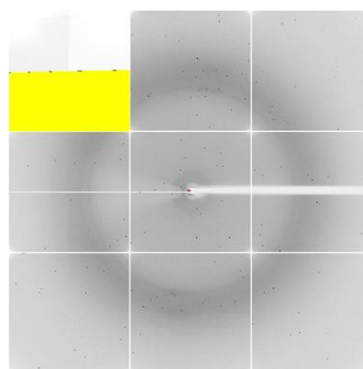


Fig.2 回折像
波長1.12 Å, カメラ長340 mm, Exposure
Time 20 sec.

4. 参考文献

1. H Yoshida et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. **111**, 7861-7866 (2014).