



植物シグナル酵素の構造解析

中村彰彦
静岡大学

キーワード：植物ホルモン，シグナル伝達

1. 背景と研究目的

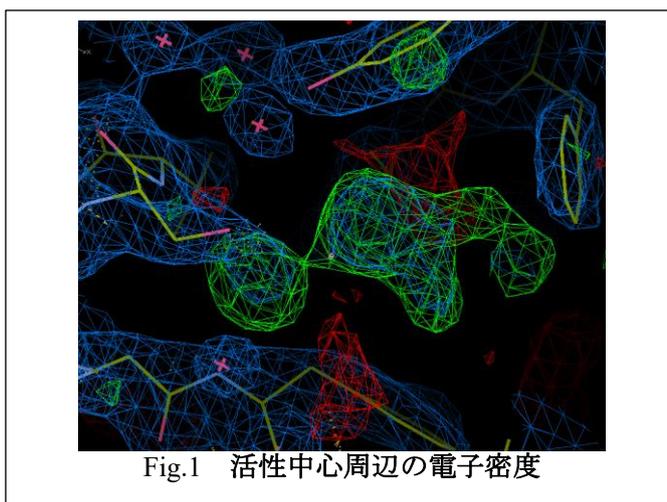
植物ホルモンは、植物の発生過程やストレス応答において重要な役割を担っている。たとえばストリゴノラクトンは受容体である DWARF14 (D14) に結合し分解される。分解後にストリゴノラクトンの一部は D14 に共有結合した中間体を形成し、酵素の構造を変化させる。中間体構造の酵素は F-box タンパク質 MAX2 と結合し、その複合体がユビキチン化複合体のサブユニットである SKP1 に結合することで関連タンパク質のユビキチン化と分解がおこる。ストリゴノラクトンと D14 の関係性と同様のものとしてカリキンと KAI2 が知られている¹。KAI2 も D14 と同様に加水分解活性を持ち、MAX2 と結合する。しかし KAI2 がどのような構造変化をして MAX2 との結合能の ON/OFF が起こるのかは議論の余地がある。そこで人工合成したリガンドの有無での構造の違いを検証することを目的として計測を行った。

2. 実験内容

天然型のシロイヌナズナ由来シグナル酵素 KAI2 の C 末端側に TEV 認識配列と His6 タグを付加して大腸菌を用いて発現させ、Ni アフィニティクロマトグラフィとサイズ排除クロマトグラフィにより精製した。精製した酵素は硫酸アンモニウムを沈澱剤として結晶化した。結晶化溶液を混合する際、リガンドなしの条件と共に KAI2 溶液に終濃度で 0.1 mM となるように合成したリガンド候補を混合し共結晶化も行った。30%グリセロールを抗凍結剤として、100 K で回折の計測を行った。XDS を用いてデータ処理を行い、Phenix と Coot を用いてモデルの構築と精密化をおこなった。

3. 結果および考察

解析の結果、分解能 2.3 Å で KAI2 の構造を決定することができた。空間群は P2₁ で a=88.4 Å, b=55.9 Å, c=53.2 Å, β=98.9° であった。また全体構造としては精度良く決定できていた。リガンドなし条件で作成した結晶の測定データでは、空間群は同じであるが a=51.2 Å, b=56.1 Å, c=53.3 Å, β=116.2° であった。このことから阻害剤候補物質が酵素と相互作用することにより、酵素分子の形状が変化していると考えられた。また活性中心周辺にはリガンドと思われる電子密度が観測されたため、現在解析中である。



4. 参考文献

1. Guercio A. M. et al., *Communications Biology* volume 5, Article number: 126 (2022)