

分子・物質合成領域における支援成果

植物細胞とウイルスベクターを利用した  
新規タンパク質試料発現方法で調製した試料の構造解析

<sup>a</sup>石川県立大学, <sup>b</sup>北陸先端科学技術大学院大学 (JAIST)

森正之<sup>a</sup>, 竹内誠<sup>b</sup>, 大木進野<sup>b</sup>

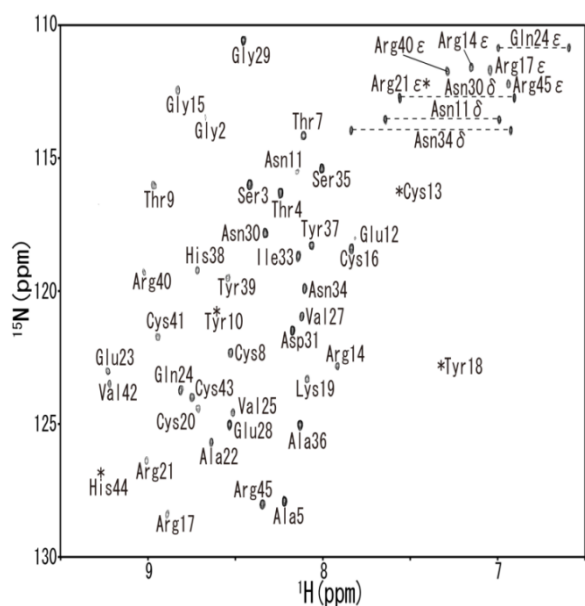
【研究目的】

植物の葉にある気孔は、光合成に必要な二酸化炭素の取り込み口である。この気孔の数を増やすホルモン様のペプチドが2010年に初めて明らかにされた。しかし、ストマジエンと命名されたこのペプチドの立体構造は分子内に3組のジスルフィド結合を持つことしか分かっていなかった。我々の研究目的は、開発中の植物細胞とウイルスベクターを利用したタンパク質発現システムの応用例としてストマジエンを調製し、さらに核磁気共鳴(NMR)分光法を用いてその立体構造と機能の関係を明らかにすることである。

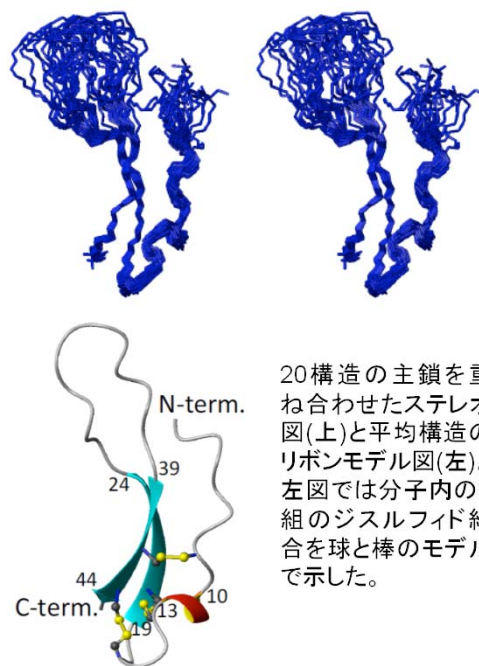
【成 果】

植物細胞とウイルスベクターを利用してストマジエンを大量に調製する系を確立した。安定同位体標識された炭素源と窒素源を含む培地でこの細胞を培養し、安定同位体標識試料を調製した。可溶化分画からストマジエンを回収でき、その精製品が生理活性を有することを確認した。また、精製品の標識率が90%以上であることを質量分析で確認した。この精製品を試料として各種多次元NMR測定を行った。一連のNMRデータを解析してストマジエンの立体構造を決定した。その結果、ストマジエンの立体構造は2本のβストランドから成る土台とそこから伸びたループによって形成されていることが明らかになった。この結果をもとに作製した幾つかの変異体の実験によって、ストマジエンのループ部分が生理活性に必要なことを明快に示すことが出来た。今回の成果により、気孔の数を増減する機構の一端が構造生物学的な視点で初めて解明された。

(発表論文) S. Ohki, M. Takeuchi & M. Mori “The NMR structure of stomagen reveals the basis of stomatal density regulation by plant peptide hormones” (2011) Nature Communications 2:512



<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HSQCスペクトル(Bruker AVANCE-III 800MHz)  
アミノ酸タイプ (3文字表記) と残基番号を示した。



20構造の主鎖を重ね合わせたステレオ図(上)と平均構造のリボンモデル図(左)。左図では分子内の3組のジスルフィド結合を球と棒のモデルで示した。