## ジャスモン酸類と共受容体の結合における二段階結合モデルの示 差走査蛍光測定による検証

(東北大学理 <sup>1</sup>・東北大院理 <sup>2</sup>・東北大院生命 <sup>3</sup>) ○松本 幸太郎 <sup>1</sup>・中山 美涼 <sup>2</sup>・星野 集治 <sup>3</sup>・Jianxin Wang<sup>2</sup>・加治 拓哉 <sup>2</sup>・高岡 洋輔 <sup>2</sup>・上田 実 <sup>2,3</sup>

Examination for the two-step perception model for the interaction between jasmonates and the co-receptor by Differential scanning fluorimetry (1Tohoku University, 2 Graduate School of Science, Tohoku University, 3 Graduate School of Life Sciences, Tohoku University) OKotaro Matsumoto, 1 Misuzu Nakayama, 2 Shunji Hoshino, 3 Jianxin Wang, 2 Takuya Kaji, 2 Yousuke Takaoka, 2 Minoru Ueda<sup>2,3</sup>

(+)-7-iso-Jasmonoyl-L-isoleucine (JA-Ile) is a plant hormone that is perceived by the COII-JAZ co-receptor, which induces plant defense responses as well as plant growth and development. From binding analysis between ligands and a COII-JAZ co-receptor, a two-step perception model is proposed in which ligands are perceived first by COII and subsequently recruit JAZ. In this study, to evaluate ligand perception of COII-JAZ co-receptor, we developed a convenient in vitro assay system using differential scanning fluorescence (DSF). The DSF assay is a system that evaluates thermal stability by measuring the thermal denaturation of proteins with fluorescent dyes (Figure 1). We showed our DSF assay system is a powerful method for analyzing interactions with both ligand-COII and ligand-COII-JAZ and report there are two different mode of action (two-step perception model and one-step perception model) in binding between COII-JAZ co-receptor and ligands.

Keywords: Plant Hormone; Jasmonic acid; Protein-protein interaction

植物ホルモン(+)-7-*iso*-Jasmonoyl-L-isoleucin (JA-Ile) は、COI1-JAZ 共受容体に認識され、防御・成長・発生応答を引き起こす。iTC アッセイによるリガンドと COI1-JAZ 共受容体の結合解析から、リガンドが COI1 に結合した後に JAZ をリクルートする二段階結合モデルが提唱されている  $^1$ 。

本研究では、COI1-JAZ 共受容体のリガンド認識を評価するために、簡便に使用で

きる示差走査型蛍光分析(DSF)による in vitro アッセイ系を開発した。DSF アッセイはタンパクの熱変性を蛍光色素によって測定し、熱安定性を評価する系である(Figure 1)。我々は、DSF アッセイがリガンドと COI1、リガンドと COI1・JAZ 共受容体間の相互作用解析に有用であることを示すと共に、COI1・JAZ 共受容体とリガンドとの結合には、2種類の異なる機構(二段階結合モデルと一段階結合モデル)が存在することを見出したので報告する。

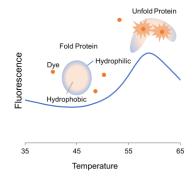


Figure 1. DSF アッセイの 原理模式図

1) Yan J., et al., Mol. Plant. 2018, 11, 1237-1247.