植物科学

Signal advance for abscisic acid

解明が進んだアブシジン酸シグナル伝達

Laura B. Sheard and Ning Zheng

Nature Vol. 462(575-576)/3 December 2009

スタートでつまづき、長い間決め手に欠けていたアブシジン酸受容体の同定に、とうとう成功した。このほど、複数の研究チームから成果が一度に発表され、この植物ホルモンがシグナルを伝達する仕組みの詳細が明らかになったのだ。

急激に変化する環境条件を生き延びて繁栄していくために、植物はさまざまな種類のホルモンを利用して生長と生殖を調節している。なかでもアブシジン酸（ABA）という植物ホルモンは、乾燥や極端な温度、高濃度の塩といったストレスに対する応答を調節するとともに、種子の成熟やつぼみの休眠など、ストレス以外の応答も調節している。ABA のシグナル伝達経路は、植物生理において重要な機能を果たすため、それを標的とすることは、将来の農業への応用が大いに期待されている。このほど、*Nature* 2009 年 12 月 3 日号に 4 本¹⁻⁴、そのほかのジャーナルに 2 本^{5,6} の論文が一挙に発表され、ABA シグナル伝達に関する構造的、機能的な見識がもたらされ、その期待が現実的なものとなってきた。

植物ホルモンの研究は、別の 2 種類のホルモン、ジベレリンおよびオーキシンの受容体が突き止められ、最近注目

の研究テーマとなっている。これらは、現在の ABA モデルと同様に、膜と結合していない可溶性の受容体である。しかしながら、ABA の受容体の発見は、困難を極めた。2006 年以降、いくつかのタンパク質が ABA 受容体ではないかといわれてきたが、いずれも ABA シグナル伝達で実際に担っている役割が明確ではなかった⁷。そんな中、2009 年 5 月、新種のタンパク質群が ABA センサーの候補として発表された^{8,9}。そのうちの PYR/PYL/RCAR タンパク質は、ABA と結合し、既に ABA 応答への関与が明らかにされている 2C 型タンパク質脱リン酸化酵素（PP2C）の活性を阻害していることがわかった。そして今回、6 組の研究チーム¹⁻⁶により、この新たに発見されたタンパク質受容体 PYR/PYL/RCAR が ABA を感知する構造的・機能的メカニズムが、同時に明らかにされた。

図1 最小限のアブシジン酸 (ABA) シグナル伝達経路。(a) 植物ホルモン ABA の非存在下では、遊離している脱リン酸化酵素 PP2C が、SnRK2 リン酸化酵素群の自己リン酸化を阻害する。(b) ABA が存在すると、PYR/PYL/RCAR タンパク質群は PP2C と結合し、それを捕捉することができるようになる (仕組みの詳細は、図2を参照)。これにより、SnRK2 は阻害の呪縛を解かれて自己活性化し、下流の転写因子 (ABF) をリン酸化および活性化して、ABA 応答性のプロモーター配列 (ABRE) からの転写を開始させる。

Fujii ら³は鮮やかな再構成アッセイにより、植物のプロトプラスト (細胞壁を除去した細胞) と試験管内で、ABA のシグナル伝達の再現に必要な最小限の経路を突き止め、受容体、脱リン酸化酵素、および下流のリン酸化酵素シグナル伝達の構成要素を結びつけた。脱リン酸化酵素とリン酸化酵素は正反対の調節作用をもち、それぞれ基質タンパク質に対してリン酸基の除去、付加を行う。図1に示すように、ABA の非存在下では、脱リン酸化酵素 PP2C は、ある一群のリン酸化酵素 (SnRK2) を恒常的に抑制している。SnRK2 の自己リン酸化は、下流の標的に対するリン酸化酵素の活性に必要とされている。PYR/PYL/RCAR 受容体に ABA が結合すると、PP2C が捕捉され、脱リン酸化活性が抑制される。その結果、SnRK2 は自己リン酸化により活性化し、下流の転写因子をリン酸化して ABA 応答性の遺伝子の転写を促進する。この経路の魅力はその単純さにあり、ABA に関するこれまでの文献を矛盾なく補っている。

この経路で重要なのは、PYR/PYL/RCAR が、リガンドである ABA を検知して結合し、PP2C を阻害するステップ

である。Nature の3本の論文^{1,2,4}を含む、5組のチームによる結晶学的研究では、そろってこの過程の全体像が描かれており、さまざまな機能的状態の PYR/PYL/RCAR タンパク質群の構造が、原子レベルで明らかにされている。特に Melcher らの研究¹では、PYL2 について、決定的に重要な意味をもつすべての型 (リガンド非結合型、リガンド結合型、およびリガンド / 脱リン酸化酵素結合型) の構造が示されており、まずは ABA、続いて脱リン酸化酵素との結合で PYL2 が示す立体配座の変化が詳細に分析された。

これらの研究の第一のポイントは、リガンド結合のメカニズムである。それは ABA 結合ポケットのゲーティング・ループの開閉によって調節されている。ABA の非存在下、PYR/PYL/RCAR には、開放された進入可能な穴が存在する。表面には柔軟なループが2本あり、付近にあるいくつかの構造要素とともに、穴への進入を監視している。水で満たされたこのポケットに ABA が入ると、一方のループがゲートのように閉まり、もう一方のループに近づいて ABA をポケットの中に閉じ込める (図2)。ABA と接触するア

a リガンド非結合型

b ABAの進入

c 脱リン酸化酵素の結合

図2 ABAの作用に関する構造的メカニズム。(a) リガンド非結合型では、ABA受容体PYR/PYL/RCARは、開放された進入可能な穴をもっている。穴には、進入を監視する柔軟な表面ループが2本存在する。(b) ABAが穴に入り込むと、ゲーティング・ループがアロステリックに閉じ始め、もう一方のエントランス・ループに接近してABAをポケットに閉じ込める。これにより、ゲーティング・ループ上に疎水性の結合部位が出現する。(c) 脱リン酸化酵素PP2Cは、ゲーティング・ループ上の疎水性の部位に結合し、保存されたトリプトファン(W)をゲーティング・ループの隣に挿入して閉鎖状態に固定する。すると、ゲーティング・ループは、PP2Cの活性部位と接近して相互作用し、PP2Cが基質と結合する能力を遮断する。

ミノ酸残基の多くが、2本のエントランス・ループの配列とともに、全PYR/PYL/RCARタンパク質群で進化的に保存されていることから、ABAの結合とゲーティングの開閉メカニズムは、この受容体ファミリーのすべてに共通のものと考えられる。

これら5組の研究チームのうち3組^{1,2,6}は、結晶学的研究を進展させ、ABA結合型の受容体とPP2Cとが形成する複合体の構造を明らかにした。その構造から、ABA結合型の受容体が大きな相補形の界面を介してPP2Cと結合し、その界面にPP2Cの活性部位と受容体のエントランス・ループ2本が含まれていることが明らかにされた。PP2Cには保存されたトリプトファン残基があり、それが側鎖をゲーティング・ループの隣に差し込み、閉鎖状態に固定する。すると、ゲーティング・ループは、PP2Cの活性部位(基質と結合する)と接近して相互作用し、PP2Cが基質をとらえて脱リン酸化する能力を遮断する。こうした構造により、PYR/PYL/RCARがPP2C活性をどうやってABA依存的に阻害するのか、PP2Cがどうやって強力な補助受容体

として作用し受容体に対するABAの親和性を高めているのか、包括的に説明できる。

これらの論文は、ABAのシグナル伝達に関する統一的な見方を提示しているが、同時に今後の研究に対する問題も提起している。構造を研究したチームのうち3組⁴⁻⁶は、PP2Cの非存在下で受容体の二量体化を観察しており、残りの2組の研究^{1,2}でも、本文中では言及されていないものの、構造モデルには二量体化が登場する。しかし、なぜ受容体が二量体化するのかは、まだ明らかにされていない。また、PYR1ホモ二量体の構造では、二量体1個につきABAが1分子しか結合できないのに対し、それと似たPYLホモ二量体の構造では、両方のサブユニットがABAに占有されている。どちらも、受容体のゲーティング・ループが二量体の界面に存在していることから、二量体化に機能的な意味がある可能性が示唆される。しかし、PP2Cとの複合体では単量体のABA結合型受容体しか見つかっておらず、受容体の二量体化は、ABAの最終的な作用には明らかに不要と思われる。

ホルモン依存的なPP2C結合部位を作り出すPYR/PYL/RCARのゲーティング・ループの動きは、GID1受容体がジベレリンの感知に用いる「閉じ蓋」メカニズムを想起させる。ジベレリンの場合、ホルモンと結合するポケットを覆うGID1のパーツがホルモンの結合によって動かされ、GID1が基質タンパク質と結合する部位が形成されて、ユビキチン化が開始する^{10,11}。オーキシンの「分子のり」メカニズムとは異なり、ABAもジベレリンも、受容体がアロステリック型の構造変化を示す¹²。仕組みの細部は異なるかもしれないが、植物ホルモンの作用では可溶性の受容体に共通の特徴がある。リン酸化にせよユビキチン化にせよ、ホルモンのシグナルがタンパク質間相互作用を増強して重要な化学修飾を調節し、それが標的タンパク質の活性を変化させているのだ。そしていずれの場合も、ホルモンは、タンパク質間の界面そのもの、またはその付近にある部位に結合し、結合するタンパク質を補助受容体として働かせている。(小林盛方 訳)

Laura B. Sheard および Ning Zheng、ハーワード・ヒューズ医学研究所およびワシントン大学薬理学科(米国)。

1. Melcher, K. et al. *Nature* **462**, 602–608 (2009).
2. Miyazono, K. et al. *Nature* **462**, 609–614 (2009).
3. Fujii, H. et al. *Nature* **462**, 660–664 (2009).
4. Santiago, J. et al. *Nature* **462**, 665–668 (2009).
5. Nishimura, N. et al. *Science* **326**, 1373–1379 (2009).
6. Yin, P. et al. *Nature Struct. Mol. Biol.* **16**, 1230–1236 (2009).
7. McCourt, P. & Creelman, R. *Curr. Opin. Plant Biol.* **11**, 474–478 (2008).
8. Ma, Y. et al. *Science* **324**, 1064–1068 (2009).
9. Park, S. Y. et al. *Science* **324**, 1068–1071 (2009).
10. Murase, K. et al. *Nature* **456**, 459–463 (2008).
11. Shimada, A. et al. *Nature* **456**, 520–523 (2008).
12. Tan, X. et al. *Nature* **446**, 640–645 (2007).