



植物のストレス応答・生長制御に関する構造的生物学的研究

東京大学大学院農学生命科学研究科 助教 宮川 拓也

はじめに

植物は根を下ろした環境で生育しなければならないため、土壌の栄養状態や生活環において遭遇する環境変化に順応し、病原菌の感染や害虫による食害などのストレスに抵抗するための様々なしくみを備えている。そのしくみを分子レベルで理解することは、植物の生育を適切に制御して安定かつ持続的な食糧生産につなげる技術への展開に欠かすことができない。とりわけ、20世紀半ばの「緑の革命」に代表されるように、植物ホルモンとそれに関わるシグナル伝達経路の制御は、農業生産性の向上にとって大きな可能性を秘めている。植物体内には植物ホルモンの作用点となる受容体が存在し、発生・生長・環境応答など、植物の様々な生理作用の制御において中心的な役割を担っている。近年、アブシシン酸 (ABA) やストリゴラクトン (SL) などの植物ホルモン受容体とその分子ネットワークの解明が進んだ。筆者らは、植物の機能制御剤の開発も視野に入れ、植物ホルモンとその受容体タンパク質を中心に、構造的生物学を基盤とした「植物のストレス応答と生長の制御機構」に関する研究を展開してきた。また、「ストレス応答における植物貯蔵タンパク質の新規機能の開拓」にも取り組んできた。以下に研究成果の概要を紹介する。

1. アブシシン酸の乾燥ストレス応答の制御機構

陸生植物は水辺から大陸内部へと生育範囲を拡大する進化の過程で、大地から水分を吸収するために根を発達させ、降雨のない天候が続く際には水分の蒸散を防ぎ、細胞組織の乾燥を防ぐためのしくみを獲得し発達させてきた。そのしくみの1つは、内在性の低分子化合物である ABA をメッセンジャーとする乾燥ストレス応答である。筆者らは、その主要な制御因子である ABA 受容体タンパク質 PYL1 が ABA を結合した状態の立体構造を決定し、ABA 受容体の ABA 認識機構を明らかにした。PYL1 は分子内部のポケットに ABA を内包し、2つのループ (機能制御ループ) が閉じた状態に固定されていた。

ABA シグナル伝達における ABA 受容体の役割は、ABA の結合に依存して ABA シグナル伝達の負の制御因子である脱リン酸化酵素 PP2C の活性を阻害することである。筆者らは、ABA 存在下で PYL1 と PP2C タンパク質 ABI1 の複合体構造から、ABA の結合により閉じた機能制御ループが実際に ABI1 との結合面となり、片方のループが PP2C の活性部位に「栓」をするように入り込んでいることを明らかにした。こうして、ABA は受容体をアロステリックに制御し、ループの開閉機構により ABI1 の脱リン酸化活性を阻害するモデルを提案した (図1)。

2. ストリゴラクトンのシグナル伝達機構

SL はラクトン構造を有するカロテノイド誘導体で、農業上重要な形質である枝分かれを抑制する植物ホルモンとして機能する。植物体における SL の受容とシグナル伝達に関して、 α/β 加水分解酵素の D14 が SL の加水分解活性に依存してジベレリンシグナル伝達の抑制因子である DELLA タンパク質 SLR1 と SL 依存的に相互作用することが見出されている。しかしながら、D14 による SL 加水分解とそれに依存した SLR1 との相互作用の分子機構は全く不明であった。筆者らは、種々の SL 合成アナログを用いた D14 の X線結晶構造解析の過程で、D14 による SL 加水分解産物と考えられる 5-hydroxy-3-methylbutenolide (D-OH) が結合した構造を決定した (図2)。D-OH は多様な構造を有する SL および SL 合成アナログの共通骨格である D環に由来する。D14 と D-OH の複合体構造において、D-OH は D14 の触媒残基から離れた位置に結合していた。この構造に基づく変異体解析により、D14 の加水分解により生じた D-OH の結合が D14 と SLR1 の SL 依存的な相互作用を誘起する制御モデルを提案した。

3. 植物貯蔵タンパク質の新規機能と構造基盤

植物は種子や塊茎などに貯蔵タンパク質と呼ばれる一群のタンパク質を蓄積する。貯蔵タンパク質は、種子の発芽や植物の

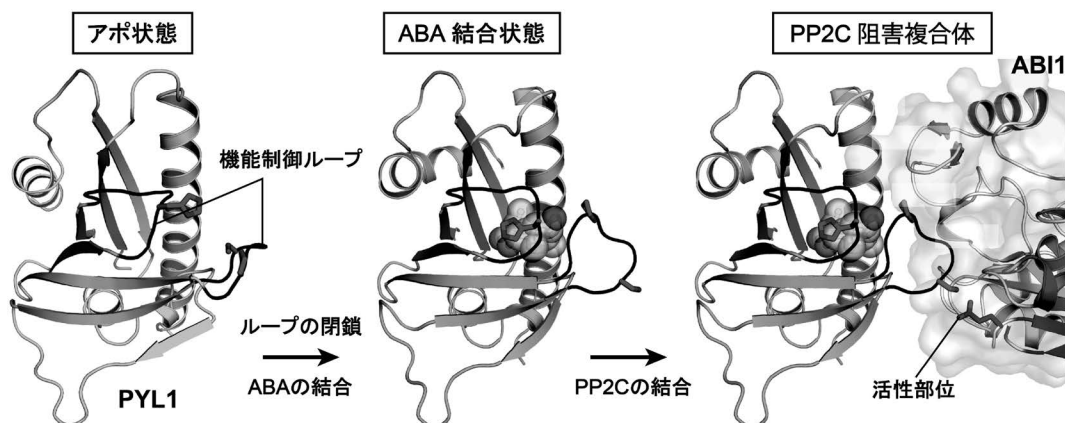


図1 ABA 結合による PYL1 の機能制御ループの閉鎖と ABI1 の活性阻害

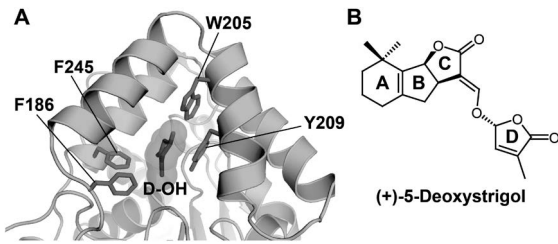


図2 D14のD-OH認識

A. 触媒ポケットにおけるD-OHの結合様式, B. SLの一種である(+)-5-deoxystrigolの構造式

生長時に分解され、タンパク質の生合成に必要なアミノ酸源として主に利用される。一方、ある種の貯蔵タンパク質はそれ自体が機能を持ち、植物における生理的役割を担っている可能性が示唆されている。筆者らはこれまでに、ストレス応答における貯蔵タンパク質の新規機能とその機能発現に重要な構造基盤を解析した。

植物は病原菌の感染や環境ストレスに応答した様々な生体防御機構を備えている。近年、この防御応答に関与する因子として、システイン残基に富んだ特徴的なアミノ酸配列 (domain of unknown function 26, DUF26) を1つないしタンデムに有するタンパク質が複数同定されている。筆者らは、銀杏種子(ギンナン)の貯蔵タンパク質の解析過程で、分子内に1つのDUF26をもつ抗真菌タンパク質Gnk2を同定し、X線結晶構造解析によりGnk2の全長配列(シグナル配列除く)が1つの機能ドメインを形成していることを明らかにした。さらに、真菌細胞表層成分との相互作用スクリーニングによりGnk2が真菌細胞表層マンナンと結合することがわかり、その単糖成分であるマンノースとの複合体構造を決定した。これにより、Gnk2のマンノース結合残基が同定され、単糖選択性を規定する構造基盤が明らかになった。興味深いことに、マンノース結合残基の置換はGnk2のマンノース結合能を低下させるだけでなく、抗真菌活性も失われたことから、Gnk2が植物病原性真菌の増殖を抑制するために真菌の細胞表層マンナンを標的にしていることが明らかになった。酵母の細胞表層マンナンとアドヘンシファミリーに属するflocculinタンパク質が相互作用することで、酵母はバイオフィルムを形成することが知られている。Gnk2は、 α 1,2-マンノビオースに対してflocculinと同程度の結合親和性を有することから、真菌の増殖抑制に加えてバイオフィルム形成をも阻害し、フィトアレキシンなどの抗菌物質の作用を補助する生理作用を担う可能性が示唆される。

一方、我々が食しているヤマイモの塊茎には、貯蔵タンパク質のdioscorinが存在し、実に可溶性タンパク質の80-85%を占める。dioscorinは炭酸脱水酵素(carbonic anhydrase, CA)およびデヒドロアスコルビン酸(dehydroascorbate, DHA)還元酵素(DHA reductase, DHAR)としての活性をもつ。しかしながら、従来のCA活性およびDHAR活性はそれぞれ、亜鉛イオン(Zn^{2+})および還元型グルタチオンを必要とするが、dioscorinのCA活性およびDHAR活性はそれらに依存しない。筆者らは、X線結晶構造解析により、dioscorinに特徴的なCA活性およびDHAR活性の反応機構とその構造基盤を解析し、

従来のCAの Zn^{2+} 結合残基である3つのヒスチジン残基のうちの1つがグルタミン残基に置換(H114Q変異)されることで、 Zn^{2+} に対する結合能が弱められ、残りのヒスチジン残基の1つが活性中心を形成することを明らかにした。また、H114Q変異は活性中心の近傍にDHAが結合することを可能にし、同一の活性中心で2つの異なる反応を共役させる反応機構が推定された。この反応機構において、dioscorinは水分子から引き抜いた H^+ をDHAに付加することでグルタチオン非依存的にDHAを還元し、植物の抗酸化剤であるアスコルビン酸(ascorbic acid: ACS)を再生できる。これは、ユビキタな水分子と二酸化炭素分子を用いて、抗酸化能を持続させる機構が植物に存在することを示唆する。

おわりに

本研究では、構造生物学の視点から、ABA受容体およびSL受容体を介した植物ホルモンシグナル伝達の制御機構、ならびに植物貯蔵タンパク質の新規機能の一部を明らかにし、植物のストレス応答と生長制御の分子基盤の理解を深化させることができた。ABA受容体などのABAシグナル伝達の制御因子は、重複遺伝子のアミノ酸配列を多様化させて細胞機能の複雑な調節に関与していることが示唆されている。また、SL受容体は、他の植物ホルモンシグナル伝達因子を調節し、植物ホルモン間のクロストークに関与することが報告されている。今後は、こうした重複遺伝子の多様性と植物ホルモン間クロストークに対しても、構造生物学を基盤とした研究を展開し、植物のストレス応答と生長の制御のしくみを明らかにしていきたいと考えている。

謝辞 本研究は、東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻食品生物構造学研究室で行われたものです。学生時代から、自由な発想で思う存分に研究を行える環境と機会を与えていただき、研究全般に渡ってご指導ご鞭撻を賜りました田之倉 優先生(東京大学)に、心より感謝申し上げます。また、本奨励賞にご推薦いただき、厚く御礼申し上げます。永田宏次先生(東京大学)には、X線結晶構造解析の基礎から教えていただき、豊富な経験から数多くのご教示を賜りました。深く感謝申し上げます。秦野賢一先生(群馬大学)には、私を研究の世界へと導いていただき、現在まで共同研究を通して多くの激励とご支援を賜りました。この場をお借りして、心より感謝申し上げます。篠崎和子先生(東京大学)、浅見忠男先生(東京大学)には、本研究を遂行するにあたり多大なご指導を賜りましたこと厚く御礼申し上げます。また、中村英光先生(東京大学)のご協力と有意義なディスカッションにより、ストリゴラクトンシグナル伝達の研究が進展いたしました。ここに厚く御礼申し上げます。本研究の成果は、澤野頼子博士(東京大学・現東京医科歯科大学)、宮園健一博士(東京大学)、窪田恵子博士(東京大学)、薛 友林博士(東京大学・現遼寧大学)を中心に、研究室の卒業生ならびに技術補佐員の皆様の努力の賜物です。皆様に心より感謝いたしております。最後になりましたが、本奨励賞の受賞にあたり、共同研究を通じて多大なるご支援賜りました諸先生方に厚く御礼申し上げます。