

植物ホルモン受容体の分子構造研究

奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 教授 箱嶋 敏雄

1. はじめに

ホルモン(hormone)とは、もともと動物の生理学の研究から生まれた概念であり、「分泌細胞によって生産・分泌されて、循環器などを通して生体内を移動して、特定の標的細胞を刺激する物質」と定義される。1902年の動物ホルモンの1つであるセクレチン(すい臓からの重炭酸塩の分泌を亢進する消化器ホルモンの1つ)の発見に始まる。これはペプチドホルモンであったが、その後、低分子量化合物のホルモンが続々と発見されていく。植物ホルモンの研究もこの時代に始まっており、鋭い生理活性によって、形態形成・発育生理などに重要な役割を果たしていることが解明されてきた。オーキシン(auxin)は最初に確立された植物ホルモンであり、1926年に同定されている。植物ホルモンの発見の経緯はさまざまであり、オーキシンは光屈性の研究という学問的な興味から発見されたが、エチレン(ethylene)の研究は、エチレンがガス灯に使われていた100年前にガス灯に隣接する街路樹が早く落葉することに気づいたことが研究の端緒となったことは有名である。

これまでの研究から、7種類の低分子量化合物(図1、表1のオーキシンからブラシノステロイドまで)は植物ホルモンとしての地位が確立している。また、ストリゴラクトン(strigolactone)が第8番目の植物ホルモンであることが最近になってわかった。この化合物は、もともと半寄生植物 *Striga* 属の発芽誘導や菌根菌の共生促進物質として単離されていたが、2008年になって、枝分かれを抑制する植物ホルモンであることが明らかにされた。専門家の間では、これら8種類に加えて、植物の全身獲得抵抗性を誘導するサリチル酸(salicylic acid)も植物ホルモンとして論じることが多い。

これらホルモンの受容体タンパク質や、ホルモンの指令(シグナル)を伝達する経路を構成する制御タンパク質については長い間不明であった。しかし、分子生物学やゲノム科学の進展を背景に、この10年あまりの間に大きな進展があり、「分子植物学

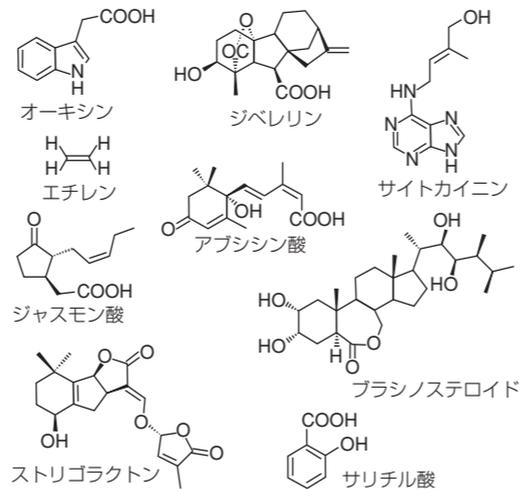


図1 低分子量化合物植物ホルモンの構造

表1 低分子量化合物植物ホルモン

オーキシン	頂芽優勢など
ジベレリン	伸長生長促進など
サイトカイニン	細胞分裂促進など
エチレン	果実成熟促進など
アブシジン酸	気孔開閉など
ジャスモン酸	休眠打破など
ブラシノステロイド	分化促進など
ストリゴラクトン	分岐抑制など

(molecular plant biology)」として黄金期を迎えるに至った。どのようなタンパク質が受容体としてはたらき、どのような制御タンパク質にシグナルを伝えて、どのようにして生理作用のスイッチを入れるかという分子レベルでの「シグナル伝達経路」が明らかになってきたのである。さらに、受容体のホルモン認識機構についても、この数年で、分子構造レベルで明らかになってきた。ここでは、植物ホルモン受容体の研究の最前線を概観した後で、植物科学上極めて重要であり、進展の著しい植物ホルモンであるジベレリンの受容体の構造研究をくわしく紹介したい。

2. 植物ホルモン研究の最前線

現在、7種類の植物ホルモン受容体遺伝子はすべて同定されており、タンパク質レベルでその活性が

確認されている。一方、ストリゴラクトンとサリチル酸の受容体は未知であり、世界の研究者がしのぎを削って探索している。それでは、既知の植物ホルモン受容体とは、いったいどのようなタンパク質なのだろうか? まず、7種類の植物ホルモン受容体の中で、4種類は細胞質や細胞核に存在する可溶性タンパク質であり、残り3種類は細胞膜貫通型の膜タンパク質であることがわかった(表2)。

表2 植物ホルモン受容体の分類

可溶性タンパク質	タンパク質分解系制御タンパク質 ・オーキシン受容体 ・ジャスモン酸受容体
	タンパク質分解系の補助タンパク質 ・ジベレリン受容体
	タンパク質脱リン酸化酵素阻害タンパク質 ・アブシジン酸
膜タンパク質	タンパク質リン酸化酵素(His型) ・サイトカイニン受容体 ・エチレン受容体
	タンパク質リン酸化酵素(Ser/Thr型) ・ブラシノステロイド受容体

可溶性タンパク質の中で、オーキシンとジャスモン酸(jasmonic acid)の受容体は、細胞内のタンパク質分解系を制御するタンパク質の一種であることがわかった。これは、高等学校の生物や化学のレベルを超えているが、以下に簡単に説明する。細胞は遺伝情報をリボソーム上で翻訳してタンパク質を生合成している。この生成したタンパク質の多くのものが、さまざまな修飾酵素によって修飾される。これを「タンパク質の翻訳後修飾」とよぶ。例えば、ユビキチン化酵素は、ユビキチンという小さなタンパク質を目的タンパク質のリジン残基に化学結合させる反応を触媒する。ユビキチンが鎖状に付加(ポリユビキチン化という)されると、そのタンパク質は細胞内で分解される(この現象の発見により、アーロン・チカノーバー、アーウィン・ローズ、アブラム・ハーシュコに2004年のノーベル賞が贈られた)。この分解反応は、プロテアソーム(現在東京都臨床医学総合研究所の田中啓二所長が1988年に精製に成功して命名した)とよばれる分解酵素によって触媒されるので、この細胞内タンパク質分解制御系を「ユビキチン-プロテアソーム系」とよぶ。オーキシンとジャスモン酸の受容体は、ユビキチン化酵素の一部(サブユニットという)であり、基質である目的タンパク質を識別する役割を担っているタンパク質(F-boxタンパク質とよばれる)であった。オーキシンあるいはジャスモン酸がこの受容体タンパク質に

結合すると、受容体は、目的タンパク質を識別できるようになり、目的タンパク質はポリユビキチン化の修飾を受けて分解されてしまう。実は、この目的タンパク質は、それぞれのホルモン作用を抑制している制御タンパク質であることがわかった。つまり、ホルモンがその抑制タンパク質の分解を促進することで、抑制されていたホルモン作用が発現するという機構で制御されていることがわかったのである。

ジベレリン(gibberellin)受容体も「ユビキチン-プロテアソーム系」の細胞内タンパク質分解に関与するタンパク質であるが、F-boxタンパク質ではなかった。後述するが、ジベレリン受容体は、ポリユビキチン化される基質タンパク質がF-boxタンパク質に識別されるのを助けるタンパク質であった。

翻訳後修飾の1つにタンパク質のリン酸化があり、リン酸化されたタンパク質は活性化されたり、不活性化されたりすることがわかっている。リン酸化はタンパク質リン酸化酵素(タンパク質キナーゼ)によって触媒されるが、その逆反応が脱リン酸化であり、蛋白質脱リン酸化酵素(タンパク質フォスターゼ)により触媒される。アブシジン酸(abscisic acid)の受容体はタンパク質脱リン酸化酵素の阻害タンパク質であることが2009年に解明された。アブシジン酸作用が発現するためには、いくつかの目的タンパク質のリン酸化による活性化が必須である。しかし、アブシジン酸の濃度の低いときは、ある種のタンパク質脱リン酸化酵素の作用によって不活性化脱リン酸化状態にある。ところが、アブシジン酸の濃度が上昇して、受容体にアブシジン酸が結合すると、受容体はこのタンパク質脱リン酸化酵素に結合して、その酵素活性を阻害してしまう。その結果、リン酸化された目的タンパク質が増えて、アブシジン酸応答が誘引されるのである。

膜タンパク質である3つの受容体はすべてタンパク質リン酸化酵素である。これを「受容体型タンパク質キナーゼ」とよんだりする。タンパク質のリン酸化は、一般には、セリン・トレオニン、チロシン、ヒスチジン、アスパラギン酸で起こる。この中でヒスチジン、アスパラギン酸のリン酸化は、原核生物と下等真核生物(酵母やカビ)と植物に特有であり、動物細胞では一般的ではない。サイトカイニン(cytokinin)とエチレンの受容体がこの型のリン酸化酵素であるが、一方、ブラシノステロイド

(brassinosteroid)受容体はセリン・トレオニンをリン酸化する型であることが判明した。これらの受容体タンパク質キナーゼは、ホルモンに結合するとタンパク質リン酸化酵素としての活性が亢進して、ホルモン作用に必要な目的タンパク質をリン酸化して作用を亢進する。

この数年で、エチレン以外の6種類の植物ホルモン受容体については、それぞれのホルモン分子をどのように認識しているかが、三次元構造上で、原子レベルで明らかになった。その結果、オーキシンとジャスモン酸の受容体は同族のタンパク質であったために、それらホルモンの認識機構はよく似ていたが、他のホルモンについては、明確な類似性がないことがわかった。これは、動物の低分子量化合物ホルモン(ステロイドホルモンやチロキシンなど)の受容体がすべて転写因子であり、各ホルモンを受容する部位の構造も高い類似性をもつことと極めて対照的である。動物は1つの制御システムを長い時間をかけて、複数のホルモンに対応できるように進化させてきたが、植物は各ホルモンに対してその場その場で使える制御システムを進化させてきたと考えられる。たぶん、植物は、進化の早い時期にホルモン応答システムを準備して固定化させる必要があったのではない。

3. ジベレリン作用の分子機構解明の背景

ジベレリンの研究は、イネの馬鹿苗病の病因カビ(学名 *Gibberella fujikuroi*)の産生する毒素の研究として100年以上前から始まり、1950年代に植物自体も産生することがわかって、植物ホルモンとしての研究が始まったという経緯がある。馬鹿苗病に罹患したイネは、生長は早い十分に穂をつけずに立ち枯れてしまう。古くから稲作を主とする日本の農民を苦しめてきた感染症だった。このような経緯もあって、ジベレリンの発見(と命名)やその後の研究の多くは日本の研究者によって成し遂げられてきた。馬鹿苗病菌の毒素の本体化合物として1938年に単離されてジベレリンは、その後、植物ホルモンとしての地位を確立して、生理活性物質としての天然物化学研究が大いに花開いた。しかし、その作用機構の研究は遅々として進まなかった。その解明には分子生物学の手法が植物学に導入されて、その威

力を発揮するまでまたなければならなかった。

4. ジベレリン作用の分子機構

ジベレリンの作用機構研究の最初のブレークスルーは、ジベレリンのシグナル伝達経路で抑制的にはたらくしている DELLA(デラ)タンパク質とよばれる転写の負の制御因子の遺伝子が1997-1998年に発見されたことであった。DELLA 遺伝子に人工的な変異を入れてその活性がなくなるようにしたり、遺伝子発現しないようにしたりすると、ジベレリンのシグナル伝達経路が活性化して、生理作用が発現するのである。しかし、DELLA タンパク質はジベレリンに直接結合することはなかった。そこで、DELLA タンパク質の活性を抑えるタンパク質を見つければ、それが受容体の可能性が出てきた。まず、DELLA タンパク質が先に述べた「ユビキチンプロテアソーム系」で分解されることがわかり、この分解を促進するタンパク質として、GID1 (GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1)とよばれるタンパク質の遺伝子(名前は、この遺伝子を破壊するとジベレリンに不感受性の矮性を示すという意味)が単離されてきた。奇妙なことに、このタンパク質は、リパーゼやカルボキシエステラーゼなどのエステル分解酵素に類似していた。これらの酵素のいくつかは三次元構造が決定されており、基質を捕まえるポケットをもっていることが知られていた。GID1 が受容体である可能性がでてきた。実際、GID1 はジベレリンに結合するとともに、DELLA タンパク質に特異的に結合して、DELLA タンパク質のユビキチン化を亢進することでその分解を促進することが証明されて、ジベレリン受容体と認められた。

さて、それではジベレリン受容体 GID1 はどのようにジベレリンを認識して、ジベレリンの結合に依存して DELLA タンパク質を識別できるようになるのか?この問いに答えるためには、ジベレリンに結合した GID1 が DELLA タンパク質を識別している複合体状態の構造を三次元レベルで調べる必要がある。このようにタンパク質などの生体高分子や、それらが形成する複合体の三次元構造を決定して、得られた三次元構造に基づいて分子認識や活性化機構を解き明かしていく分野は「構造生物学」とよばれており、最近、多くのノーベル賞研究に輝いている分

タンパク質が認識できる機構が明らかとなった(図3)。

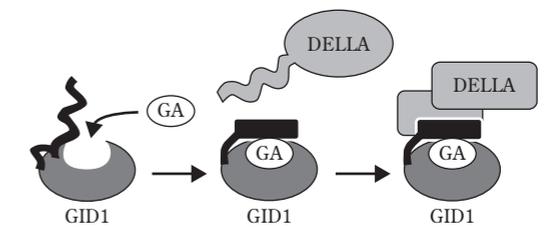


図3 ジベレリンの作用機構

5. 研究の今後

今回紹介したホルモンの作用機構の原理に関する基礎研究に加えて、さまざまな生理現象あるいは発生や分化の制御にホルモンがかかわっていることが明らかになりつつあり、分子レベルでの作用機構の解明が進んでいる。誘導する生理作用の特異性の高い動物ホルモンに比べて、植物ホルモンの作用は冗長的であり、同一の生理作用に複数のホルモンが関与する。例えば、伸長生長にはオーキシン、ジベレリン、サイトカイニンが関与する。これは、それぞれのホルモンが並列で、それぞれ独立で作用しているのではなく、各ホルモンのシグナル伝達経路が相互に情報を交換し合い、互いに制御しあう(クロストーク *crosstalk* という)ことで、調和のとれた制御がなされると考えられており、その分子レベルでの解析は現代植物学の中心課題の1つとなっている。どのようなタンパク質がどのような機構でそれぞれの経路の接点で情報を交換し合うのか?その構造的な基礎は何か?ここ数年で急速の進歩を遂げるであろう。

野である。三次元構造の決定はX線結晶構造解析の手法(この手法の創始により、マックス・ペルーツとジョン・ケンドルーは1962年のノーベル賞を受賞した。同年、この手法を用いたDNAの二重らせんの発見でフランシス・クリックとジェームス・ワトソンもノーベル賞を受賞した)が利用される。筆者らの研究グループは、三者複合体の結晶化に成功して、X線結晶構造解析法によって、2008年に、その構造を決定した(図2)。その結果、GID1はエステラーゼに類似した構造をもっており、分子の中心に活性部位に相当する深いポケットがあり、その中にジベレリン分子が捕らえられていることが証明された。ジベレリンはカルボキシル基や水酸基やラクトン基など活性に必須な親水性基をもっているが、それらはすべて水素結合で認識されていた。GID1はエステル分解酵素活性に必須なアミノ酸残基の1つを欠いているので酵素活性はないが、その活性部位に相当する部分は保存しており、うまくジベレリンのカルボキシル基を認識していた。興味深いことに、GID1はこのポケットの蓋に相当する部分をもっており、それがピッタリと閉っていた。つまり、ジベレリン分子はタンパク質の内部に取り込まれた状態になっていた。このことにより、GID1はジベレリンのほぼすべての構成原子と接触しており、ジベレリンの分子外形そのものも認識していることがわかった。一方、DELLAタンパク質は、ポケットの蓋の部分に結合していた。種々の生化学実験から、この蓋の部分はジベレリンが結合しないときは開いた状態にあり、閉じたときと構造が違うのでDELLAタンパク質と結合できないことがわかった。これにより、ジベレリンが結合して初めてDELLA

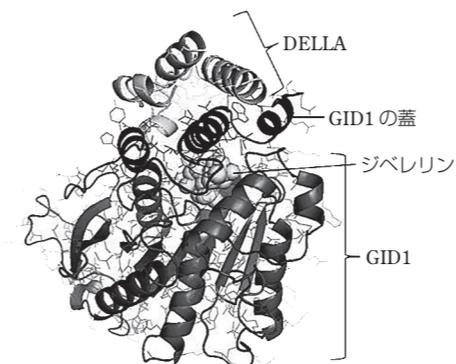


図2 ジベレリン-GID1-DELLA 複合体の構造

参考文献

1. 村瀬浩司, 平野良恵, 箱嶋敏雄(2010):ユビキチン修飾系による植物ホルモン刺激伝達制御. 細胞工学(秀潤社)29(12), 1209-1215.
2. 村瀬浩司, 平野良恵, 箱嶋敏雄(2010):ついに解明されたジベレリンの作用機構:ジベレリンはふたを閉じる. 化学(化学同人)65(4), 30-35.