

無細胞系を利用したスクリーニングにより新しいジベレリン受容体アゴニストを単離 - 新しいジベレリン様活性を持つ化合物の単離に成功 -

・概要

プロテオサイエンスセンター 野澤 彰 准教授、澤崎 達也 教授らの研究グループは、植物ホルモンであるジベレリンの受容体に対する新規アゴニスト分子「ジフェガラクチン」の単離に成功しました。コムギ無細胞系を利用した化合物スクリーニングによって単離されたジフェガラクチンはブドウ、レタス、みかんなど様々な植物に対してジベレリン様の活性を示すことが確認されました。また、ジフェガラクチンはジベレリン受容体の中でも主に B 型の受容体に作用することから、植物ゲノム上に複数種類存在するジベレリン受容体の役割分担を解明する研究にも役立つことが期待されます。論文は、2023 年 5 月 9 日 18 時(日本時間)に Communications Biology に掲載されました。

1. 背景

ジベレリンは植物の発芽、茎の伸長、開花など様々な生育過程を制御する植物ホルモンです。ジベレリンは種無しブドウの作出など農業現場でも利用されている植物ホルモンです。ジベレリンに対する植物の応答は、ジベレリンが受容体タンパク質(GID1)に作用した結果、抑制因子の DELLA タンパク質が分解されることで誘導されます(2 頁図 1)。

また、多くの植物のゲノム上には複数種類のジベレリン受容体タンパク質が存在していますが、それらの役割分担に関してはあまり理解が進んでいません。

2. 研究成果

研究グループは、愛媛大学プロテオサイエンスセンターが独自に開発してきたコムギ無細胞タンパク質合成システムと分子間相互作用解析技術である AlphaScreen 法を利用することでジベレリン受容体と DELLA タンパク質のジベレリン依存的相互作用を解析できるアッセイ系の構築に成功しました。このアッセイ系を利用した化合物スクリーニングシステムにより、新規ジベレリン受容体アゴニスト「ジフェガラクチン」を単離しました(2 頁図 2)。AlphaScreen を利用した相互作用解析の結果、ジフェガラクチンは B タイプのジベレリン受容体と DELLA タンパク質の相互作用を主に誘導できることがわかりました(3 頁図 3)。ジフェガラクチンを植物に投与した結果、ブドウの房の伸長促進、レタスの根の伸張促進、みかんの浮皮の抑制など様々な効果が観察されました(3 頁図 4)。

3. 波及効果

本研究で単離されたジフェガラクチンはジベレリンとは全く異なる構造を有したジベレリン活性を持つ化合物です。また、ジフェガラクチンはジベレリンよりも単純な構造であるため、簡便な手法で化学合成が可能です。今後、ジフェガラクチンの構造をもとに植物体内のジベレリン代謝系で代謝されないより効果的なジベレリン受容体アゴニストの開発が行われることが期待されます。また、ジフェガラクチンは B タイプのジベレリン受容体に主に作用することから B タイプジベレリン受容体の機能を明らかにする研究への利用が期待されます。

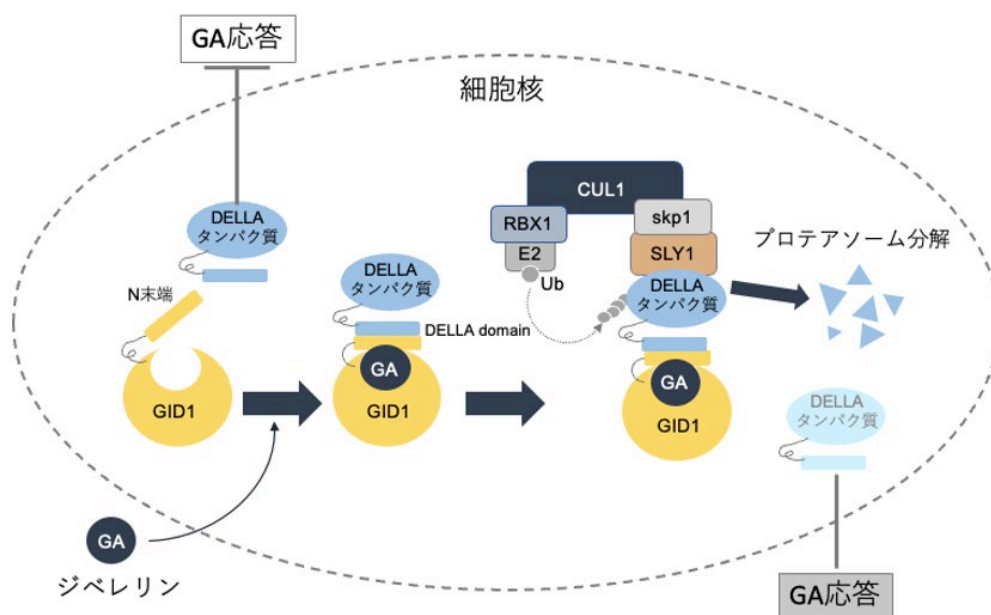
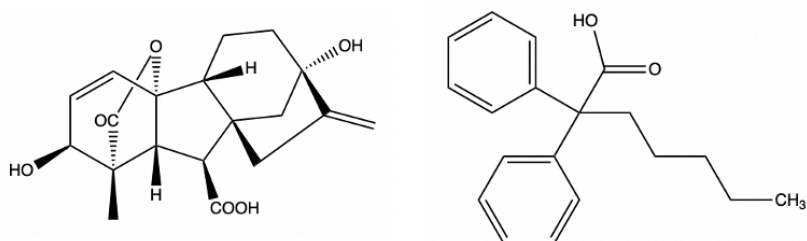


図1 ジベレリン応答の分子機構

ジベレリン(GA)受容体タンパク質(GID1)にGAが結合するとGID1の構造が変化し、GA応答を抑制しているDELLAタンパク質と結合する。GID1と結合したDELLAはユビキチン化されプロテオソーム系で分解される。DELLAが分解されることでGA応答が起こる。



ジベレリン(GA₃) ジフェガラクチン

図2 ジフェガラクチンの構造

ジフェガラクチンはジベレリンとは異なる構造を有する。

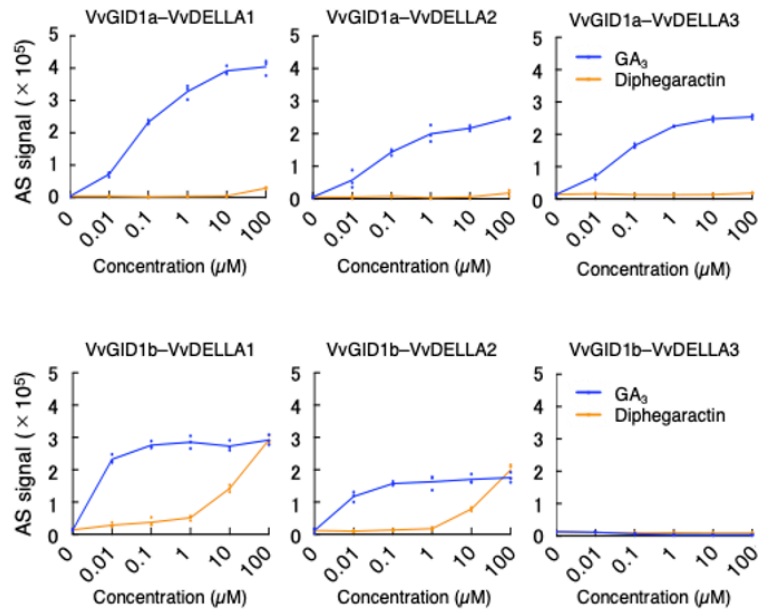


図3 ジフェガラクチンによる GID1 と DELLA の相互作用促進効果
 ジフェガラクチンは 100 μM の濃度では GA (GA₃) と同程度の GID1 と DELLA の相互作用促進効果を有することが確認された。ジフェガラクチンは GA とは異なり、主に B タイプの GID1 に作用する。

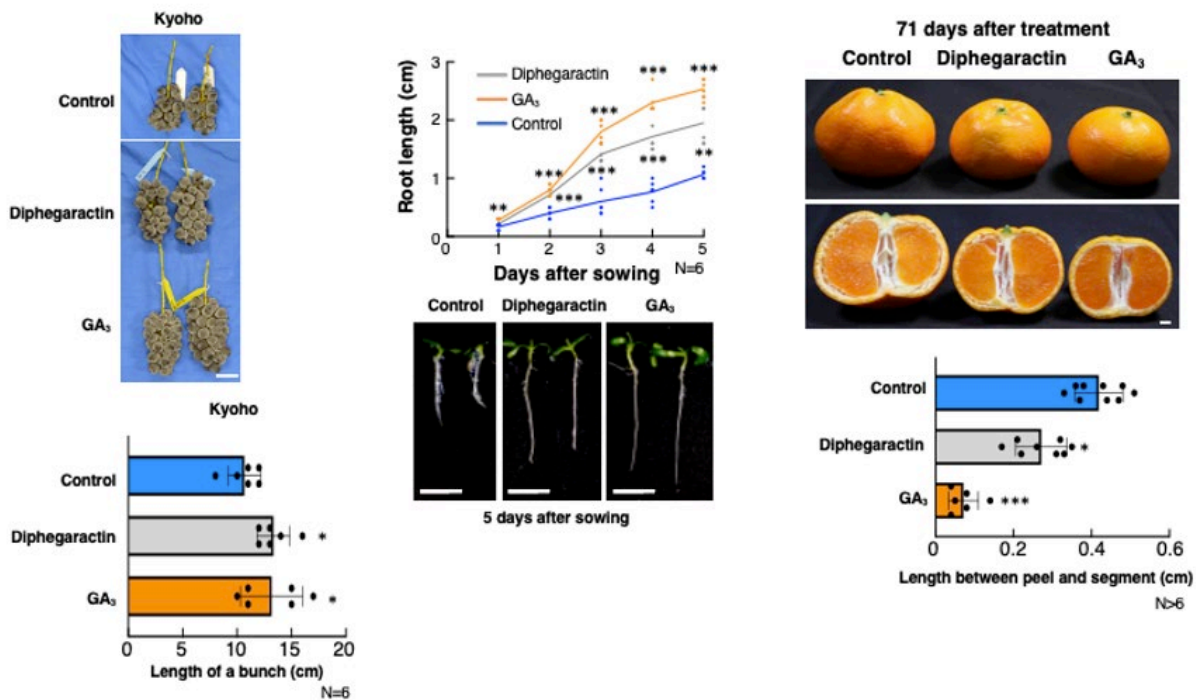


図4 ジフェガラクチンの植物体への効果
 ジフェガラクチンはブドウの房丈やレタスの根の伸長促進効果、みかんの浮皮抑制効果を示すことが確認された。

4. 研究体制と支援について

本研究は、愛媛大学 プロテオサイエンスセンター、山梨大学 ワイン科学研究センター、東京大学大学院 農学生命科学研究科、愛媛県農林水産研究所 果樹研究センター、かずさDNA 研究所、県立広島大学 生物資源科学部、岩手生物工学研究センターとの共同研究としておこなわれました。

本研究は、日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業「コムギ無細胞系による構造解析に適した複合体タンパク質生産・調製技術と低分子抗体作製技術の創出」、新学術領域研究「分子間相互作用に基づくシグナル伝達網解析のための無細胞プロテオーム技術の開発」、JSPS 科学研究費の支援を主に受けおこなわれました。

< 論文タイトルと著者 >

タイトル: Identification of a new gibberellin receptor agonist, diphegaractin, by a cell-free chemical screening system

(和訳) 無細胞化合物スクリーニング系を利用した新規ジベレリン受容体アゴニスト「ジフェガラクチン」の単離

著者: Akira Nozawa, Ryoko Miyazaki, Yoshinao Aoki, Reina Hirose, Ryosuke Hori, Chihiro Muramatsu, Yukinori Shigematsu, Keiichirou Nemoto, Yoshinori Hasegawa, Keiko Fujita, Takuya Miyakawa, Masaru Tanokura, Shunji Suzuki, Tatsuya Sawasaki

掲載誌 : **Communications Biology**

掲載日 : 2023 年 5 月 9 日 18:00 (日本時間)

用語説明

1) ジベレリン

植物の成長、発芽、花芽の形成、果実の肥大促進など多くの生理現象にかかわる植物ホルモン。ジベレリンはイネの馬鹿苗病の病因カビの生産する毒素として研究が始まり、1926年に黒澤英一により馬鹿苗病菌の代謝産物にイネの伸長を促進する作用があることが見出された。そして、1935年藪田貞治郎により単離、命名された。ジベレリンは世界で初めて微生物から単離された機能性化合物であり、現在までに農業、林業などに広く用いられている。なお植物には、ジベレリンの他に、オーキシシン、エチレン、サイトカイニン、アブシジン酸、ブラシノライド、サリチル酸、ジャスモン酸などの植物ホルモンが知られている。

2) ジベレリン受容体タンパク質(GID1タンパク質)

ジベレリンと結合しその情報を伝えるタンパク質として、2005年に名古屋大学らの研究グループがイネから単離・同定した。さらに、2008年にはジベレリンとの共結晶構造が明らかになった。現在までに、シロイヌナズナ(シロイヌナズナには3種類が存在)などの多くの植物種から相同遺伝子が単離され、ジベレリンの受容体として機能することが示されている。ジベレリン受容体タンパク質は大きくAタイプ、Bタイプ、単子葉タイプの3種に分類される。

3) DELLA タンパク質

ジベレリンシグナルの抑制因子。ジベレリン存在下ではジベレリンがジベレリン受容体であるGID1タンパク質と結合し、その結合によりGID1タンパク質の構造が変化するとDELLAタンパク質と結合するようになる。GID1タンパク質-ジベレリン複合体と結合したDELLAタンパク質はユビキチン化されプロテアソーム系で分解される。ジベレリン存在下ではこのような仕組みでDELLAタンパク質が分解されることでジベレリン応答が引き起こされる。

4) ジフェガラクチン

本研究で単離されたジベレリン受容体アゴニスト。主にBタイプのジベレリン受容体とDELLAタンパク質の相互作用を促進する効果を有する。名前は、ジフェニル酢酸骨格を有することに由来する。ジベレリンとは全く異なる構造を持つ。

5) コムギ無細胞タンパク質合成系

愛媛大学の遠藤弥重太特別名誉教授らによって開発されたコムギ胚芽抽出液を用いたin vitroタンパク質合成システム。タンパク質合成阻害物質を除去したコムギ胚芽抽出液に、アミノ酸などの基質と目的mRNAを加えるだけで、微生物から高等生物、さらに人工タンパク質に至るまで安定して高効率にタンパク質を合成する技術。

6) AlphaScreen システム

パーキンエルマー社が開発した分子間相互作用を解析する技術。異なる標的分子を補足したビーズ同士の距離が近接したときにのみ起こる化学エネルギー移動を、発光により検出することで、標的分子間の相互作用を定量する技術である。