

コムギ無細胞系を用いたスクリーニング系により新規アブシジン酸受容体アゴニストを単離

アブシジン酸 (ABA) は非生物ストレス応答と適応において中心的な役割を果たす植物ホルモンで、農薬の候補として期待される。これまでに、ABA のアゴニストは主に酵母 2 ハイブリッド法を用いたスクリーニングか、ABA や既存のアゴニストの化学構造を元にした分子デザインによって探索、開発されてきた。今回筆者らは、新しくコムギ無細胞系により発現させたタンパク質をベースにアルファスクリーンの系を構築した。この系を用いた 14 種の ABA 受容体と 7 種の PP2C の相互作用解析からこれまで報告されていない相互作用を見出した。また、PYR1 と ABI1 を用いたアルファスクリーンで、PYR1 アゴニストを 9600 化合物より探索した結果、JFA1 を取得し、さらにこの構造の一部を改変した JFA2 を合成した。これらの受容体特異性を評価したところ、JFA1 は PYR1 と PYL1 に弱い活性を示す一方、JFA2 は PYR1、PYL1、PYL5 にアゴニスト活性があった。JFA1 と JFA2 は共に種子発芽を抑制するが、根の伸長を阻害しなかった。また、JFA2 のみが ABA 応答性遺伝子発現を強く誘導して、乾燥耐性を促進した。この研究において、スクリーニング・評価系およびアゴニスト化合物の生物活性が興味深かったので、紹介する。

紹介論文

Identification of new abscisic acid receptor agonists using a wheat cell-free based drug screening system

Keiichirou Nemoto¹, Makiko Kagawa¹, Akira Nozawa¹, Yoshinori Hasegawa², Minoru Hayashi³, Kenichiro Imai⁴, Kentaro Tomii⁴ & Tatsuya Sawasaki¹

(¹Proteo-Science Center, Ehime University, 3 Bunkyo-cho, Matsuyama, Ehime, 790-8577, Japan. ²Department of Technology Development, Kazusa DNA Research Institute, Kisarazu, Chiba, 292-0818, Japan. ³Department of Materials Science and Biotechnology, Graduate School of Science and Engineering, Ehime University, 3 Bunkyo-cho, Matsuyama, 790-8577, Japan. ⁴Artificial Intelligence Research Center (AIRC) and Biotechnology Research Institute for Drug Discovery, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 2-4-7 Aomi, Koto Ward, Tokyo, 135-0064, Japan.)

Scientific Reports (2018) 8, 4268

要旨

Abscisic acid (ABA) is the main phytohormone involved in abiotic stress response and its adaptation, and is a candidate agrichemical. Consequently, several agonists of ABA have been developed using the yeast two-hybrid system. Here, we describe a novel cell-free-based drug screening approach for the development and validation of ABA receptor agonists. Biochemical validation of this approach between 14 ABA receptors (PYR/PYL/RCARs) and 7 type 2C-A protein phosphatases (PP2CAs) revealed the same interactions as those of previous proteome data, except for nine new interactions. By chemical screening using this approach, we identified two novel ABA receptor agonists, JFA1 (julolidine and fluorine containing ABA receptor activator 1) and JFA2 as its analog. The results of biochemical validation for this approach and biological analysis suggested that JFA1 and JFA2 inhibit seed germination and cotyledon greening of seedlings by activating PYR1 and PYL1, and that JFA2 enhanced drought tolerance without inhibiting root growth by activating not only PYR1 and PYL1 but also PYL5. Thus, our approach was useful for the development of ABA receptor agonists and their validation.