

鄭貽生副教授研究團隊，前左二為鄭貽生副教授，前左一為本論文第一作者陳俊彥

## 鄭貽生副教授研究團隊發表論文揭秘植物荷爾蒙-「茉莉酸胺基酸合成酶蛋白質複合體結構」在光訊息路徑之重要分子機制

臺灣大學生科系/植科所鄭貽生副教授研究團隊近日發表研究成果，揭開植物阿拉伯芥的茉莉酸-胺基酸合成酶(Jasmonate-amido synthetase)與谷胱甘肽 S-轉移酶(Glutathione S-transferase, GST)的蛋白質複合體結構，此研究證實植物遠紅外光(Far-red light, FR)訊息傳遞路徑與植物荷爾蒙茉莉酸(Jasmonic acid, JA)反應之間存在相互調控之機制，本論文刊登於國際科學學術期刊「美國國家科學院院刊」(PNAS 2017 114:E1815-E1824)。

光對於植物的生長佔有相當重要的地位，植物會利用光敏素(Phytochrome)等蛋白質感知光的分子訊息，並調控下游相關基因表現，促進植物光型態(Photomorphogenesis)的發生，例如種子萌芽、葉綠素生合成、葉片生長與側根發育。本論文的共同作者謝旭亮教授先前從模式植物阿拉伯芥中篩選出對遠紅外光訊息不敏感的突變株，並將造成突變的基因命名為 FIN219 (Far-red Insensitive 219)，之後利用酵母菌雙雜交(Yeast two-hybrid)實驗法，進一步尋找和 FIN219 蛋

白質產生交互作用的訊息分子，進而發現了具有谷胱甘肽 *S*-轉移酶(Glutathione *S*-transferase, GST)活性的蛋白質分子 FIP1 (FIN219-interacting protein 1)，其基因表現會影響植物接收遠紅外光的生理訊息。此外，研究也指出 FIN219 屬於與植物荷爾蒙高度相關的 GH3 基因家族的成員，具有催化植物荷爾蒙茉莉酸(Jasmonic acid, JA)共價結合胺基酸的酵素活性。茉莉酸的生合成是調控植物防禦的重要機制，植物在受到物理傷害或病菌感染時，於損傷部位會大量產生茉莉酸，進而開啟與逆境相關的基因表現。而 FIN219 可將茉莉酸從不活化態的茉莉酮酸(Jasmonate)轉化為活化態的茉莉酸-異白胺酸(Jasmonoyl-isoleucine, JA-Ile)分子，使受傷訊息繼續往途徑的下游傳遞，對於植物啟動防禦機制的重要性不言而喻。

植物的光訊息與茉莉酸反應之間存在著複雜的生理調控關係(圖 1)，FIN219 同時參與了遠紅外光訊息與茉莉酸生合成，被認為是這兩種訊息相互調控之關鍵。有趣的是，FIP1 並非參與在茉莉酸反應的因子，卻會與 FIN219 蛋白質產生交互作用。因此本研究針對 FIN219 和 FIP1 從生物化學、生物物理以及結構生物學的觀點，解析其蛋白質的結構與生化功能，進一步探討這兩種基因對於訊息間的調控扮演何種角色。本研究顯示，FIP1 與 FIN219 的結合會促進 FIN219 腺苷化(adenylation)反應的酵素活性，代表 FIP1 的結合能提升 FIN219 對於活化茉莉酸的催化效率。為探究 FIN219 與 FIP1 的結合機制，本文利用 X 光繞射結晶(X-ray crystallography)之技術解出蛋白質結構，首先篩選出理想的 FIN219-FIP1 蛋白質複合體結晶，並將晶體樣本送至新竹國家同步輻射中心(National Synchrotron Radiation Research Center, NSRRC)的 BL13C1 光束線收集晶體繞射數據，再以電腦分析繞射數據並建構出蛋白質的三維立體模型。由於 FIN219 的結構曾在 2012 年被發表，顯示由較大且含有活性區的 N 端結構域和較小且可移動的 C 端結構域所構成，先前研究指出，FIN219 存在催化前結合受質的開放形式(open form)與催化完成結合產物的閉合形式(closed form)兩種構型，而調控兩種構型的轉換係由 C 端結構域負責。本篇論文發現 FIP1 與 FIN219 結合後，FIN19 的 C 端結構域與先前報導之構形不同，因此命名為複合體形式(complex form，圖 2)，這個複合體結構係在 FIP1 與 FIN219 結合後，促使 FIN219 的 C 端結構域關閉 FIN219 在 N 端結構域底部的活性區入口，改變了 N 端活性區內局部結構，進而使受質之間的結合更緊密，這解釋了為何 FIP1 的結合提升 FIN219 的催化效率。此外。研究團隊也解出多種不同胺基酸受質與 FIN219-FIP1 複合體結合的結構，並發現親和性較低的胺基酸結合於 FIN219 的活性區，將會影響三磷酸腺苷(Adenosine Triphosphate, ATP)在 FIN219 活性區的穩定性，進一步影響催化活性及其產物的生合成，結果說明為何 FIN219 會以異白胺酸(Ile)為主，作為催化茉莉酸共價連

結的主要對象。本研究解析出原子層級的高解析度蛋白質結構，提出植物光訊息分子影響荷爾蒙合成的實際例證，對於植物光生理與逆境生理的調控機制，將提供嶄新的研究方向。

論文原文連結：<http://www.pnas.org/content/114/10/E1815.abstract>

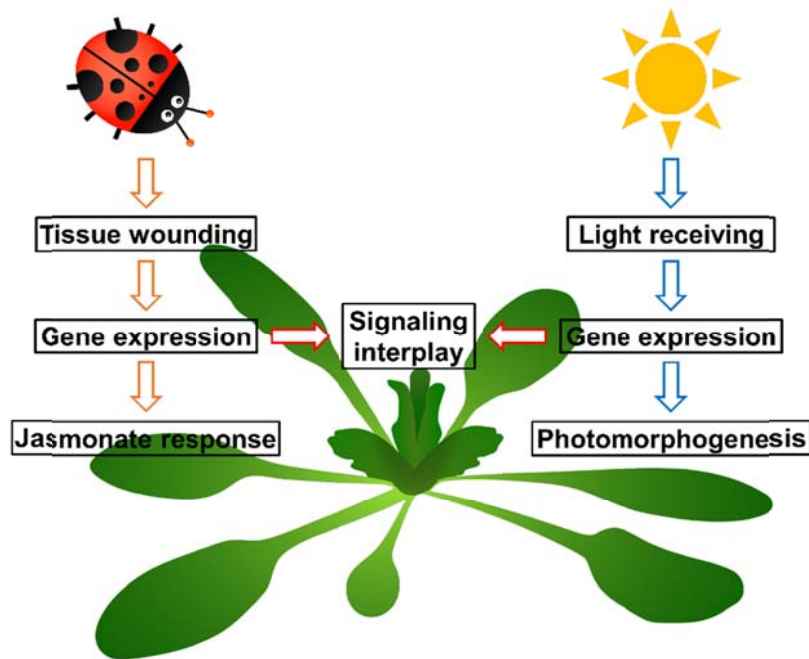


圖 1. 阿拉伯芥光訊息路徑與茉莉酸反應路徑之間的調控關係。

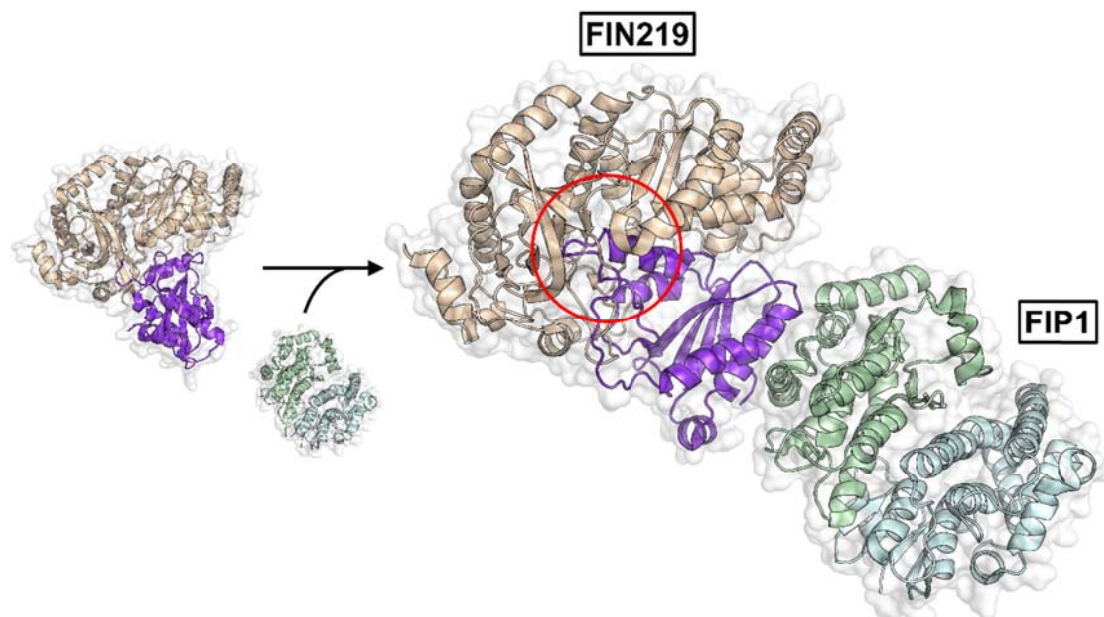


圖 2. FIN219-FIP1 蛋白質複合體晶體結構。紫色區域為 FIN219 的 C 端結構域，會隨著 FIP1 的結合產生構型變化，並將 N 端的活性區入口封閉(紅圈處)。