

RESUMEN

La ubiquitinación inducida por hormonas desempeña un papel crucial en la vida media de los reguladores negativos clave de la propia señalización hormonal. En la señalización por ABA, los reguladores negativos clave son las PP2Cs del clado A, como PP2CA o ABI1, y su degradación es un mecanismo complementario a la inhibición de su actividad mediada por PYR/PYL/RCAR. El ABA promueve la degradación de ABI1 a través de las E3 ligasas PUB12/13, y PP2CA a través de las E3 ligasas RGLG1/5. Sin embargo, se predice que otras E3 ligasas no identificadas también regularán la vida media de las PP2Cs del clado A. En pasos posteriores de la señalización por ABA, el ABA también induce la regulación positiva de los niveles de transcrito y proteína de las PP2Cs como un mecanismo de retroalimentación negativa. Por lo tanto, restablecer la señalización de ABA también requiere la degradación de las PP2Cs para evitar su acumulación excesiva inducida por el propio ABA.

En este trabajo identificamos las proteínas BTB/POZ AND MATH DOMAIN (BPM), adaptadores del sustrato de las E3 ligasas multiméricas CULLIN3-RING E3 (CRL3), como proteínas que interactúan con las PP2Cs. BPM3 y BPM5 interactúan en el núcleo con PP2CA, así como con ABI1, ABI2 y HAB1. Además, BPM3 y BPM5 aceleran la degradación de las PP2Cs de una manera dependiente del ABA y su sobreexpresión conduce a una mayor sensibilidad al ABA. Además, las plantas mutantes *bpm3 bpm5* mostraron una mayor acumulación de PP2CA, ABI1 y HAB1, lo que conduce a una sensibilidad global disminuida al ABA. Finalmente, utilizando ensayos bioquímicos y genéticos, demostramos que las BPM aumentaban la ubiquitinación de PP2CA. Dado que la formación de los complejos ternarios receptor-ABA-fosfatasa se ve notablemente afectada por la abundancia de sus componentes proteicos y la concentración de ABA, revelamos que las BPM y las E3 ligasas multiméricas CRL3 son moduladores importantes de los niveles del correceptor PP2C para regular la señalización temprana de ABA, así como durante los consiguientes pasos de restablecimiento.

Al contrario que con PUB12/13, no se sabe cómo el ABA aumenta la degradación de PP2CA a través de RGLG1/5. En el caso de RGLG1, esta proteína se encuentra predominantemente en la membrana plasmática, mientras que PP2CA se encuentra predominantemente en el núcleo. Nosotros demostramos que el ABA modifica la localización subcelular de RGLG1, promoviendo la interacción nuclear con PP2CA. En primer lugar, encontramos que RGLG1 está miristoilado *in vivo*, lo que facilita su unión a la membrana plasmática, sin embargo, el ABA inhibe esta miristoilación. El ABA también regula negativamente a N-myristoyltransferase 1, la enzima activa y central en la miristoilación de proteínas, esto puede ayudar a promover la translocación de RGLG1 al núcleo. Allí, RGLG1 puede interactuar con ciertos receptores monoméricos del ABA, como PYL8. El reclutamiento nuclear de la E3 ligasa también fue promovido por el aumento de los niveles de proteína PP2CA y por la formación de complejos RGLG1-PYL8-PP2CA en presencia de ABA. Además, nosotros encontramos que RGLG1^{Gly2Ala}, mutada en el sitio de miristoilación N-terminal, muestra localización nuclear constitutiva y provoca una respuesta más sensible al ABA y al estrés salino y osmótico. En resumen, proporcionamos evidencia de que una ligasa E3 puede reubicarse dinámicamente en respuesta al ABA, el estrés salino y osmótico, y el aumento de los niveles de su sustrato, lo que revela un mecanismo para explicar cómo el ABA mejora la interacción RGLG1-PP2CA y, por lo tanto, la degradación de PP2CA.