

サイトカイニン合成酵素による植物形態形成の制御

柿本 辰男

大阪大学大学院理学研究科

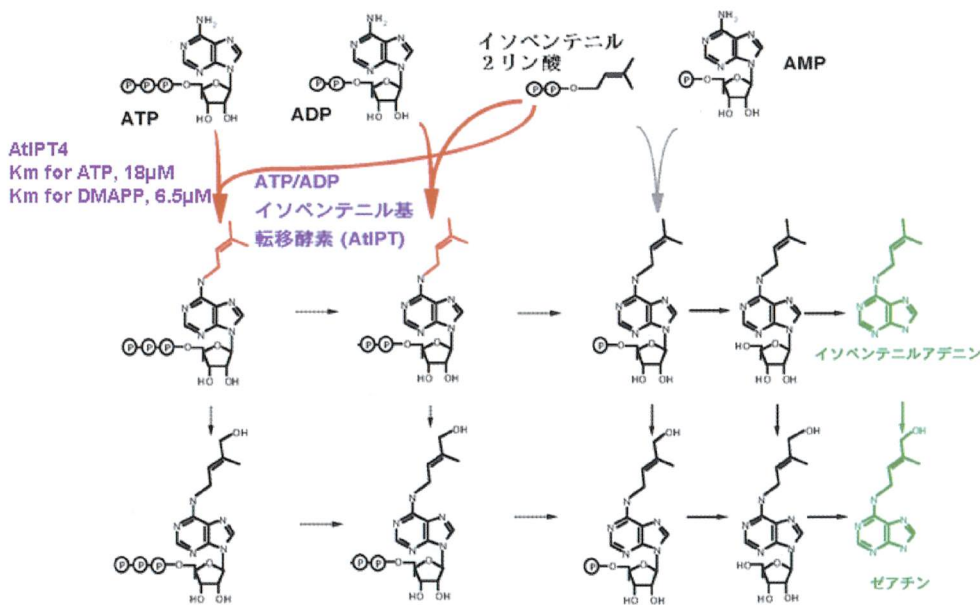
研究のねらい

サイトカイニンは、アデニンにイソペンテニル基が結合した植物ホルモンである。オーキシンと共に組織培養下での細胞分裂に必須であり、また、未分化細胞塊を芽に分化させる作用も持つ。また、腋芽形成、栄養応答、栄養の分配、老化などにも影響する。昔から重要なホルモンと考えられてきたが、その役割には謎が多い。サイトカイニンが植物の形態形成をどのように調節しているのかを知るためには、サイトカイニンがどこでどのようにして合成され、合成はどのような調節を受けているのかを知る必要がある。

研究の成果と考察

1. サイトカイニン合成経路の解明

植物のサイトカイニンは、合成経路が明らかでなく、合成の律速酵素もわかっていなかった。アデニン骨格のイソペンテニル化が重要であると考えられたので、私は、イソペンテニル基の転移を触媒する酵素をコードする可能性のある配列を検索し、サイトカイニン合成経路で働くイソペンテニル基転移酵素群を発見した。また、これらの産物の酵素活性は、これまでに知られていなかった ATP と ADP のイソペンテニル化酵素(ATP/ADP イソペンテニル基転移酵素)のものであることを示した。これにより、植物のサイトカイニンは主に ATP と ADP のイソペンテニル化により合成されることを提唱した (図、赤が律速。その後緑で示す活性型までは一般的プリン代謝酵素で自然に進む)。



2. サイトカイニン合成酵素遺伝子の組織特異的発現と、発現へのホルモンと外環境の影響

植物の発生段階においてどこでサイトカイニンが合成されるのかに関する情報を得るため、シロイヌナズナに存在する7つの ATP/ADP イソペンテニル基転移酵素遺伝子 (*AtIPTs*: *AtIPT1*, *AtIPT3*, *AtIPT4*, *AtIPT5*, *AtIPT6*, *AtIPT7*, *AtIPT8*) の発現パターンを、RT-PCR と、各遺伝子のプロモーター

によるレポーター遺伝子の発現により調べた。その結果、各遺伝子は、それぞれに特徴的な発現パターンを示していることがわかった。これらの遺伝子はサイトカイニン自身により発現抑制され、フィードバック制御が働いていることがわかった。窒素栄養はサイトカイニンの量を増加させ、これが栄養応答に関わっていると考えられている。窒素栄養によるサイトカイニンの増加に、サイトカイニン合成酵素遺伝子の誘導が関与している可能性を調べたところ、*AtIPT3*が硝酸イオンにより誘導されることがわかった。

3. サイトカイニン合成酵素遺伝子破壊株の解析

各サイトカイニン合成酵素の役割を知るため、各遺伝子の破壊株をスクリーニングした。*AtIPT8*は相同組換えにより破壊した。それぞれ一遺伝子の破壊では見かけ上の異常はみられなかった。*AtIPT3*遺伝子は硝酸イオンにより誘導されるが、この破壊株では硝酸イオンによるサイトカイニン誘導遺伝子の発現上昇は抑制されていた。このことは、硝酸イオンによるサイトカイニン量の増加には *AtIPT3* 遺伝子の誘導が一部関わっていることを示している。また、本来の研究計画には含まれていないが、サイトカイニン受容体遺伝子の三重変異体を作成したところ極めて小さな不完全な植物となり、サイトカイニン分解酵素を特定細胞種で強制発現しても細胞分裂が抑制された。このことは、内在のサイトカイニンが実際に重要な役割を果たしていることを示している。

まとめ

植物のサイトカイニン合成の律速酵素 (*AtIPT* 群) とサイトカイニン合成ルートを明らかにした。*AtIPT* 遺伝子群の発現パターンを明らかにし、細胞外環境による調節機構を調べた。これらの遺伝子の破壊株を解析し、*AtIPT3*は硝酸イオン栄養応答に必要であることを示した。今後は *AtIPT* 群が関与しない他の合成ルートはないのか、また、各 *AtIPT* の機能がどのように重複して働いているのかを知る必要があり、多重変異株の解析をさらに進めなくてはならない。また、作物のサイトカイニンの時空的バランスを人間の目的のために最適化できれば農業上のメリットの可能性もある。

論文・総説

1. Miyawaki K, Matsumoto-Kitano, M. and Kakimoto, T. Expression of cytokinin biosynthetic isopentenyltransferase genes in Arabidopsis: tissue specificity and regulation by auxin, cytokinin, and nitrate. *Plant Journal*, in press.
2. Kakimoto T, Identification of Plant Cytokinin Biosynthetic Enzymes as Dimethylallyldiphosphate: ATP/ADP Isopentenyltransferases. *Plant Cell Physiol.*, 42, 677-685 (2001)
3. Inoue T, Higuchi M, Hashimoto Y, Seki M, Kobayashi M, Kato T, Tabata S, Shinozaki K. and Kakimoto T. Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from Arabidopsis. *Nature* 409, 1060 - 1063 (2001)
4. Kakimoto T, Perception and signal transduction of cytokinins. *Annu Rev Plant Biol* 54, 605-627 (2003)
5. Kakimoto T, Biosynthesis of cytokinins. *J. Plant Res.*, 116, 233-239 (2003)
6. 柿本辰男: サイトカイニンの合成と代謝、植物の環境応答と形態形成のクロストーク、岡穆宏ら(編)、シュプリンガーフェアラーク東京、印刷中
7. 岡穆宏、柿本辰男: サイトカイニン応答、同上、印刷中
8. 柿本辰男: サイトカイニンの受容と情報伝達、植物の生長調節 38(1) 48-57 (2003)
9. 柿本辰男: サイトカイニン、別冊蛋白質核酸酵素、植物の形づくり (中村ら編) (2002)
10. 柿本辰男: サイトカイニン、新しい植物ホルモンの科学 (小柴、神谷編)、講談社 (2002)

受賞等

2002年4月 東京テクノフォーラムゴールドメダル賞