【解説】

植物の成長を制御するサイトカイニン情報伝達機構 二成分制御系を中心に

山篠貴史, 水野 猛

サイトカイニンはオーキシンやジベレリンと並んで植物の成長を制御する重要な植物ホルモンである。その発見以来 50 年以上もの研究の歴史があるにもかかわらず、その受容体を含めサイトカイニン応答分子機構は長らく不明であった。しかし、その機構にバクテリア型情報伝達二成分制御系因子が関与していることが明らかになったことで急速な研究の進展が見られた。二成分制御系はリン酸リレー系とも呼ばれ、ヒスチジンキナーゼをセンサーとした「環境シグナル検知→応答」の普遍的機構である。ここでは、シロイヌナズナを用いた研究から明らかになったサイトカイニン情報伝達系やそれを介した成長制御の分子機構に関する最新の知見を、二成分制御系因子の働きを中心に解説する。

分子遺伝学的解析が容易なシロイヌナズナの全ゲノム塩基配列が決定されて以来、長年の懸案だった各種植物ホルモンの受容体が次々と同定された(図 1)。植物はホルモン受容体として多様な機能分子を使っている。ブラシノステロイドなどは植物に特徴的な LRR (ロイシンリッチリピート)-キナーゼ受容体を、オーキシンやジベレリンはタンパク質分解系 SCF (Skp1-Cullin-F-box) 複合体 (ユビキチンリガーゼ E3) のサブユニットを、ま

たアブシジン酸受容体は G タンパク質共役型受容体を用いている。ユニークなのはエチレンとサイトカイニンであり、これら 2 つの植物ホルモンの受容体はバクテリア型情報伝達機構の典型である二成分制御系因子のセンサーキナーゼ分子そのものであることがわかった。本稿では、シロイヌナズナで明らかになったサイトカイニン情報伝達系に関して解説するが、ここではまず二成分制御系の解説から始めよう。

その名が示すように、二成分制御系は基本的に 2 種類の情報伝達因子からなり、それらの因子はヒスチジン(His) キナーゼ (HK) およびレスポンスレギュレーター (RR) と総称される (以下、図 2 参照)⁽¹⁾。一般に、ホモ二量体からなる HK は ATP を基質とした自己リン酸化能を発揮して特定の分子内ヒスチジン残基 (H) をリン酸化する (二量体分子間反応と考えられている)。HK のリン酸基は対になって働く RR 分子のレシーバー領域内にあるアスパラギン酸 (D) に転移され、結果として RR はリン酸化修飾を受けて機能が調節される。多くの種類の HK/RR ペアが存在するが、特異性はきわめて高く、生理的に意味のあるクロストーク (情報の混線) はきわめてまれである。RR は転写調節因子であることが一般的であるが、酵素などの機能分子であることもある。特異的環境シグナルによって HK の自己リン酸化能が調節

Cytokinin Signal Transduction with Special Reference to Two-Component System in Plants
Takafumi YAMASHINO, Takeshi MIZUNO, 名古屋大学大学院生命農学研究科

図1 ■ シロイヌナズナで同定された各種植物ホルモンの受容体

CK: サイトカイニン, BL: ブラシノステロイド, IAA: オーキシン, ABA: アブシジン酸, Ub: ユビキチン

図2 ■ シロイヌナズナにおけるサイトカイニン情報伝達系に関係した二成分制御系因子

されることで、「特定の環境シグナル→センサー HK→リン酸化 RR→特定の環境応答」からなる二成分 (HK/RR) 情報伝達経路が成立する。こうした二成分制御系はリン酸転移反応を基盤としていることから、His-Asp リン酸リレー系とも呼ばれる。また、HK/RR にリン酸リレーを仲介する因子 (Hpt) が加わって、多段階リン酸リレー情報伝達経路を形成している例も多い⁽²⁾。Hpt は His リン酸化部位をもち、レシーバー領域間の Asp→His→Asp リン酸リレーを仲介することができる⁽³⁾。したがって、レシーバー領域を分子内にもつハイブリッド型 HK の支配下では、HK→Hpt→RR 因子間での His→Asp→His→Asp 多段階リン酸リレー情報伝達経路が成立する (図2)。こうしたリン酸リレー情報伝達系 (二成分

分制御系) はきわめて可塑性 (多様性) に富んでおり、原核生物の環境応答系として汎用されている。真核生物で汎用されている受容体型キナーゼを用いたセリン・スレオニン・チロシンのリン酸化カスケードを介した情報伝達系と双璧をなす進化的に普遍的な細胞内情報伝達機構である。

大腸菌には特異性の異なる 30 種類の HK→RR リン酸リレー系が存在して多様な環境応答系に関与している⁽⁴⁾。グラム陰性・陽性細菌、古細菌を問わず、原核生物において二成分制御系は環境応答機構として汎用され、その普遍性と多様性には目を見はるものがある。シアノバクテリアには 40 種、ダイズ根粒菌には 80 種、緑膿菌には 90 種に及ぶ HK 遺伝子が存在する事実は、多様な

環境に臨機応変に適応するために二成分制御系がいかに優れた情報伝達系であるかを示している^(5, 6)。二成分制御系は真核生物にも進化的に保存され、酵母・カビ・細胞性粘菌といった真核微生物で研究が進んでいる⁽⁷⁾。動物では二成分制御系は失われ、線虫のゲノムのどこを探しても HK や RR をコードする類似遺伝子は見あたらないが、植物では様相が一変して、多数の二成分制御系関連遺伝子が見つかる⁽⁸⁾。こうした背景に基づいて、本稿では高等植物の環境応答や高次機能統御における二成分制御系の重要性に焦点をあてて解説する。中でも、目覚しい進展が見られた植物ホルモン・サイトカイニン情報伝達分子機構に焦点をあてる。

高等植物における二成分制御系

今から 20 年ほど前に、原核生物の情報伝達機構としての二成分制御系の基本概念が確立された⁽⁹⁾。間をおかずして 1993 年に、典型的なハイブリッド型 HK をコードする遺伝子がシロイヌナズナに存在することが報告された (図 1 参照)⁽¹⁰⁾。遺伝学的知見から、この HK は植物ホルモンであるエチレンの受容体であると推定された。その後、しばらくは植物の二成分制御系に関する研究に大きな進展が見られなかったが、2000 年になりシロイヌナズナの全ゲノム塩基配列が決定されるに至り、二成分制御系関連因子をコードする遺伝子群の全貌を把握することが可能となった (図 2)^(11~16)。シロイヌナズナには 11 種類の HK が存在する⁽¹⁶⁾。そのうち ETR1 に代表される 5 種類はエチレン受容体として、3 種類 (AHK2, AHK3, AHK4) はサイトカイニン受容体として機能していることがわかっている (AHK4 は CRE1/WOL と呼ばれる)^(17, 18)。残りの 3 種類の HK (AtHK1, CKI1, AHK5) に関しては、植物生理的観点からの知見はあるものの、検知する環境シグナルは確定していない^(19~21)。

エチレン受容体 HK やサイトカイニン受容体 HK が広く植物に普遍的であることは後で考察するが、ここではシロイヌナズナに見いだされた HK の下流で働くと思われる二成分制御系関連因子に関して概観する (図 2)。HPt 因子は 6 種類存在し、そのうちの 5 つにはリン酸化 His 残基が保存されているが、残りの 1 つ (AHP6) では他のアミノ酸への置換が見られる^(22, 23)。下流に位置する RR は多様であり、少なくとも転写が確認された RR 遺伝子は 23 種類ある (統一して ARR と命名されている)^(11, 13)。これら RR は、構造・機能的にタイプ A, B, C の 3 種類に分類できる。タイプ A はレシーバー領域のみからなる小さな RR で、10 種類あるが、重要な特徴

はその発現がサイトカイニン処理した植物において AHKs 依存的に速やかに転写誘導される点である^(24~26)。他の 11 種類はサイトカイニン非誘導性でタイプ B に分類され、N 末端側のレシーバー領域に加えて相同性の高い DNA 結合モチーフ (GARP モチーフ) をもつことから、転写因子として機能していると考えられる^(27~29)。残りの 2 つはタイプ A に似ているが、サイトカイニン誘導性も認められないし、アミノ酸配列も分散している⁽³⁰⁾。これら典型的な RR に加えて、レシーバー類似領域をもつがリン酸化アスパラギン酸 (D) 残基がグルタミン酸 (E) 残基に置換された、植物に特徴的な擬似 RR が 5 種類あり、PRR (擬似 RR) と呼ばれている (図 2)⁽³¹⁾。これら PRR ファミリー因子はリン酸リレーには関わらないと考えられるが、概日時計関連因子として重要な機能を担っている。シロイヌナズナの時計分子機構研究の進展にも目覚しいものがあるが⁽³²⁾、ここでは本稿の目的にそってサイトカイニン情報伝達系に関連するシロイヌナズナ二成分制御因子に焦点を絞って解説する^(33, 34)。

植物ホルモンとしてのサイトカイニン

サイトカイニンは古く 1950 年に発見された細胞分裂を促進する植物ホルモンであり、多くの植物種を対象とした長い生理学的研究の歴史と教科書的知見の蓄積がある⁽³⁵⁾。それらに関しては既存の教科書に委ねることとし、ここでは本稿の理解に必要な最低限の知見をまとめる。

サイトカイニンはオーキシンと協調的・拮抗的に働いて植物細胞の分裂制御やカルスからの根や芽 (シュート) 分化を誘導するホルモンの総称である。したがって、化学構造的には合成品を含め多種類の誘導体が存在するが、天然のサイトカイニンで普遍的なものはゼアチン (zeatin) と命名されているアデニンの 6 位のアミノ基が修飾されたアミノプリン誘導体である。その生合成経路に関しても最近になって詳細な知見が蓄積してきたが、ここでは割愛する (細菌やカビなどで自らサイトカイニンを合成分泌することで植物との相互作用を促進する例もある)⁽³⁶⁾。いずれにしろ、細胞分裂の制御は植物の成長の根幹であり、サイトカイニンは植物の高次機能統御の様々な場面で重要な働きを担っている。植物の成長分化に必須な茎頂分裂組織や根端分裂組織の形成と調節に加えて、現象論的には葉の老化防止⁽³⁷⁾、栄養分の分配調節⁽³⁸⁾、頂芽優勢の解除など、様々な生理機能に関わっていると考えられている (図 3)。本稿では、このような特性をもつサイトカイニンに関して、二成分制御系からの

図 3 ■ 二成分制御系因子を介したサイトカイニン情報伝達機構の概念図とサイトカイニンの生理機能
GA: シベレリン

知見に焦点を絞って最近の知見を解説する。初めに、① サイトカイニン応答情報伝達系の初発分子機構に関し解説し、次いで、② サイトカイニンの生理機能に関して二成分制御系との関連が明らかになってきた例を中心に概観する^(8, 33, 34)。

二成分制御系に関する遺伝学とサイトカイニン応答

筆者らが 2001 年に報告したように、大腸菌で発現した AHK4 がサイトカイニンに応答して大腸菌内在性 Rcs リン酸リレー系を活性化できるという事実や、酵母で発現させて調製した膜局在性 AHK4 が試験管内でイソペンテニルアデニン (IP) を高い親和性で結合し、その結合はゼアチンにより拮抗されるという事実は、AHK4 がサイトカイニン受容体であることを示す直接の証拠である^(39~41)。さらに、図 2 にまとめたシロイヌナズナ二成分制御系因子のうち AHK2/3/4 に加えて⁽¹⁵⁾、6 種の AHP⁽¹⁴⁾、タイプ A およびタイプ B に属する多くの ARR がサイトカイニンに応答した初発情報伝達経路に主要な役割を担っていることを示す遺伝学的証拠が蓄積

している（後述）^(42~47)。AHK2/3/4 は His-キナーゼドメインに加えて、N 末端のサイトカイニン結合ドメインと推定される領域も高い相同性を示す⁽¹⁵⁾。ahk2/3/4 三重欠損株が分離解析されているが、極端な矮小化と不稔性を示すことから、二成分制御系に依存したサイトカイニン情報伝達系の植物成長にとっての重要性は明らかである^(42, 43, 45)。また、この変異株ではカルスからのサイトカイニン誘導性シュート形成能、サイトカイニンによる根の伸長阻害、タイプ A-ARR の転写誘導のいずれにおいても、サイトカイニン応答性が低下することからも、この結論は裏付けられる。各 ahk 二重欠損株は中間の表現型を示すことから、AHK2/3/4 は一部の機能が重複していると考えられる^(42, 43)。類似した表現型（生育阻害とサイトカイニン非感受性）は ahp1/2/3/5 四重変異株⁽⁴⁸⁾、タイプ B-arr1/10/12 三重変異株でも観察されることから⁽⁴⁷⁾、サイトカイニン応答リン酸リレー系の主要経路は、「サイトカイニン受容体 AHK2/3/4 → AHP1/2/3/5 → ARR1/10/12 → (タイプ A-ARR 遺伝子を含む) 転写誘導」と推定される。逆に、タイプ A-arr3/4/5/6/8/9 多重変異株はサイトカイニン超感受性を示すことから、タ

イプ A-ARR はリン酸リレー系の負のフィードバック因子として機能していると推定される^(44, 49)。この考えは、ARR7, ARR15 や ARR22 などの過剰発現形質転換植物がサイトカイニン非感受性の傾向を示すことから支持されている^(30, 50, 51)。

補足すれば、11 種類あるタイプ B-ARR 遺伝子はそれぞれに発現時期や組織特異性が高いことが知られている^(28, 29)。*arr1*, *arr10*, *arr12* の各単独欠損変異株以外のタイプ B-*arr* 変異株では際だった表現型が観察されないこと、これら ARR 遺伝子の過剰発現形質転換植物ではそれぞれに特徴的な表現型が認められることを考えると、ARR1/10/12 以外の ARR は器官や組織特異的な局所的サイトカイニン応答に関与していると想像される^(28, 29)。したがって、図 3 で概観するサイトカイニン初発情報伝達機構のスキームはシロイヌナズナの生育段階、器官、組織の特異性を無視したやや強引な一般化であり、今後は時・空間的条件を考慮したサイトカイニン応答性リン酸リレー系の体系的理解が必要となってくることは論をまたない⁽⁴⁷⁾。

サイトカイニン情報伝達系の分子機構

以上を前提に、図 3 を参考にしながらサイトカイニン応答リン酸リレー情報伝達系の機構をまとめる。ある組織でサイトカイニン濃度が上昇すると、サイトカイニンは AHK2/3/4 の N 末端側にある細胞外ドメインに結合する。サイトカイニン結合に誘起された AHK2/3/4 の構造変化に伴い、細胞質側の His-キナーゼドメインが活性化され特定の His 残基で自己リン酸化が起こる⁽⁵²⁾。次いで、リン酸基は AHK2/3/4 分子内のレシーバードメインを経由した His→Asp→His のリン酸リレーを介して AHPs に受け渡される。リン酸化型 AHPs は核内へと移行してタイプ B-ARR のレシーバーにリン酸基を転移する^(23, 53~55)。リン酸化型タイプ B-ARR は活性型となり、特異的 DNA 配列への結合能が上昇して標的遺伝子の転写を制御する^(27, 56)。下流標的遺伝子の代表としてタイプ A-ARR 遺伝子があり、その転写がサイトカイニンに応答して速やかに誘導される^(24, 25)。こうして新規に合成されたタイプ A-ARR タンパク質はリン酸化 AHP の基質となり、リン酸化されるが、この反応はタイプ B-ARR へのリン酸転移と拮抗したフィードバック阻害機構として働き、サイトカイニン応答情報伝達系が沈静化する⁽⁴⁴⁾。タイプ A-ARR 以外の標的遺伝子は一連のマイクロアレイ解析により数多く推定されている^(57~59)。しかし、これら標的遺伝子のサイトカイニン応答と関連し

た機能解析は一部を除いてあまり進んでいない^(60~62)。いずれにしろ、これら遺伝子の発現調節を介した時・空間的に制御されたサイトカイニン応答が起こり、結果として図 3 内の表に掲げたような一連のサイトカイニン依存性機能統御が起こると考えられる。

以上のスキームに幾つか補足する点がある。

①先に述べたタイプ A-ARR はサイトカイニン情報伝達の負の制御因子として機能する以外にも、特定の生理機能を直接的に調節するサイトカイニン応答性分子スイッチとして働いている可能性も考えられている（分子スイッチ RR の例として大腸菌の走化性を制御している CheY が有名である）⁽⁴⁹⁾。

②PRR（擬似 RR）へのリン酸リレーは確認されていないので、PRR の時計機能はサイトカイニン情報伝達とは独立していると考えられる。しかし、「タイプ A-ARR が葉の上下運動の概日リズムの調節に関与する」⁽⁶³⁾、あるいは「サイトカイニン処理により時計中心振動体機能に影響を与える」といった報告もあり⁽⁶⁴⁾、PRR の機能とリン酸リレー系との関連の解析は今後の課題である（後述）。

③歴史的には最初にサイトカイニン受容体の候補として注目をあびた HK である CKI1 はこのスキームに直接登場してこない⁽²⁰⁾。一つの説明としては、CKI1 過剰発現形質転換植物ではリン酸転移の人工的混線が起こることによってサイトカイニン非依存性に HPt がリン酸化され、カルスからのシュート形成がひき起こされたことが考えられる。しかし、CKI1 がサイトカイニン情報伝達系と生理的にリンクしている可能性は否定できない（*ckil* 欠損株は雄性配偶体形成に欠損があって扱い難く解析を困難にしている）^(65~67)。同様なリン酸リレー混線現象は AHK5 (CKI2) 過剰発現体でも認められる（図 3 の左下に注目）。*ahk5* 欠損株ではサイトカイニン応答関連の表現型は認められず、興味深いことに ABA やエチレン処理による根の伸長抑制現象に強く関わっていることが明らかになっている。*ahk5* 変異株の根は ETR1 依存的にエチレン高感受性になり、エチレン受容体 HK である ETR1 とリンクがあるかも知れない⁽²¹⁾。残されたもう一つの HK である AtHK1 については、ABAなどを介した浸透圧や乾燥ストレス応答系において AHK2/3/4 の働きと関連しているという報告もあり、今後の研究が待たれる⁽⁶⁸⁾。

植物の成長分化とサイトカイニン情報伝達系

1. 茎頂分裂組織の形成と維持

サイトカイニンの発見の経緯から考えて、その作用点の根幹は細胞分裂過程にあることは容易に想像できるが、サイトカイニン作用と細胞分裂の関係に関して分子レベルの知見が得られるようになったのは最近のことである⁽⁶⁹⁾。植物には基本的には無限に分裂する未分化細胞(始原細胞)からなる2つの成長点(茎頂分裂組織と根端分裂組織)がある。最近の知見から、分裂組織の形成・維持・分化の制御に二成分制御系を介したサイトカイニン作用が重要であること、その作用はオーキシンの作用と巧妙に連動していることを示す知見が蓄積しつつある(図4)。

図4-B中央の切片像に示したように、シロイヌナズナの茎の先端にドーム状の構造がある。茎頂分裂組織(SAM)といって未分化細胞(一種の幹細胞)が分裂能を維持し、葉などへ分化する始原細胞を供給し続ける。この茎頂分裂組織の形成・維持にサイトカイニンが深く関わっている。そのスキームを簡単にまとめると次のようになる(図4-A)。サイトカイニンは茎頂分裂組織維持に関わるクラス1KNOXファミリー遺伝子(*STM*など)の発現を促進し^(70, 71)、一方*STM*はサイトカイニン合成酵素(IPTs)の生産を促すことで正のフィードバック機構が働いて茎頂分裂組織領域の維持がなされる⁽⁷²⁾。加えて、この系にはサイトカイニン誘導性のタイプA-ARR

による負のフィードバック機構も働いていると考えられる⁽⁴⁴⁾。また、茎頂分裂組織維持に必要なWUS→CLV制御系からはWUSがタイプA-ARRの発現を抑制することで間接的にサイトカイニン→STM制御系に正的作用をしていると考えられる⁽⁷³⁾。こうした細胞分裂に対するアクセルとブレーキのバランスにより茎頂分裂組織領域が決定される。サイトカイニンには細胞の分化を促すホルモン・ジベレリン(GA)の分解を促進する作用があることも報告されている⁽⁷¹⁾。一方、茎頂分裂組織の周辺領域からは葉の原基が分化するが、ここでサイトカイニンの作用に拮抗して分化を促すのがオーキシンである(ジベレリンも協調的に働く)(図4-D)。こうして、サイトカイニンとオーキシンの作用のバランスが巧妙な正負のフィードバック調節回路を介して茎頂分裂組織の形成・維持・分化を制御していると考えられる。同様な調節機構は花芽分裂組織の形成・維持・分化にも関与しているかも知れない。

いずれにしろ、以上のスキームはきわめて大まかであり、さらに詳細に解析・検証する必要がある。しかし、図4に示したようにタイプB-*arr1/10/12*三重変異株の茎頂分裂組織領域がきわめて矮小化していることから、サイトカイニン情報伝達系の重要性がわかる(図4-C)⁽⁴⁷⁾。同様の表現型はサイトカイニン受容体*ahk2/3/4*三重変異株でも認められる⁽⁴²⁾。これに関連して、*arr1/10/12*や*ahk2/3/4*三重変異株の地上部の成長はきわめて遅延する(図4-E)。逆に、タイプB-ARR1, ARR11や

図4 ■ 茎頂分裂組織形成におけるサイトカイニン情報伝達系の役割

ARR14 の過剰発現体では茎頂分裂組織活性の促進をうかがわせる表現型が見られ、極端な場合には子葉や本葉のカルス化が見られる^(28, 56, 74)。また、タイプ A-ARR 遺伝子の多重欠損変異体 (*arr3/4/5/6/8/9* など) では分裂組織からの葉原基分化のパターン形成に異常があり、これらの ARR が茎頂分裂組織維持に負に作用しているという考えと一致している^(44, 49)。このように、二成分制御因子が茎頂分裂組織の形成・維持に重要な働きをしている分子レベルの証拠が揃いつつある。

2. 根端分裂組織の形成と維持

地上部と同様に、植物における根の分化も複雑である。ここにもサイトカニンとオーキシンの協調的・拮抗的働きが重要であり、二成分制御因子の関与も明らかにされつつある。根の根端分裂領域 (RM ニッチ) には静止中心と呼ばれる細胞があり、幹細胞としての性質を備えた始原細胞を生み続ける (図 5-B, C の赤い細胞)。静止中心から非対称な縦層分裂により上方に向かって生み出される始原細胞は根端分裂組織を形成し (図 5-B, C の縦長の各種細胞)、これらの細胞は根の上部においては様々な細胞に分化する。この構造形成は種子形成、すなわち胚形成の段階で起こる。最近、これと関連して、胚発生の過程でサイトカニン情報伝達の細胞特異的な制御が重要であるとの報告がなされた⁽⁷⁵⁾。胚発生において主根の原基が形成されるが、この過程で静止中心とそ

の下部に位置する基盤細胞の非対称な分化がオーキシンとサイトカニン情報伝達の相互作用で引き起こされるというモデルが提唱された。基盤細胞ではオーキシン情報伝達系が優勢で、主に ARR7/15 の負の働きによりサイトカニン情報伝達系が劣勢になり、細胞分裂が阻害される。一方、静止中心になる細胞ではサイトカニン情報伝達系が促進され、始原細胞の活発な分裂が起こると考えられる。したがって、*arr7/15* の変異株ではこれらの過程が正常に進行しない⁽⁷⁵⁾。

胚発生の過程での異常と関連していると思われるが、発芽後の実生の主根を観察すると、*ahk2/3/4* や *arr1/10/12* 三重変異株では野生株に比べ根端分裂組織領域が退縮していることがわかる (図 5-C)^(42, 43, 47)。加えて、これらのサイトカニン情報伝達欠損株の主根の発達は生育の早い段階で止まってしまい、その後の成長は主に胚軸から形成される不定根により支えられる (図 5-A)。また興味深い報告として、*ahk3* や *arr12* 変異株など部分的にサイトカニン情報伝達系が低下したと思われる単独変異株では、実生の主根の長さが野生株より長くなる傾向がある⁽⁷⁶⁾。根端分裂組織を調べると、変異株のほうが分裂細胞の数が多いことがわかった。これなども、サイトカニン情報伝達系とオーキシン情報伝達系との拮抗により「分裂→分化のバランス」が決定されるという一般的概念と一致する現象である。

図 5 ■ 根端分裂組織形成と維管束分化におけるサイトカニン情報伝達系の役割

(B, C) 分裂細胞の DNA を DAPI で染色した。 (E, F, G, H) Px: 原生木部, Mx: 後生木部, PC: 前形成層

3. 根の維管束分化の制御

根の上部では根端分裂組織にある始原細胞からの分化が起こり、表皮、皮層、内皮、維管束が円柱状に配置されて構造が形成される (図 5-G, H). このうちの維管束の分化にサイトカニン情報伝達系が重要であるという知見が蓄積しつつある^(47, 77). 維管束では師管に加え、原生木部 (Px) および後生木部 (Mx) からなる導管が分化する. これら木部は前形成層細胞 (PC) より分化するが、この過程がサイトカニンにより抑制されていると考えられる. この考えは、サイトカニン情報伝達欠損株 (*ahk2/3/4* や *arr1/10/12* 三重変異株) ではその抑制が失われ、前形成層細胞がもっぱら原生木部に分化してしまうため、これら変異株の維管束領域は原生木部ばかりになってしまうという表現型の観察から導かれた (図 5-F, 右側の変異株では後生木部も見られない)^(47, 77). 変異株の維管束領域が狭いのは、先に述べた胚発生時の主根原基形成における始原細胞分裂異常による前形成層細胞数の不足が原因と考えられる (これらの表現型は、もともとは *ahk4* の負の優勢変異である *wol* 変異株において最初に報告された)⁽⁷⁸⁾. また、擬似 AHP 因子 (AHP 6) が負のフィードバック因子として関わっていることも報告されている (図 5-D)⁽⁷⁷⁾.

このように、胚形成時における根端静止中心の確立、発芽後の主根分裂組織の維持、根の発達に伴う維管束の分化など、様々な場面に二成分制御因子が関わっていることが明らかになりつつある.

4. その他の生理現象とサイトカニン情報伝達系

サイトカニン応答二成分制御系遺伝子の各種の変異株が利用可能になり、以前から知られていたサイトカイニンの生理作用との関連でこれらの変異株が解析されるようになった. それらの遺伝学的解析結果は複雑であり、ここで詳細に解説するとかえって誤解を招くおそれがあるので、簡潔に数例を紹介する.

①以前からサイトカニンが葉の黄化 (セネセンス) を抑制する現象が知られていた (切り取り葉を暗所で保存すると黄化が促進されるが、サイトカニン処理により遅延する). *ahk3* の変異株ではこのサイトカイニンの効果が低下すること、逆にタイプ B-ARR2 の過剰発現形質転換植物では黄化が遅延することから、AHK3→ARR2 経路が葉のセネセンス制御に関わっているというモデルが提唱されている⁽⁷⁹⁾.

②以前からサイトカニンが光形態形成に影響するという報告があった. これと関連して、タイプ A-ARR4 は赤色光受容体フィトクロム B (PHYB) と直接相互作用

して胚軸伸長の制御に関わっているという報告がある⁽⁸⁰⁾. しかし、*ahk* 変異株やタイプ B-*arr* 変異株では関連した明確な表現型が観察されないことから、PHYB→ARR4 の光形態形成への作用はサイトカニン非依存性の現象かも知れない.

③またこれと関連して、先に紹介した時計関連因子擬似 RR (PRR) とも関連した興味ある報告がある. シロイヌナズナをサイトカニン処理した条件下で概日リズムを観察すると位相の遅れが観察された⁽⁶⁴⁾. 遺伝学的解析から、この現象は PHYB→ARR4 経路に依存していることも示唆されている. さらに、タイプ A-*arr* の各種の多重変異株では概日リズムの周期や位相に影響が現われ、その表現型は用いる *arr* 変異のコンビネーションによって複雑に変化するという報告がある⁽⁶³⁾. その要点として、一連のタイプ A-ARR3/4/5/6/8/9 がサイトカニン依存性的および非依存性的経路で概日リズム調節に関与していると主張されている. ARR9 の発現が概日リズムを刻んでいるという最近の報告は、この現象と関連があるかも知れない⁽⁸¹⁾.

いずれにしろ、ここで紹介したサイトカニンがらみの各種生理現象は興味深い、それらへの二成分制御因子の関わりに関してはさらに詳細な解析が必要と考えられる.

サイトカニン情報伝達系の進化と普遍性・多様性

ここまで、シロイヌナズナを対象とした二成分制御系研究から明らかにされてきたサイトカニン応答情報伝達分子機構に関して解説してきた. これらの知見が植物にどれくらい普遍的であるかは進化の観点からも興味深い. 現在では多くの植物種のゲノム塩基配列が解読されているので、クラミドモナス、ヒメツリガネゴケ、イネ、ミヤコグサ、ブドウ、ポプラなどのゲノム配列を見てみると、単細胞緑藻クラミドモナスは別として、4 億 5 千万年前に陸上に進出しようとしたヒメツリガネゴケにはすでにサイトカニン受容体 HK をコードする遺伝子が存在する (図 6). 顕花植物間での HK やその他の二成分制御系遺伝子 (HPt や RR) の保存性はきわめて高い. したがって、解説したシロイヌナズナにおける二成分制御系を介したサイトカニン情報伝達機構の普遍性は高いと考えられる.

しかし、他の植物種で二成分制御系因子に関連する解析が進んでいる例はイネやトウモロコシを別にして意外に少ない^(82~86). ここでは、サイトカニン応答と関連した 2 つの興味深い例を取り上げて簡単に紹介する. 一つ

図6 ■ サイトカイニン受容体 His キナーゼの進化を示す系統樹

図7 ■ シロイヌナズナ以外の植物におけるサイトカイニン応答二成分制御因子の機能

は、イネの穂の分岐と穀粒形成に関する最近の研究である⁽⁸⁷⁾。イネにおけるこれらの形質は品種間で大きな差があるが(図7-A)、これと連鎖する QTL (量的形質遺伝子座: quantitative trait locus) が「日本晴れ×ハバタキ」で解析された。その結果として、強い QTL が *OsCKX2* 遺伝子に絞り込まれた。*OsCKX2* はサイトカイニン分解に関わる酵素であり、ハバタキ型 QTL をもつと穂におけるサイトカイニン含量が上昇していること、それと関連して穀粒数が顕著に増加することが確かめられた。一方で、イネやトウモロコシの RR 遺伝子群を含む二成分制御系に関する解析がある程度進められているが⁽⁸⁶⁾、そのうちの一つであるタイプ A-*OsRR6* を過剰発現したイネ形質転換体では一般的な分裂組織活性の低下とともに穀粒数にも顕著な減少が認められた⁽⁸⁸⁾。また、トウモロコシのタイプ A-RR 変異では茎頂分裂組織活性の昂進と思われる形態異常を示すことが報告されている^(89, 90)。これらのことを一般化すれば、単子葉植物においてもサイトカイニン情報伝達系が茎頂点分裂組織および花芽分裂組織の形成維持に重要な働きをしていることを示唆している^(91, 92)。これらの知見などは応用研究にも直結するこの分野の重要な成果といえる。

同様に応用的観点から興味深い知見が、マメ科植物のモデルであるミヤコグサに関して報告されている。一般に、マメ科植物に根粒菌が感染すると根粒と呼ばれる構造が形成され、内部に根粒菌が共生して窒素固定を行なうことはよく知られている(図7-B)。根粒は根に感染した菌が生産する Nod 因子により植物側での情報伝達系が惹起されることで形成される。この過程の分子機構は

比較的よく理解されているが、最近になり根粒菌 (Nod 因子) 非依存的に根粒を形成するミヤコグサの変異株が分離・解析された^(93, 94)。その原因遺伝子が特定され、ミヤコグサのサイトカイニン受容体 HK (LHK1) 遺伝子に変異してサイトカイニン非依存的に活性化されていることが示された。このことは、Nod 因子非依存的根粒形成という表現型とよく合致し、根粒形成情報伝達の途中にサイトカイニン応答性二成分制御系が介在していることを強く示唆している⁽⁹⁵⁾。また、細胞分裂を伴う根粒形成過程を考えると、サイトカイニンの一般的な作用ともよく一致する。

これらの例から言えることは、二成分制御系因子を介したサイトカイニン受容と初発の情報伝達基本機構は各種植物種間で高く保存されるが、その下流の出力機構に関しては種間の特徴の違いに応じてオプション化が進んでいることがわかる。このことは、シロイヌナズナのサイトカイニン情報伝達の初発分子機構が確立された今こそ、有用植物を含む多様な植物種において個々の植物に特異的なサイトカイニン生理作用の解析を開始する絶好の機会が整ったことを示している。その意味で、本稿で解説した内容が多くの植物研究者の知識基盤として役立つことを願っている。

謝辞：本研究をまとめるにあたり、文部科学省からの各種の科学研究補助金援助を受けた事実とともに、本研究が名古屋大学生命農学研究科・生命理科学研究科が推進するグローバル COE プロジェクトの一端であることを明記して感謝する。

文献

- 1) T. Mizuno : *J. Biochem.*, **123**, 555 (1998).
- 2) K. Ishige *et al.* : *EMBO J.*, **13**, 5195 (1994).
- 3) A. Matsushika & T. Mizuno : *J. Bacteriol.*, **180**, 3973 (1998).
- 4) T. Mizuno : *DNA Res.*, **4**, 161 (1997).
- 5) T. Mizuno, T. Kaneko & S. Tabata : *DNA Res.*, **3**, 407 (1996).
- 6) D. Hagiwara, T. Yamashino & T. Mizuno : *DNA Res.*, **11**, 57 (2004).
- 7) N. Nakamichi *et al.* : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 2663 (2002).
- 8) T. Mizuno : *Curr. Opin. Plant Biol.*, **7**, 499 (2004).
- 9) T. Mizuno & S. Mizushima : *Mol. Microbiol.*, **4**, 1077 (1990).
- 10) C. Chang *et al.* : *Science*, **262**, 539 (1993).
- 11) A. Imamura *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 2691 (1998).
- 12) T. Suzuki *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **39**, 1258 (1998).
- 13) A. Imamura *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **40**, 733 (1999).
- 14) T. Suzuki *et al.* : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 2486 (2000).
- 15) C. Ueguchi *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **42**, 231 (2001).
- 16) G. E. Schaller *et al.* : *Plant Physiol.*, **143**, 555 (2007).
- 17) T. Inoue *et al.* : *Nature*, **409**, 1060 (2001).
- 18) C. Ueguchi *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **42**, 751 (2001).
- 19) T. Urao *et al.* : *Plant Cell*, **11**, 1743 (1999).
- 20) T. Kakimoto : *Science*, **74**, 982 (1996).
- 21) A. Iwama *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **48**, 375 (2007).
- 22) T. Suzuki *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **43**, 123 (2002).
- 23) Y. Tanaka *et al.* : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**, 462 (2004).
- 24) I. Brandstatter & J. J. Kieber : *Plant Cell*, **10**, 1009 (1998).
- 25) M. Taniguchi *et al.* : *FEBS Lett.*, **429**, 259 (1998).
- 26) T. Kiba, H. Yamada & T. Mizuno : *Plant Cell Physiol.*, **43**, 1059 (2002).
- 27) K. Hosoda *et al.* : *Plant Cell*, **14**, 2015 (2002).
- 28) Y. Tajima *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **45**, 28 (2004).
- 29) M. G. Mason *et al.* : *Plant Cell*, **17**, 3007 (2005).
- 30) T. Kiba *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **45**, 1063 (2004).
- 31) T. Mizuno & N. Nakamichi : *Plant Cell Physiol.*, **46**, 677 (2005).
- 32) C. R. McClung : *Plant Cell*, **18**, 792 (2006).
- 33) T. Mizuno : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 2263 (2005).
- 34) J. P. To & J. J. Kieber : *Trends Plant Sci.*, **13**, 85 (2008).
- 35) D. W. Mok & M. C. Mok : *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **52**, 89 (2001).
- 36) H. Sakakibara : *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 431 (2006).
- 37) S. Gan & R. M. Amasino : *Science*, **270**, 1986 (1995).
- 38) H. Sakakibara, K. Takei & N. Hirose : *Trends Plant Sci.*, **11**, 440 (2006).
- 39) T. Suzuki *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **42**, 107 (2001).
- 40) H. Yamada *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **42**, 1017 (2001).
- 41) L. Spíchal *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **45**, 1299 (2004).
- 42) M. Higuchi *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 8821 (2004).
- 43) C. Nishimura *et al.* : *Plant Cell*, **16**, 1365 (2004).
- 44) J. P. To *et al.* : *Plant Cell*, **16**, 658 (2004).
- 45) M. Riefler *et al.* : *Plant Cell*, **18**, 40 (2006).
- 46) A. Yokoyama *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **48**, 84 (2007).
- 47) K. Ishida *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **49**, 47 (2008).
- 48) C. E. Hutchison *et al.* : *Plant Cell*, **18**, 3073 (2006).
- 49) J. P. To *et al.* : *Plant Cell*, **19**, 3901 (2007).
- 50) T. Kiba *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **44**, 868 (2003).
- 51) D. J. Lee *et al.* : *Mol. Genet. Genomics*, **277**, 115 (2007).
- 52) K. Miwa *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **48**, 1809 (2007).
- 53) I. Hwang & J. Sheen : *Nature*, **413**, 383 (2001).
- 54) A. Imamura, Y. Yoshino & T. Mizuno : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 2113 (2001).
- 55) H. Yamada *et al.* : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**, 1966 (2004).
- 56) H. Sakai *et al.* : *Science*, **294**, 1519 (2001).
- 57) A. M. Rashotte *et al.* : *Plant Physiol.*, **132**, 1998 (2003).
- 58) T. Kiba *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **46**, 339 (2005).
- 59) H. Goda *et al.* : *Plant J.*, **65**, 526 (2008).
- 60) A. M. Rashotte *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 11081 (2006).
- 61) T. Naito *et al.* : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 1269 (2007).
- 62) T. Naito *et al.* : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 1557 (2007).
- 63) P. A. Salomé *et al.* : *Plant Cell*, **18**, 55 (2005).
- 64) S. Hanano *et al.* : *Genes Cells*, **11**, 1381 (2006).
- 65) M. S. Pischke *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 1580 (2002).
- 66) J. Hejálto *et al.* : *Mol. Genet. Genomics*, **269**, 443 (2003).
- 67) B. J. Glover *et al.* : *J. Plant Physiol.*, **165**, 251 (2008).
- 68) L. S. Tran *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 20623 (2007).

- (2007).
- 69) E. Shani, O. Yanai & N. Ori : *Curr. Opin. Plant Biol.*, **9**, 484 (2006).
 - 70) H. M. Rupp *et al.* : *Plant J.*, **18**, 557 (1999).
 - 71) S. Jasinski *et al.* : *Curr. Biol.*, **15**, 1560 (2005).
 - 72) O. Yanai *et al.* : *Curr. Biol.*, **15**, 1566 (2005).
 - 73) A. Leibfried *et al.* : *Nature*, **438**, 1172 (2005).
 - 74) A. Imamura *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **44**, 122 (2003).
 - 75) B. Müller & J. Sheen : *Nature*, **453**, 1094 (2008).
 - 76) I. R. Dello *et al.* : *Curr. Biol.*, **17**, 678 (2007).
 - 77) A. P. Mähönen *et al.* : *Science*, **311**, 94 (2006).
 - 78) A. P. Mähönen *et al.* : *Genes Dev.*, **14**, 2938 (2000).
 - 79) H. J. Kim *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 814 (2006).
 - 80) U. Sweere *et al.* : *Science*, **294**, 1108 (2001).
 - 81) K. Ishida, T. Yamashino & T. Mizuno : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 2687 (2008).
 - 82) Y. Asakura *et al.* : *Plant Mol. Biol.*, **52**, 331 (2003).
 - 83) K. Yonekura-Sakakibara *et al.* : *Plant Physiol.*, **134**, 1654 (2004).
 - 84) M. Jain, A. K. Tyagi & J. P. Khurana : *BMC Plant Biol.*, **6**, 1 (2006).
 - 85) A. Pareek *et al.* : *Plant Physiol.*, **142**, 380 (2006).
 - 86) L. Du *et al.* : *Genomics*, **89**, 697 (2007).
 - 87) M. Ashikari *et al.* : *Science*, **309**, 741 (2005).
 - 88) N. Hirose *et al.* : *Plant Cell Physiol.*, **48**, 523 (2007).
 - 89) D. Jackson & S. Hake : *Development*, **126**, 315 (1999).
 - 90) A. Giulini, J. Wang & D. Jackson : *Nature*, **430**, 1031 (2004).
 - 91) T. Kurakawa *et al.* : *Nature*, **445**, 652 (2007).
 - 92) T. Sakamoto *et al.* : *Plant Physiol.*, **142**, 54 (2006).
 - 93) J. D. Murray *et al.* : *Science*, **315**, 101 (2007).
 - 94) L. Tirichine *et al.* : *Science*, **315**, 104 (2007).
 - 95) G. E. Oldroyd : *Science*, **315**, 52 (2007).