

植物ホルモン、サイトカイニンの生物学と 関連遺伝子の利用可能性



研究ノート

柿本辰男*

Biology of cytokinins and possible agricultural applications of cytokinin-related genes

Key Words : cytokinin, biosynthesis, perception, cambium

1. はじめに

植物ホルモンには、オーキシン、サイトカイニン、ジベレリン、アブシジン酸、エチレン、ブラシノステロイド、ジャスモン酸、そして最近発見されたストリゴラクトンがあります。オーキシンとサイトカイニンは細胞の分裂と分化を制御できる分子、ジベレリンは発芽制御や背丈の調節を行う分子、アブシジン酸は乾燥に直面した植物がそれに応答するための生体内シグナル分子、ジャスモン酸は葉が虫にかじられた時に全身防御システムを働かせるためのシグナル、ストリゴラクトンは枝分かれの制御分子です。これらの合成や情報伝達の仕組みの理解は21世紀に入って格段に進みました。私達は幸運な事に、サイトカイニンの合成機構や輸送、受容、伝達機構、またこれまでに知られていなかったサイトカイニンの役割について様々な発見をすることができました。ここではこれらを中心に概説しますが、社会との関連についても述べたいと思います。

2. サイトカイニンの合成と受容、情報伝達

植物では基本的にどのような器官からでも未分化細胞を容易に作り出すことができます。植物の組織片を高濃度のオーキシンとサイトカイニンを含む培地に置くだけでよいのです。こうして出来た未分化細胞塊をカルスと呼びます。カルスをオーキシンだ

けを含む培地に置くと根が形成され、サイトカイニンだけが入った培地に置くと芽が形成されます。これらの過程は、未分化な細胞の無秩序な集まりからの組織化の過程です。このようなことから、これらの過程を理解することができれば、形態形成の重要な原理に近づけるという気がして、15年ほど前にこれらの過程の研究をしてみようと思いました。

研究を始めた当時、モデル植物であるシロイヌナズナの突然変異体を用いる研究が急速に進展しはじめていました。そこで、組織培養系において、オーキシンやサイトカイニンによる脱分化や組織形成能が変化した変異体をスクリーニングし、サイトカイニンに対する応答が低下している変異体を分離しました。その原因遺伝子を同定したところ、細胞膜を貫通したヒスチジンキナーゼと呼ばれるクラスのタンパク質をコードする遺伝子が破壊されていることが判り、この遺伝子を *CRE1* (*CYTOKININ RESPONSE 1*) と名付けました。ヒスチジンキナーゼは、多くの場合センサーとして働きますので、*CRE1* はサイトカイニンの受容体ではないかと考えました。酵母にもヒスチジンキナーゼが一つありますが、これは浸透圧のセンサーです。酵母の浸透圧センサー遺伝子を破壊すると酵母は生きて行けませんが、この破壊株に *CRE1* を導入したところ、サイトカイニンが存在する時のみ生存することができる酵母が出来ました。サイトカイニンに依存して、通常は酵母の浸透圧受容体の下流である因子に情報を流したのです。これがサイトカイニン受容体の初めての証明となりました (1)。その後、私達や別のグループによる研究により、サイトカイニン依存的にリン酸基の転移リレーが起き、最終的に転写因子であるタイプ ARR タンパク質がリン酸化されると一群のサイトカイニン応答遺伝子が活性化されることがわかってきました (2)。



* Tatsuo KAKIMOTO

1961年3月生
大阪大学大学院理学研究科生理学専攻
退学 (1987年)
現在、大阪大学大学院理学研究科 教授、
理学博士、植物生理学、植物形態形成学
TEL : 06-6850-5421
FAX : 06-6850-5421
E-mail : kakimoto@bio.sci.osaka-u.ac.jp

3. サイトカイニン合成酵素

長くの間、サイトカイニンはAMPのイソペンテニル化により合成されると想像され、多くの研究者がその酵素の同定に挑んでいました。私はサイトカイニン合成の最初のステップを担うイソペンテニル基転移酵素を見だし、2001年に発表しました。これをコードする遺伝子は、植物に導入して過剰に発現させるとあたかもサイトカイニンを与えたかのようになります。また、大腸菌で作らせた組換えタンパク質は、未精製であれば、試験管内であたかもAMPをイソペンテニル化するような活性を示します。しかし、完全に精製するとその活性は全くありません。じっくり考えて、本当はATPとADPがイソペンテニル化される反応がサイトカイニン合成の最初のステップである事を見だしました(3)。シロイヌナズナにはサイトカイニン合成酵素遺伝子が7つ存在します。研究室のメンバーは、これらの遺伝子が複数破壊されたシロイヌナズナを作成しました。大変労力のかかる仕事です。遺伝子、あるいはそれが関与する酵素反応などが実際の植物体内で大切なものであるのかどうかは、その遺伝子機能を抑制することでのみ証明できるので、多重破壊株の作成は大切な仕事です。これにより、ATP/ADPイソペンテニル基転移酵素がサイトカイニンの合成に必須であることが証明できたのです(4)。

ATP/ADPイソペンテニル基転移酵素遺伝子群の多重変異体で、さらに色々なことがわかってきました。まず、突然変異体と野生型を接ぎ木することにより、機能するために十分な量のサイトカイニンが実際に移動していることが証明できました。もう一つの意外な発見は、サイトカイニンの量の低下は根端の分裂組織の活性低下を導かずに形成層の細胞増殖と肥大成長を極端に阻害することでした(5)。形成層とは、植物の茎や根が肥厚する際の増殖組織です。樹木がどんどん太くなってバイオマスを増大させるのは、形成層で細胞が増殖するからです。サイトカイニンが形成層の活性の重要な調節因子であることがわかったので、自然界での環境変化に応じた肥厚調節もサイトカイニン量の変化を介したものであるのかどうかは今後の重要な課題です。

4. サイトカイニンと穀物生産の関わり

名古屋大学の芦刈と松岡らを含むグループは、収

量の高いイネと、あまり収量は高くないコシヒカリのゲノムを丹念に調べ、収量の高いイネではサイトカイニン分解酵素をコードする遺伝子の一つが破壊され、サイトカイニン量が増加している事を突き止めました(6)。このことは、他の穀物でも、サイトカイニン分解酵素を抑制する、あるいはサイトカイニンの合成酵素遺伝子や情報伝達系遺伝子の発現を上昇させても穀物の収量が上がることが期待出来ることを示しています。

また、多くの植物は、自然界で、その植物の最大速度で成長しているわけではありません。もっと早く成長するポテンシャルはあってもそうしないことが生存に有利なのです。しかし、これは太古からの環境条件では絶滅しにくい戦略であっただけであって、畑や人工林の条件は全く違います。例えば、サイトカイニン量を人工的に操作して樹木などの肥厚成長を促進できるかもしれません。

5. 遺伝子操作による食料増産やバイオマス増大の可能性

現在は、地球全体の人口増加に歯止めがかからず食料危機に直面しています。また、化石燃料の埋蔵量に限界が近づいている事も大きな危機です。食料増産や再生可能エネルギー源としてのバイオマス増大は大変大きな課題なのです。もちろん、これまでも古典的な品種改良は遺伝子の改変を伴う突然変異や、すでに存在していた品種間の遺伝子配列の違いを利用して大きな収量の増加が達成されてきました。現在では植物ホルモンの合成、分解、受容、情報伝達を担う遺伝子など、成長を制御する遺伝子も随分わかってきました。つまり、どの遺伝子を変化させればそれぞれのホルモンの量や応答をどう変化させることができるのかが予測できるようになったのです。遺伝子操作は、偶然の遺伝子の変化を待つ突然変異体の作出と違って、自由に遺伝子配列を改変できる上、種の壁を超えて遺伝子を導入できるので、効率的な品種の改変ができます。植物科学の基礎研究の発展が地球規模の環境維持を左右する可能性があると言えるのです。

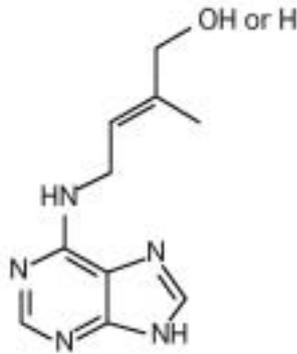


図1. 活性型サイトカイニンの構造。

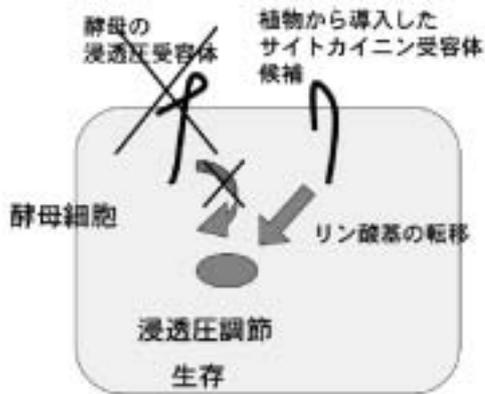


図2. 酵母を利用したサイトカイニン受容体の証明



図3. 植物は太る時期や程度を自分で調節している。植物が太るのは、形成層という組織（樹木の場合は樹皮の下にある）の細胞分裂です。私達の研究により、形成層の増殖はサイトカイニンによって調節されていることがわかりました。

1. Inoue T, Higuchi M, Hashimoto Y, Seki M, Kobayashi M, Kato T, Tabata S, Shinozaki K, Kakimoto T. 2001. Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from Arabidopsis. *Nature* 409: 1060-3
2. Kakimoto T. 2003. Perception and signal transduction of cytokinins. *Annu Rev Plant Biol* 54: 605-27
3. Kakimoto T. 2001. Identification of plant cytokinin biosynthetic enzymes as dimethylallyl diphosphate:ATP/ADP isopentenyltransferases. *Plant Cell Physiol* 42: 677-85
4. Miyawaki K, Tarkowski P, Matsumoto-Kitano M, Kato T, Sato S, Tarkowska D, Tabata S, Sandberg G, Kakimoto T. 2006. Roles of Arabidopsis ATP/ADP isopentenyltransferases and tRNA isopentenyltransferases in cytokinin biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 16598-603
5. Matsumoto-Kitano M, Kusumoto T, Tarkowski P, Kinoshita-Tsujimura K, Vaclavikova K, Miyawaki K, Kakimoto T. 2008. Cytokinins are central regulators of cambial activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 20027-31
6. Ashikari M, Sakakibara H, Lin S, Yamamoto T, Takashi T, Nishimura A, Angeles ER, Qian Q, Kitano H, Matsuoka M. 2005. Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science* 309: 741-5