

サイトカイニンを介した植物の全身的な窒素応答
機構

(要約)

Systemic nitrogen response via cytokinin in
plants

門田 宏太

窒素は植物の成長を規定する栄養素であり、畑土壌の好氣的環境では、硝酸イオンが植物に吸収される主要な窒素源である。硝酸イオンは窒素栄養として利用されるだけでなく、シグナル分子としても機能する。さらに、硝酸応答の二次シグナルとしてサイトカイニン (CK) が重要な役割を果たすことがわかっている。CK 側鎖構造には多様性があり、シロイヌナズナではトランスゼアチン (*tZ*) 型とイソペンテニルアデニン (*iP*) 型が主要な分子種である。道管液には *tZ* 型 CK が、師管液には *iP* 型 CK が多く含まれることから、CK は器官間シグナルとして機能する可能性が示されている。また、硝酸応答を介して CK 合成酵素 *IPT3* と *CYP735A2* の発現は誘導されることが知られている。これらの知見から、*tZ* 型 CK は根の窒素栄養状態を地上部へ、*iP* 型 CK は地上部の窒素栄養状態を根へ伝達するシグナルとして働くのではないかと考えられている。

硝酸応答を介した根から地上部の *tZ* 型 CK の輸送調節には、硝酸応答性転写因子 *NLP7* と CK 輸送体 *ABCG14* が中心的な役割を果たす。一方で、根から地上部の *tZ* 型 CK の輸送量を調節するフィードバック機構については不明であった。これまでの研究により、CK 受容体 *AHK2* と *AHK3* を根特異的に欠損させたシロイヌナズナでは、根とともに地上部の *tZ* 型 CK 濃度が上昇することを見出している。さらに、*in silico* 解析により *AHK3* が *NLP7* と高い共発現性を示すことが明らかとなり、*AHK3* が硝酸応答と強く関連して機能する可能性が示唆された。そこで第 1 章では、硝酸応答を介して根から地上部の *tZ* 型 CK の輸送量を調節するフィードバック制御因子の候補として *AHK3* に着目し、その機能解明を目ざした。そこで、接ぎ木により作製した根特異的に *AHK3* が欠損したシロイヌナズナを用いて、成長解析、オミクス解析、硝酸シグナルの有無の影響を検証可能な系での解析を実施した。その結果、根特異的な *AHK3* の欠損により、根の CK 分解酵素遺伝子 *CKX4* の発現量が減少し、根の *tZ* 型 CK 濃度が上昇した。根における *CKX4* の発現は、硝酸シグナルと *AHK3* を介した CK シグナルにより誘導された。さらに、根特異的な *AHK3* の欠損により、道管液の *tZ* 型 CK 濃度が上昇したとともに、地上部の CK 応答性遺伝子 *ARR5* の発現量と葉の CK 応答性も上昇した。加えて、根特異的な *AHK3* の欠損により、葉面積が増加し、これは硝酸シグナルと根由来の *tZ* 型 CK シグナルに依存して制御されていた。また、根特異的な *CKX4* の欠損によっても、葉面積が向上し、*AHK3* と *CKX4* の両方を根特異的に欠損させたシロイヌナズナでは、葉面積は相加的に増加しなかった。以上のことから、*AHK3*-*CKX4* モジュールを介した *tZ* 型 CK の感知と分解が、硝酸応答を介して根から地上部の *tZ* 型 CK の輸送量を調節するフィードバック制御因子として機能することが明らかになった。

これまでの研究から、地上部特異的に硝酸イオンが蓄積したシロイヌナズナでは、地上部

の *IPT3* の発現量と iP 型 CK 濃度がともに増加することが知られていたが、その生理的役割は不明であった。そこで第二章では、地上部の硝酸充足により発現誘導される *IPT3* が、iP 型 CK を介して局所のおよび全身的にどのような影響を及ぼすか解明することを目指した。そこで、硝酸還元酵素 *NIA1/2* 欠損株と *IPTs* 欠損株を用いた接ぎ木実験および培地の窒素栄養濃度の経時的な操作実験を組み合わせ、地上部特異的に硝酸シグナルと *IPT3* 発現を制御可能な実験系を開発した。そして、この系で栽培した接ぎ木植物を用いて、成長解析とオミクス解析を実施した。その結果、地上部の硝酸充足時には、地上部の *IPT3* を介して iP 型 CK 濃度が増加したとともに、地上部の成長が増加した。さらに、地上部の硝酸充足を介して制御される遺伝子発現は、地上部の *IPT3* によりさらに調節され、その効果は地上部と根で逆方向に作用していた。加えて、地上部の硝酸充足時には、地上部の *IPT3* を介して地上部の硝酸イオン誘導性遺伝子の転写応答が増強した一方で、根の硝酸イオン輸送・同化遺伝子の転写応答は減弱した。以上のことから、地上部の硝酸充足により発現誘導される *IPT3* が、iP 型 CK を介して地上部の窒素利用能と成長および根の窒素獲得能を調節することが明らかになった。

以上の研究により、CK を介した植物の全身的な窒素応答機構に関する理解が大きく前進したとともに、植物の窒素利用効率の向上に向けた有望な標的遺伝子の発見につながった。