

## 研究課題別評価

### 1. 研究課題名 : サイトカイニン合成酵素による植物形態形成の制御

### 2. 研究者氏名 柿本辰男

### 3. 研究の狙い :

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り、細胞分裂を誘導するとともに、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。このように植物の成長の重要な過程を制御する因子であるが、植物内在のサイトカイニンが実際にこれらの過程を調節しているのかどうかに関しては、確たる証拠はない。また、サイトカイニンが、どのようにして植物の形態形成を制御しているのかは、植物科学の重要な未解決問題である。これを知るためには、サイトカイニンがどこで、どのような経路で、どのような酵素によって合成されるのか、その合成過程はどのような調節を受けているのかを明らかにすることが必須であり、これらを目標とした。

### 4. 研究結果 :

植物のサイトカイニンの合成経路と合成の律速酵素もわかっていなかった。ただ、アデニン骨格のイソペンテニル化は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を詳細に調べ、その活性は、これまでに知られていなかった ATP と ADP をイソペンテニル化する酵素(ATP/ADP イソペンテニル基転移酵素)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明らかにした。

シロイヌナズナには、ATP/ADP イソペンテニル基転移酵素をコードすると考えられる遺伝子が 7 つ(*AtIPT1*, *AtIPT3*, *AtIPT4*, *AtIPT5*, *AtIPT6*, *AtIPT7*, *AtIPT8*) 存在する。これらの発現パターンを、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持っていることがわかった。これらの遺伝子の発現はサイトカイニン自身により抑制され、フィードバック制御が働いていることがわかった。含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発現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。

次に、各サイトカイニン合成酵素の役割を知るために、T-DNA 挿入システムをスクリーニングして各サイトカイニン合成酵素遺伝子破壊株を得た。現在、*AtIPT8* は相同組換えにより破壊しているところである。それぞれ一遺伝子の破壊、多くの組あわせの二重突然変異体では見かけ上の異常はみられなかった。唯一表現型が現れたのは、*AtIPT3* の破壊株である。*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* 遺伝子の誘導が関わっていることを示している。また、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ったため、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は明らかである。今後は、さらに多くのサイトカイニン合成酵素を同時に破壊した多重突然変異体の解析が必要である。

#### 5. 自己評価：

サイトカイニンは重要な植物ホルモンであり、その合成系を明らかにするとともに各サイトカイニン合成酵素遺伝子の発現解析と各遺伝子の破壊株の解析を行うという計画は、当を射た物である。

まず、サイトカイニンの合成経路と、サイトカイニン合成酵素遺伝子に関しては、「認識と形成」領域での研究に参加する時点である程度まで研究を進めていたので、これを詳細につめ、確かなものとして確定できたことは当たり前のことである。

サイトカイニン合成酵素遺伝子群の発現解析に関しては、発現レベルが低いため様々な苦労があったが、最終的には、多くの実験を納得するまで行った結果を論文発表したことは良かったと考えている。ここで見いだした、遺伝子発現のホルモンや環境応答などは、今後さらに追求していく。

サイトカイニン合成酵素遺伝子の、単一および二重遺伝子破壊株は、予測に反してどれもシビアな表現型は現わしていない。サイトカイニン合成酵素遺伝子の遺伝子破壊株の取得と二重変異体の作成には当初考えていたよりも長く時間がかかってしまい、3つ以上の遺伝子の多重変異体を作る時間はなかった。「認識と形成」領域における研究終了後も、多重突然変異体の作成を着実に進めており、この間の研究は将来の発展に結びつくものである。

#### 6. 研究総括の見解：

サイトカイニンによる植物体の形態形成の制御のしくみをサイトカイニン合成酵素に着目して、研究計画を着々と推進し、国際的にも非常に高水準の成果を挙げた。サイトカイニン合成酵素遺伝子の破壊株も分離解析し、単一または二重遺伝子破壊株では表現型が得られないことから、さらに重変異体で検討を進める必要が生じた。しかし、植物の形態形成の分野では極めて注目度の高いサイトカイニンについて、今後、飛躍的な研究の展開が十分期待でき、研究継続の価値はきわめて高い。

#### 7. 主な論文等：

##### 原著論文

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*, 37, 128-138 (2004).
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)

## 総説、著書

1. Kakimoto T, Perception and signal transduction of cytokinins. Annu Rev Plant Biol 54, 605-627 (2003)
2. Kakimoto T, Biosynthesis of cytokinins. J. Plant Res., 116, 233-239 (2003)
3. 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)
4. 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)
5. 岡穆宏、柿本辰男: サイトカイニン応答、同上、(印刷中)
6. サイトカイニンの合成と代謝、別冊植物細胞工学 (福田ら編) 秀潤社 (印刷中)
7. 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)
8. 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)

## 招待講演

1. Kakimoto, T. Biosynthetic enzymes of cytokinins. Plant Science Center Symposium II, Wako, Saitama, Japan. November 18-19, 2002
2. Kakimoto, T. Biosynthesis and perception of cytokinins. Botanikertagung 2002, Freiburg, Germany, September 22-27, 2002.
3. Kakimoto, T. Biosynthesis and perception of cytokinins. San Diego Center for Molecular Agriculture fall symposium. Ja Jolla, California, USA, October 2001.
4. 柿本辰男 木原財団学術賞受賞講演 2003. 5 月
5. 柿本辰男 東京テクノフォーラム 21 ゴールドメダル受賞講演 大阪 2002.9 月
6. 柿本辰男 東京テクノフォーラム 21 ゴールドメダル受賞講演 日本プレスセンター 2002.7 月
7. 柿本辰男 サイトカイニンを介した植物機能の調節機構、公開シンポジウム、和光理研, 2002 年 4 月
8. 柿本辰男ら、サイトカイニンを介した植物形態形成調節機構の解明に向けて、植物生理学会シンポジウム、岡山、2002 年 3 月
9. 柿本辰男、サイトカイニンの合成酵素と受容体の解析 公開シンポジウム、京都、2002.2 月
10. 柿本辰男、サイトカイニンの合成酵素と受容体の解析 公開シンポジウム、大阪、2002.2 月
11. 柿本辰男、他、植物ホルモン、サイトカイニンの受容、情報伝達系と植物機能調節、日本分子生物学会シンポジウム、横浜、2001.12 月

## 受賞

1. 2002 年 4 月 東京テクノフォーラムゴールドメダル賞
2. 2003 年 4 月 木原記念財団学術賞