

植物における窒素の検知と配分の分子機構

杉山 達夫

名古屋大学大学院生命農学研究科

要 旨

窒素のタンパク質への配分制御は植物が窒素の供給の変動に応答して適応的に代謝を調節するうえで極めて重要である。植物は環境の窒素栄養をいかにして検知し、その情報を遺伝子発現に伝達するのかという植物の機能開発と制御における重要な分子基盤が近年解き明かされつつある。本稿では無機窒素源をシグナルとする窒素配分の制御のうち、光合成の炭素同化に係わる遺伝子に焦点をあて、それらの窒素応答における制御機構解明の過程を先ず記述している。この過程で明らかにされた「サイトカイニン」は外部窒素源の根から葉への内部シグナルである。という新規な概念を紹介する。その概念の基本は原核細胞で研究が進められてきたヒスチジン-アスパラギン酸リン酸リレー情報伝達系である。高等植物に普遍的に存在すると考えられるこのしくみの研究成果を紹介するとともに、植物における窒素配分制御の応用的な面についても考察している。

キーワード：His-Aspリン酸リレー情報伝達，器官間コミュニケーション，窒素分配制御，窒素応答性遺伝子発現，サイトカイニン

はじめに

植物の無機栄養として最も多量に必要な元素は窒素であり、その供給量はその生育や発達を大きく規定する。生物に利用可能な窒素は N_2 の固定に由来し、この固定産物は一義的には硝酸イオンとアンモニアである。これらの無機窒素は植物に代表される光合成生物や硝化細菌など一部の微生物によって同化され、アミノ酸、タンパク質や塩基など生物の活動に不可欠な窒素化合物に転換される。 N_2 の固定は窒素固定菌による生物学的固定と大気の放電や工業的な固定など非生物学的なものに大別されるが、 N_2 のアンモニアへの還元には1分子あたり6電子相当のエネルギーを必要とし、このエネルギーは究極的には太陽光エネルギーに依存している。生物に利用可能な窒素源は、かような多量のエネルギーを要するために、生物の活動と生存の制限要因とみなされ、その利用は生物の進化駆動の一要因であると目されている。

生物の進化は環境への順化と適応に始まる。その場合、動物と違って動けない植物は外界の環境の変化に耐えて生存するためには、環境の

変化を検知するとともに、その変化に応答した情報伝達系を獲得しているものと考えられる。環境に応答し、生長や分化をするためには、植物は構成酵素の質と量の変動させることによってその代謝を適応的に制御しなければならぬ。遺伝子発現によって代謝系を制御することは、タンパク質への窒素配分の制御を要する。窒素源は同化の基質であるとともに、硝酸イオンによる硝酸還元酵素遺伝子発現の誘導にみられるように、遺伝子発現へのシグナルとしての機能をもつ。植物は変動する窒素の供給をいかに検知し、またその情報を窒素の投資対象であるタンパク質の遺伝子発現に伝えるのか？ 本稿では、窒素源のもつシグナルとしての性質に焦点をあて、緒端が拓かれつつある上記のしくみに関する最近の研究結果を紹介・解説するとともに、植物における窒素配分制御の分子基盤とその応用的な側面についても考察したい。

1 無機窒素源をシグナルとする植物の窒素配分制御

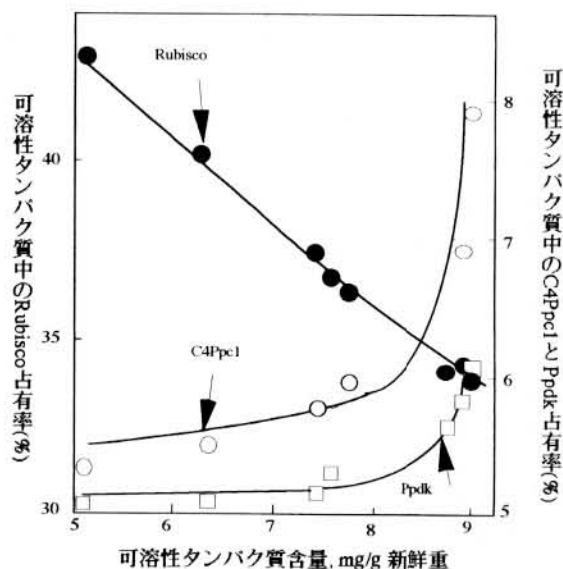
細胞が代謝を内・外の環境に応答して適応的に

転換するには基本的には酵素や輸送系のタンパク質の活性の変動を伴う。酵素やタンパク質の活性変動は大別して、遺伝子発現の制御により酵素・タンパク質の分子数をコントロールする粗調節と合成後の酵素・タンパク質の活性修飾、いわゆる翻訳後の活性調節による微調節の2通りがある。前者の場合には、窒素を特定の酵素・タンパク質に配分することが必要となる。無機窒素源である硝酸イオンやアンモニアによって発現調節を受ける植物遺伝子は多く、その数は研究の展開とともにさらに増加する状況にある (Koch, 1997)。これらの遺伝子の機能は光合成、炭素の転流・輸送・利用、窒素の同化と転流・輸送・利用と多岐にわたるが、その多くは発現が炭素にも応答することである。このことから理解されようが、代謝系に機能する遺伝子の発現は相互に話し合い(cross-talk)していることを示すものであり、植物の遺伝子発現において、窒素、炭素、硫黄などはシグナルとしてネットワークを形成して関連する代謝系の遺伝子を相互に制御しているものと考えられるべきであろう。また、これらの遺伝子発現における話し合いは、植物におけるこれら同化元素の比を一定に保つことを可能にしていると思われる。窒素に応答して制御される遺伝子の例として、筆者らが研究してきたC₄植物における光合成炭素同化に係わるものを紹介する。

光合成に関与する酵素・タンパク質は葉中のタンパク質の大半を占める。なかでも一般に明反応と呼ばれ、葉緑体に局在し光エネルギー転換に機能する膜タンパク質と可溶性でストローマやサイトソルに局在する炭素同化系の酵素はとりわけ多量である。例えば、カルビンサイクルの炭酸固定酵素リブローズ二リン酸カルボキシラーゼ・オキシゲナーゼ (Rubisco) は地球上最も多量に存在するタンパク質である。このことは窒素の投資の面からも光合成が生物圏において果たす役割の大きさを物語っている。第1図は、トウモロコシ幼植物について、培養液の硝酸塩濃度を特異的に変化させ、成熟過程にある葉組織のRubiscoとC₄炭素回路の一次炭酸固定酵素フォスフォエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (C₄Ppc1) 及びC₄Ppc1にフォスフォエノールピルビン酸を供給する酵素ピルビン酸・リン酸ジキナーゼ (Ppdk) の葉タンパク質の各占有率を葉タンパク質の関数として示したものである (Sugiyama et al., 1984)。正味の

炭素同化に不可欠なRubiscoへの占有率は窒素の供給量の増加につれて低下するのに対し、生化学的には付帯物であると目されているC₄炭素回路の酵素C₄Ppc1とPpdkの窒素占有率は窒素の供給量に依存している。また、これら酵素の窒素に応答した蓄積はmRNAの蓄積をともなったタンパク質の合成によることが明らかにされている (Sugiharto et al., 1990)。これらの結果は窒素欠乏下の植物は、窒素を相対的にRubiscoに配分し、C₄炭素回路の酵素への配分を抑制していることを示すとともに、この蓄積が遺伝子発現のレベルで窒素によって制御されることを示している (Sugiyama, 1998)。トウモロコシで見られるこの窒素による配分制御は他のC₄植物、例えばモチキビ (*Panicum miliaceum*) のC₄Ppc1やC₄炭素回路に特異的に機能する酵素アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼとアラニンアミノトランスフェラーゼでも見られる (総説の一例としてSugiyama, 1998を参照)。

C₄炭素回路の酵素遺伝子の発現に見られる窒素に応答した遺伝子発現のポジティブ制御は転写段階と転写後の段階で行われており (Suzuki et al., 1994)、この制御をもたらす窒素シグナルは硝酸塩やアンモニアの同化産物であるグルタミン (またはその代謝産物) である



第1図 窒素栄養に応答するトウモロコシ葉炭素同化系酵素タンパク質への窒素配分

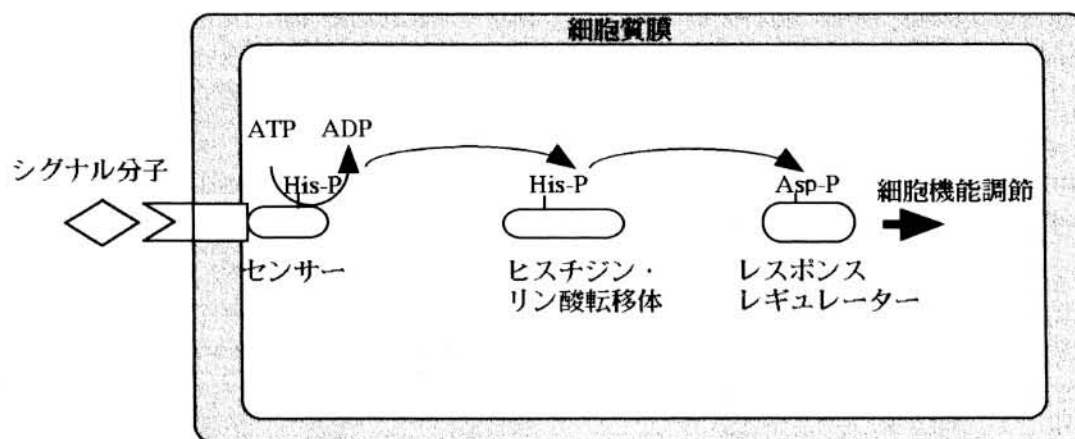
(Sugiharto et al., 1992)。筆者らはC₄酵素の遺伝子について、個体での発現が窒素源もしくはグルタミンによって誘導されることを明らかにした。これらの事実は実際には穏和に窒素が欠乏

した植物を用い、これに窒素を補填し生じる窒素栄養回復過程の解析により得られたものである。興味あることに、かような窒素欠乏植物から得られる切り取り葉に窒素源を加えても個体の葉で見られる上記遺伝子の発現は誘導されない。切り取り葉組織でこの窒素に応答した遺伝子発現を誘導するには、窒素源に加えてサイトカニンが不可欠である (Sugiharto et al., 1992)。試行錯誤のうえ発見されたこの事実は植物の器官間コミュニケーションにサイトカニンが窒素源の根から葉へのシグナルであるという新しい概念の想定を可能にした。サイトカニンは栄養生長期の植物では根で合成され、このホルモンは細胞の分裂、頂芽優勢、光合成、葉の老化やシンク・ソースなど、植物の多岐にわたる機能を制御する (総説の一例として、Schmullig et al., 1997)。このホルモンの根から葉への窒素源のシグナルであるとする仮説には、先ず根でのこのホルモンの蓄積の窒素応答性が明らかにされねばならない。筆者らはこの課題に取り組み、トウモロコシ根でサイトカニンの分子種であり、ゼアチンやゼアチンリボシドの先駆体と目されるイソペンテニルアデノシンリン酸が窒素源に応答して蓄積することを確証している (Sakakibara et al., 1998)。

II 植物のヒスチジン-アスパラギン酸リン酸リレー情報伝達系

タンパク質の可逆的なリン酸化は生物の情報伝達のしくみとして最も広く利用されている。この情報伝達に係るプロテインキナーゼはそのリン酸化のアミノ酸残基の違いにより、セリン/スレオニンキナーゼ、チロシンキナーゼ

及びヒスチジンキナーゼ、に大別される。前二者は構造的に類似性が高く、共通の祖先をもつと考えられ、真核細胞にのみ存在する。これに対し、後者のヒスチジンキナーゼは特有の酵素族を構成し、原核と真核の両細胞に存在し、ヒスチジン-アスパラギン酸リン酸リレー (2成分情報伝達とも呼ばれる) 系の構成成分として機能している。このリン酸リレーは、典型的には、センサー (ヒスチジンキナーゼ)、ヒスチジン・リン酸転移体 (His-containing phosphotransfer, HPT) とレスポンス・レギュレーター (response regulator, RR) と呼ばれる3つのドメイン (タンパク質領域) で構成される (総説の一例として Mizuno, 1998)。その典型例を第2図に示す。この情報伝達系におけるリン酸基のリレーは、先ず細胞外のシグナルリガンドがセンサーによって認識され、細胞表層のドメインに結合することにより開始される。センサーはシグナルリガンドと結合すると、そのサイトソル側ドメインに局在するキナーゼのヒスチジン残基がATPにより自己リン酸化され、典型的にはHPTのヒスチジン残基を経て、RRの活性部位にあるアスパラギン酸にリレーされる。リン酸化されたRR、すなわち、細胞外シグナルの担い手は標的遺伝子の転写またはその産物の翻訳後の活性を制御し、細胞の外部シグナルへの応答を開始する。この情報伝達系は当初原核細胞にのみ限定されたと考えられていたが、その後、カビや酵母 (Maeda et al., 1994)、さらにはトウモロコシ、トマト、シロイヌナズナの高等植物においても存在することが明らかにされつつある (総説の一例として、Sakakibara et al., 2000)。植物においてこれまで同定されたヒ



第2図 ヒスチジン・アスパラギン酸リン酸リレーの簡略モデル

第1表 植物のヒスチジン-アスパラギン酸リン酸リレー情報伝達系の遺伝子

モジュール	植物種	遺伝子	備考
センサーキナーゼ	シロイヌナズナ	<i>ETR1, ETR2, EIN4</i> <i>ERS, ERS2</i>	エチレンセンサー
	トマト	<i>LeETR1, LeETR2, LeETR4</i> <i>LeETR4, LeNr</i>	エチレンセンサー
	シロイヌナズナ	<i>CKI1</i>	サイトカイニン センサー?
	シロイヌナズナ	<i>ATHK1</i>	浸透圧センサー?
レスポンス レギュレーター	シロイヌナズナ	<i>ARR1~ARR14</i>	Type B: <i>ARR1, 2, ARR10, 11, 12, 13, 14</i> Type A: <i>ARR3, 4, 5, 6, 7, 8, 9</i> Type Aはサイトカイニン 誘導性
	トウモロコシ	<i>ZmRR1, ZmRR2</i>	サイトカイニン誘導性
	シロイヌナズナ	<i>AHP1~AHP3</i>	
ヒスチジン リン酸転移体	トウモロコシ	<i>ZmHPi, ZmHP2</i>	

Sakakibara et al., 2000から引用

スチジン-アスパラギン酸リン酸リレー情報伝達系の遺伝子は第1表に要約される。センサーとしてシグナル結合能が明らかにされたものはトマトとシロイヌナズナのエチレンレセプターである。このうち、ETR1, ETR2, EIN4, ERSとERS2は一連の酵素族をなし、エチレンを受容するとそのヒスチジンプロテインキナーゼ活性は負に制御される（総説の一例として、Bleecker, 1999）。また、シロイヌナズナから同定されたATHK1は浸透圧検知に関わるセンサーであろうと目されている（Urao et al., 1999）。これらのセンサーの下流に位置するであろうと考えられていたRR遺伝子は1998年に時を同じくしてトウモロコシとシロイヌナズナからわが国と米国で同定され、公表された。また、HPT遺伝子については、わが国で上記の植物から相次いで同定され、公表された。これらのRR遺伝子のうち、シロイヌナズナ由来のARR3からARR9、計9種（Taniguchi et al., 1998, Brandstatter, and Kieber, 1998）とトウモロコシ由来のZmRR1とZmRR2（Sakakibara et al., 1998）はともに葉で発現し、植物ホルモンであるサイトカイニンで誘導される。HPTについては上記2種の植物から計5種の遺伝子が同定され、構造が明らかにされている。これらの遺伝子の発現は少なくともサイトカイニンに関しては構成的であり、いずれも葉での発現が他の組織に比べ高い。さらに最近、トウモロコシからZmRR3, ZmRR4, ZmRR5, ZmRR6, ZmRR7が筆者らの研究室で同定され（Sakakibara, H. et al. 未発表データ）、既にゲノム構造の決定が完了しつつあるシロイヌナズナからは計20種の

RR遺伝子の存在が確認されている（Mizuno, T. 私信）。これまでに公表されたシロイヌナズナのRRのうち、ARR12-ARR14はリン酸化さるべきアミノ酸残基がアスパラギン酸以外のものに置き換わり、したがってリン酸リレー活性の見られないものがある。擬レスポンスレギュレーター（pseudoRR）と呼ばれるこれら一群のRRの役割はいかなるものであろうか？最近、筆者らはこれらの遺伝子の同定者である水野研究室と共同で、これらの一群の擬レスポンスレギュレーター遺伝子の転写産物が日周リズムで発現することを発見した（Makino et al., 2000）。生物時計のしくみは今その研究の初期過程にあるが、これらの擬レスポンスレギュレーターがそのしくみにどのように関わるのかについては今後の研究の進展を待たねばならない。

ヒスチジン-アスパラギン酸リン酸リレーは、バクテリアや酵母では、栄養、浸透圧、光感受性、走化性、病原物質など、内外の環境変動に応答するための細胞内・細胞間情報伝達のメカニズムとしてはたらくことが知られている。この情報伝達系の一つの特徴は、この系自体はセンサーの自己リン酸化活性を超えた増幅機構を持たないことである。このことはこのリレーが最少のシグナルの度合いまたは持続期間の閾値を決める役割をもつことを示唆している。生物にとっては、予期せず到来するであろう環境資源の利用を失することは自らの生存を危うくするであろうことを考えると、この役割の生物学的意義はうなずけよう。このリレーのもう一つの重要な特徴は、それがリン酸化サイトを介して、他の遺伝子発現または系との話し合いの可

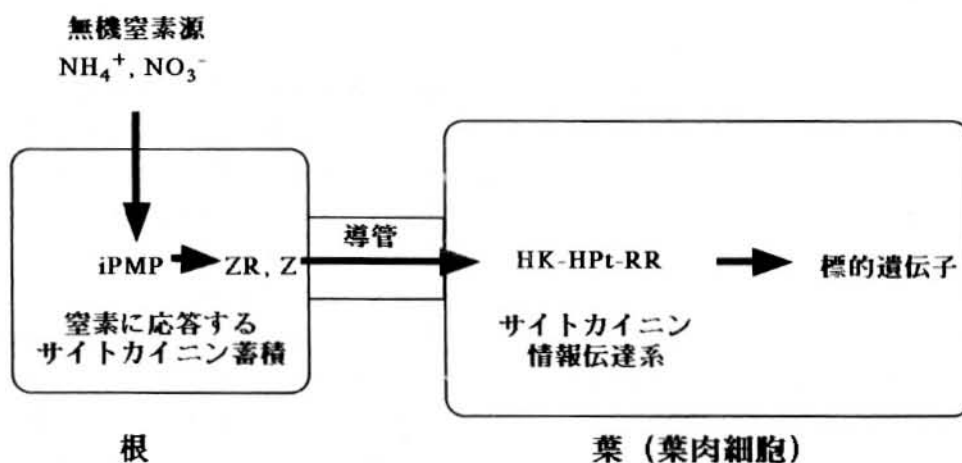
能性を提供することであろう (Appleby et al., 1996)。他の情報伝達との話し合いはおそらく異種生物間でのコミュニケーション手段として、他の生物、とりわけ植物と微生物にまで拡大して行くことであろう。ヒスチジン-アスパラギン酸リン酸リレーの研究は植物においては、エチレンやサイトカイニンへの情報伝達の新たなメカニズムとして研究者の大きな注目を集めてはいるものの、その全貌と伝達の目標である遺伝子やタンパク質についての確実な情報は現在に限られており、今後の研究に待つべきである。

III 植物による窒素検知とその情報伝達

これまでの章で記述した事実を基にして、植物個体が外部環境要因としての窒素源を検知し、その情報を炭素・窒素同化系酵素遺伝子の発現制御に伝達するメカニズムとして、筆者らは第3図に示す仮説を提唱している (Sugiyama, Sakakibara, 印刷中)。この図の示すところは、窒素源である硝酸塩やアンモニアは先ず根によって認識され、植物はこの濃度に応答して根でサイトカイニンを蓄積する。このホルモンのうち蓄積する分子種は最初サイトカイニンの先駆体iPMPであると考えられる。この分子種は根でZRとZに転換され、無機窒素源の内部シグナルとして導管を經由して葉組織の光合成細胞に輸送される。そこでは、サイトカイニンはその受容体と目されるセンサーキナーゼによって認識され、そのシグナルはHPT・RRを介してリン酸リレーされ、標的遺伝子の転写もしくは翻訳

後の制御を制御する。この概念はサイトカイニンが無機窒素源の根から葉へのシグナルであることを示すものである。植物根での無機窒素源の認識や検知のしくみは目下不明であるが、植物由来のRRをはじめヒスチジン-アスパラギン酸リン酸リレーのいくつかの成分遺伝子は根に特異的に発現するものもある。したがって、根で想定されるサイトカイニン蓄積の無機窒素源の情報伝達にはヒスチジン-アスパラギン酸リン酸リレーが関与する可能性も否定できない。また、根での無機窒素に応答したサイトカイニン蓄積のしくみも不明であるが、窒素に応答し蓄積するサイトカイニン分子種がiPMPであることから、通常サイトカイニン合成酵素と呼ばれるこの先駆体合成を触媒するイソペンテニルアデノシンリン酸転移酵素、この酵素の上流に位置する酵素の活性、もしくはその遺伝子発現が窒素に応答し正に制御される可能性が示唆される。最近、筆者の研究室でこれまで同定されていなかった植物由来のサイトカイニン合成酵素の遺伝子をシロイヌナズナから取得した (未発表データ)。この遺伝子の窒素応答性の有無は間もなく解明されることが期待される。

このモデルにおいて解明されるべき課題は想定されるリン酸リレーの標的遺伝子である。既に前章にて述べたように、その候補遺伝子はC4Ppc1を含むいくつかのC4光合成遺伝子である。これらの遺伝子の発現は、サイトカイニンと窒素によって誘導されるRRの発現と高い相関を示す。しかし、相関は因果関係については何の情報も提供してくれない。今後、細胞生物学的



第3図 サイトカイニンを介した無機窒素情報の器官間コミュニケーションモデル

iPMP: イソペンテニルアデノシンリン酸; ZR, ゼアチンリボシド; Z, ゼアチン

H: K: センサーキナーゼ; HPT, ヒスチジン・リン酸転移体; RR, レスポンスレギュレーター

第2表 窒素・サイトカイニンで発現調節される植物遺伝子

遺伝子(遺伝子産物)	文献
窒素を多量に必要とする過程に関わるもの	
転写	
<i>polI</i> (RNA polymerase I)	Gaudino and Pikkart, 1997
細胞分裂サイクル	
<i>cycD3</i> (cyclin δ)	Soni et al., 1995
光合成	
<i>cab</i> (LHCP)	Chory et al., 1994
<i>nia</i> (nitrate reductase)	Yu et al., 1998
<i>C4Ppc1</i> (PEP carboxylase)	Sugiharto et al., 1992
<i>C4Ppc1</i> (carbonic anhydrase)	Sugiharto et al., 1992
<i>rbcS</i> (rubisco small subunit)	Lerbs et al., 1984
防御・誘引	
<i>chs</i> (chalcone synthase)	Deikman and Hammer, 1995
<i>chi</i> (chalcone isomerase)	Deikman and Hammer, 1995
<i>dfr</i> (dihydroflavonol reductase)	Deikman and Hammer, 1995
情報伝達	
<i>rr</i> (response regulator)	Taniguchi et al., 1998 Sakakibara et al., 1998 Brandstatter and Kieber, 1998

LHCP, light-harvesting chlorophyll a, b-binding protein; PEP, phosphoenolpyruvate

な手法と生化学的な手法を主体にこの情報伝達系の下流に存在する標的遺伝子を確定していくことが不可欠であろう。しかし、相関解析は標的遺伝子の候補について重要な示唆を与える。それらの遺伝子はその発現が窒素とサイトカイニンへの応答性をもつ筈である。この条件を満たす遺伝子は第2表に要約される。これらの遺伝子は生理的機能として、転写、細胞分裂、光合成などそれ自身の発現が多量の窒素を必要とするかもしくは多量の窒素を必要とする細胞活動に先行する遺伝子に多く分布していることが認められる。このことは植物が窒素を多量に必要とする細胞活動の準備に際して、外部の窒素栄養環境をモニターし、その保証を遺伝子発現に伝達していることを示唆するのかもしれない。また、この表には、防御や誘引などにはたらく2次代謝産物合成の引き金となる遺伝子も含まれる。これらの遺伝子発現は窒素やサイトカイニンによって前者の一群の遺伝子とは異なり、負に制御される。受精に際して特定の昆虫を誘引したり、子孫を繋ぐということで植物のライフサイクルで最も重要な段階である生殖器官の形成は光合成や細胞の増殖といった窒素を多量に要する成長段階が終了し、老化を迎えて始まる。植物はこの時期を外部の窒素供給の減少で検知し、その減少を確認してこれらの遺伝子発現の抑制を解除するのかも知れない。

既に紹介したように、植物への窒素供給は根や葉組織のサイトカイニン濃度の上昇をもたらすこと、また地上部と根のバイオマス比を増加させる窒素の役割がサイトカイニンで置き換え

得るという古くからの知見 (Kuiper, 1988, Fetene and Beck, 1993) がある。さらに、窒素栄養とサイトカイニンの情報伝達の相互関係が存在することは、M. Cabocheのグループによって単離された低窒素感受性の変異株 (Faure et al., 1994) の示す表現型からも強く示唆される。この株はサイトカイニンに抵抗性を示す *Zea3* に変異を起こし、低い窒素/炭素比のもとで光に依存した子葉成長を抑制する。これらのことはサイトカイニンが窒素の内部シグナルであるとする考えを支持するものである。このホルモンが高等植物における窒素検知の仲立ちをするという、ここに概説したモデルの考え方は植物における器官間コミュニケーションの分子基盤として、将来の植物科学の展開、とりわけその高秩序系の理解に役立つことを筆者らは期待している。

IV 窒素配分制御の応用的側面

自然界では制限因子と目される窒素の配分は植物が環境適応に際して行う代謝系の転換に重要な役割を果たすものであり、高度に保存された秩序であると言えよう。したがって、遺伝子を導入し代謝系を移行もしくは改変し、特定の遺伝子の発現を強化し植物の機能を改変する時には、窒素の配分制御というしくみを十分理解した上でそれを打破することが実際には大きな解決課題になると考えられる。本稿で記述した植物の窒素配分のしくみはこの課題解決への提案を可能にする。

生体でのすべての成分の蓄積はその合成速度

と分解速度の差であり、基本的にはそれらを触媒する酵素の活性の差に帰する。実際の酵素活性は細胞内の反応条件である基質、水素イオン、コファクターなどの濃度に依存するが、その潜在的な活性は翻訳後の活性調節と遺伝子発現による酵素分子の濃度によって規定される。この考えによれば、遺伝子の導入によってこの酵素の発現量を制御して合成に関わる酵素を分解に関わる酵素よりも相対的に高めることでCの蓄積を大きくすることが可能である。生体に遺伝子を導入する時、問題になるのはその導入遺伝子のプロモーターである。筆者らはZmRR1の遺伝子構造を解明し、そのゲノム遺伝子の5'上流にある非翻訳領域をプロモータにしてリポーターとしてGUS遺伝子との融合遺伝子をトウモロコシに導入し、その発現を解析したところ、このプロモーターにはサイトカイニン応答性と葉肉細胞に優先的に発現するための必要な少なくとも最少限の塩基情報が含まれること、及びこのサイトカイニン応答性は転写段階での制御を受けていることを明らかにした(Deji et al., 2000)。したがって、このプロモーターを特定の酵素の遺伝子に融合して使用すれば、少なくともC₄植物の光合成細胞、とりわけ葉肉細胞にサイトカイニン応答性の酵素を導入することが可能であろう。今日では植物のかなりの細胞に特異的な発現性を示す部位特異的なプロモーターが利用できる。これらのプロモータを活用すれば、酵素遺伝子をサイトカイニンに応答して発現制御する途が拓けよう。また、サイトカイニンが無機窒素源の根から葉への内部シグナルという概念からすれば、サイトカイニン応答は無機窒素源で代替できるものであると考えられる。

いずれの基礎理論においてもそれを応用研究に展開させるためには実際にその適用を試すための試験研究を必要とするであろう。上記の応用への試行に際して検討すべき事項は多い。なかでも重要なことは、生物に見られる遺伝子発現をめぐるクロストークの存在である。特定の遺伝子の機能や発現を改変したとき、他の遺伝子の発現への影響や他の遺伝子の発現との相互作用となって現れる筈である。このことは遺伝子導入に伴う機能改変生物の安全性にも共通する問題でもあり、生物の属性でもある恒常性によるものであろう。この基本的な性質を軸にして検証すべき事項の多くはある程度推定可能と

なろう。すなわち、遺伝子発現におけるクロストークの度合いやその範囲は内外の環境の変動、したがって、分化や発達の違いや温度、水分、光の強度と質、栄養条件などの環境要因の変動によって決定されると考えるべきである。検証すべきことは決して少なくはないが、導入したどの遺伝子がいかなる状況の下で期待した挙動を示すかを知ることが逆に基礎的な知見をもたらす、新しい概念をもたらすことも十分期待できよう。現在の植物科学は演繹により植物機能を改変しうる段階にまでには至っていない。科学の進歩には基礎研究と現実とに直面する課題の解決、いわゆる応用研究の両面が必須である所以であろう。

謝辞

本稿における筆者らの研究成果の多くは文部省科学研究費補助金特定領域研究「植物個体における光合成機能統御の分子基盤」(番号09274101・09274102)及び日本たばこ産業株式会社植物育種遺伝研究所からの基金による。

引用文献

- Appleby, J. L., Parkinson, J.S., Bourret, R.B. 1996. Signal transduction via the multi-step phosphorelay: not necessary a road less travel. *Cell* 86: 845-848.
- Bleecker, A. B. 1999. Ethylene perception and signaling: an evolutionary perspective. *Trends Plant Sci.* 4: 269-274.
- Brandstatter, I., Kieber, J.J. 1998. Two genes with similarity to bacterial response regulators are rapidly and specifically induced by cytokinin in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10: 1009-1019.
- Chory, J., reinecke, D., Sim, S., Washburn, T., Brenner, M. 1994. A role for cytokinins in de-etiolation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 104: 339-347.
- Deikman, J., Hammer, P.E. 1995. Induction of anthocyanin accumulation by cytokinins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 108: 47-57.
- Deji, A., Sakakibara, H., Ishida, Y., Yamada, S., Komari, T., Kubo, T., Sugiyama, T. 2000. Genomic organization and transcriptional

- regulation of maize ZmRR1 and ZmRR2 encoding cytokinin-inducible response regulators. *Biochem. Biophys. Acta*, 1492: 216-220.
- Faure, J.D., Jullien, M., Caboche, M. 1994. Zea3: a pleiotropic mutation affecting cotyledon development, cytokinin resistance and carbon-nitrogen metabolism. *Plant Journal* 5: 481-491.
- Fetene, M., Beck, E. 1993. Reversal of sink-source relations in *Urtica dioica* L. plants by increasing cytokinin import into the shoot. *Botanical Acta* 106: 235-240.
- Gaudino, R.J., pikaard, C.S. 1997. Cytokinin induction of RNA polymerase I transcript in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 272: 6799-6804.
- Koch, K. E. 1997. Molecular crosstalk and the regulation of C- and N-responsive genes. In Foyer, C., Quick, P. eds *A Molecular Approach to Primary Metabolism in Plants*, Taylor and Francis Inc. London. pp105-124.
- Kuiper, D. 1988. Growth responses of *Plantago major* L. ssp. *pleiosperma* (Pilger) to changes in mineral supply; evidence for regulation by cytokinins. *Plant Physiol.*, 87: 555-557.
- Lerbs, S., Lerbs, W., Klayachko, N.L., Romanko, E.G., Kulaeva, O.N., Wollgiehn, R., Parthier, B. 1984. Gene expression in cytokinin- and light-mediated plastogenesis of *Cucurbita* cotyledons: ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Planta* 162: 289-298.
- Maeda, T., Wurgler-Murphy, S. M., Saito, H. 1994. A two-component system that regulates an osmosensing MAP kinase cascade in yeast. *Nature* 369: 242-245.
- Makino, S., Kiba, T., Imamura, A., Hanaki, N., Nakamura, A., Suzuki, T., Taniguchi, M., Ueguchi, C., Sugiyama, T., Mizuno, T. 2000. Genes encoding pseudo-response regulators: Insight into His-to-Asp phosphorelay and circadian rhythm in *Arabidopsis thaliana*. 41: 791-803.
- Mizuno, T. 1998. His- Asp phosphotransfer signal transduction, *J. Biochem. (Tokyo)* 123: 555-563.
- Sakakibara, H., Suzuki, M., Takei, K., Deji, A., Taniguchi, M., Sugiyama, T. 1998. A response-regulator homologue possibly involved in nitrogen signal transduction mediated by cytokinin in maize. *Plant J.* 14: 337-344.
- Sakakibara, H., Taniguchi, N., Sugiyama, T. 2000. His-Asp phosphorelay signaling: a communication avenue between plants and their environment. *Plant Mol. Biol.* 42: 273-278.
- Schmulling, T., Schafer, S., Ramanov, G. 1997. Cytokinins as regulators of gene expression, *Physiol. Plant.* 100: 505-519.
- Soni, R., Carmichael, J.P., Shah, Z.H., Murray, J.A.H. 1995. A family of cyclin D homologs from plants differentially controlled by growth regulators and containing the conserved retinoblastoma protein interaction motif. *Plant Cell* 7: 85-103
- Sugiharto, B., Burnell J. N., Sugiyama, T. 1992. Cytokinin is required to induce the nitrogen-dependent accumulation of mRNAs for phosphoenolpyruvate carboxylase and carbonic anhydrase in detached maize leaves. *Plant Physiol* 100: 153-156.
- Sugiharto, B., Miyata, K., Nakamoto, H., Sasakawa, H., Sugiyama, T. 1990. Regulation of expression of carbon-assimilating enzymes by nitrogen in maize leaf. *Plant Physiol.* 92: 963-969.
- Sugiharto, B., Suzuki, I., Burnell, J. N., Sugiyama, T. 1992. Glutamine induces the N-dependent accumulation of mRNAs encoding phosphoenolpyruvate carboxylase and carbonic anhydrase in detached maize leaf tissue. *Plant Physiol.* 100: 2066-2072.
- Sugiyama, T. 1998. Nitrogen-responsive expression of C4 photosynthesis genes in maize. In Satoh, K., Murata, N. eds *Stress Responses of Photosynthetic Organisms*, Elsevier, Tokyo. pp167-180.
- Sugiyama, T., Mizuno, M., Hayashi, M. 1984. Partitioning of nitrogen among ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, phosphoenolpyruvate carboxylase, and pyruvate orthophosphate dikinase as related to biomass. *Plant Physiol* 75: 665-669.
- Sugiyama, T., Sakakibara, H. Regulation of parti-

- tioning of nitrogen in machinery for carbon and nitrogen assimilation through gene expression in plants. In Foyer, C., eds. *Advances in Photosynthesis*. Kluwer Publishing Co., London. in press
- Suzuki, I., Cr  tin, C., Omata, T., Sugiyama, T. 1994. Transcriptional and posttranscriptional regulation of nitrogen-responding expression of phosphoenolpyruvate carboxylase gene in maize. *Plant Physiol.* 105: 1223-1229.
- Taniguchi, M., Kiba, T., Sakakibara, H., Ueguchi, C., Mizuno, T., Sugiyama, T. 1998. Expression of *Arabidopsis* response regulator homologs is induced by cytokinins and nitrate. *FEBS Lett.* 429: 259-262.
- Urao, T., Yakubov, B., Satoh, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Seki, M., Hirayama, T., Shinozaki, K. 1999. A transmembrane hybrid-type histidine kinase in *Arabidopsis* functions as an osmosensor. *Plant Cell* 11: 1743-1754.
- Yu, X., Sukumaran, S., Marton, L. 1998. Differential expression of the *Arabidopsis* *Nia1* and *Nia2* genes: cytokinin-induced nitrate reductase activity is correlated with increased *Nia1* transcription and mRNA levels. *Plant Physiol.* 116: 1091-1096.

Title: Molecular mechanism of perception and partitioning of nitrogen in plants.

Author: Tatsuo Sugiyama (School of Bioagriculture, Nagoya University)

Key words: cytokinin, His-Asp phosphorelay signaling, nitrogen-responsive gene expression, organ-to-organ communication, regulation of nitrogen-partitioning.