

根粒形成におけるサイトカイニンの役割

The role of cytokinin in nodule formation

手呂内 伸之

Nobuyuki Terouchi

大妻女子大学短期大学部

Otsuma Women's University Junior College Division

キーワード : 根粒, サイトカイニン, 定量

Key words : Nodule, Cytokinin, Quantitative determination

1. 研究目的

本研究では根粒菌のマメ科植物への感染に置いて、植物ホルモンであるサイトカイニンの役割を解明するものである。

根粒形成にサイトカイニンが関与することは根粒様構造体を形成する変異体の解析により考察されている。この変異体は根粒菌の非感染にもかかわらず、サイトカイニン受容体遺伝子 LHK1 の過剰発現が見られ、サイトカイニンが関係することが指摘されている。しかしながら、このように重要な因子であるにも関わらず、根粒菌の感染におけるサイトカイニンについての報告はほとんどない。本研究ではサイトカイニンについて以下のことを調べることが目的である。

①根粒菌の感染に伴うサイトカイニン合成量の測定

②合成されたサイトカイニンの受容体に始まるサイトカイニン情報伝達系の解析

これらを調べ、サイトカイニンによる根粒形成機構への関与をより明らかにする。

2. 研究内容及び成果

①サイトカイニン合成量の測定

根粒菌の感染による宿主マメ科植物でのサイトカイニン合成量について調べ、明らかにした。根粒菌感染に伴う植物のサイトカイニン合成量を測定するために ELIZA 法を用いた。これらの実験に際して試料としては植物 : ミヤコグサ (*Lotus japonicus* var MIYAKOJIMA G-20), 根粒菌 : ミヤコグサ菌 (*Mesorhizobium loti*

MAFF303099) を使用した。また、サイトカイニン量の測定には ELIZA 測定キット (Trans-zeatin riboside ELIZA quantitation kit; Agrisera AB) を使用した。

結果としてはサイトカイニンである、trans zeatin riboside は根粒菌感染後、徐々に量が増殖していき、30 分で最大のサイトカイニン量が見られた

(Kawamura K and Terouchi N., 2016)。その後、量が減少した。このことはサイトカイニンの受容体遺伝子 (LHK1) の発現の解析結果も根粒菌感染後、30 分に最大の発現量が見られることが最近、判明したこと (Terouchi N and Kawamura K., 2015) と関係があることが推測される。

②サイトカイニンの情報伝達系の解析

植物において、サイトカイニンの情報伝達系に関する遺伝子はいくつか知られているが、根粒菌の感染とそれら遺伝子の発現に関する報告はほとんどない。これら遺伝子のうち申請者が以前から研究していたサイトカイニンの RR (Response regulator) について感染との関係を調べる。RR はシロイヌナズナで良く調べられていて、2 タイプが知られている。Type-A と Type-B がある。それぞれファミリーを形成していることが知られている。Type-B はサイトカイニン応答遺伝子群を活性化させ、Type-A はサイトカイニンに反応して上流の Hpt から下流の RR にリン酸基が転移する際に働く負のフィードバック因子であることが示されている。このうちミヤコグサで塩基配列が決定している RR 遺伝子に RR2 がある。RR2 は Type-B ファミリーに所属している。本研究では RR2 遺伝子の根粒菌感染による発現の誘導を調べた。

材料等は①と同様にミヤコグサとミヤコグサ菌である。

RR2 の発現量を RT-PCR 法にて見たところ、根粒菌の感染後、60 分が量的に多かった。サイトカイニンの情報伝達系は His-Asp リン酸リレー系が用いられている。受容体 (LHK1) がサイトカイニンを受容すると、その信号はこの系の中間体である Hpt 因子を介して RR に伝達されることが言われている。LHK1 遺伝子の発現量を測定したところ感染後 30 分が最大との知見が得られている

(Terouchi N and Kawamura K., 2015) ことと①の結果から考えて、サイトカイニンを LHK1 受容体で受け取られてから RR にリン酸が伝達するためには 30 分程度かかることが本実験から考察された。

3. まとめと今後の課題

本研究では①根粒菌感染に伴う宿主マメ科植物におけるサイトカイニン合成量の測定 ②サイトカイニンの情報伝達系の感染による影響の解析を行った。

その結果、根粒菌の感染によって宿主マメ科植物はサイトカイニンを合成し、感染後 30 分で最大量になることが定量された。また感染とサイトカイニンの情報伝達系の関わり合いについて調べたところ、知られているサイトカイニンの情報伝達系のうち RR の遺伝子 (RR2) の発現が感染して 60 分が量的に多いことが判明した。このように、根粒形成においてサイトカイニンが重要な役割をしていることが推測された。

今後、このサイトカイニンの情報伝達系の他の遺伝子の感染に伴う発現変動の解析をするとともに、感染された宿主植物でのこれら遺伝子の発現の組織学的な研究を行いたいと考えている。

4. この助成による発表論文等

①雑誌論文

[1]Kawamura K and Terouchi N. Analysis of infection signaling system in the nodulation

Int J Hum Cult Stud 査読無 26 2016 103-6.

(2016 年 3 月 31 日現在)