

オーキシン受容体研究の現状

農業生物資源研究所機能開発部 下村正二

I: は じ め に

植物の成長を調節する生体内微量成分として、オーキシン、ジベレリン、サイトカイニン、アブジジン酸そしてエチレンなどが見いだされている。最近では、ブラシノステロイドも成長調節物質として注目されている。これらは植物の生理に対して広範かつ独特の顕著な作用を誘発させることから、特に植物ホルモンとして分類されている。園芸や育種などの実利面における有用性から、これらホルモンによる生理作用の研究が古くより活発に行われてきた。しかし、植物ホルモンをより有効に活用するためには、ホルモンの作用機構、すなわち植物細胞がどの

ようにしてホルモンを認識するのか、そしてホルモン情報がどのような仕組みで細胞内に伝達され、細胞の応答反応が誘導されるのかについて明らかにする必要がある。

植物ホルモンによる作用機構を解析するためには、ホルモン受容体タンパク質の同定が必要不可欠になる。受容体研究においては、植物ホルモンの中でオーキシンについての研究が先行しているといえる。しかしながら、放射性標識オーキシンの用いた結合実験から、植物細胞には親和性や特異性そして細胞内局在性の異なる多種類のオーキシン結合タンパク質の存在が示されており、受容体研究をより複

表 1. オーキシン結合タンパク質 (ABP) の比較

推定局在部位	起 源	分 子 量 (Da)		解 離 定 数 (μM)	最適 pH	性 質	文 献
		単 量 体	会合体				
小 胞 体	トウモロコシ	21K	42K	0.059 (NAA)	5	構造既知	1-3
原形質膜	トウモロコシ	21K	39K	3.6 (NAA)	5	小胞体 ABP 抗体で検出	4, 5
原形質膜	タバコ	22K		0.27 (NAA)	5	小胞体 ABP 抗体で検出	5, 6
膜 画 分	トウモロコシ	22K, 24K, 43K				5-azido IAA で標識	7
原形質膜	ズ キ ニ	40K, 42K				5-azido IAA で標識	8
原形質膜	ト マ ト	40K, 42K				5-azido IAA で標識	9
膜 画 分	イ ン ネ			0.45 (IAA)	5.5	無酸素下では活性消失	10
葉 緑 体	イ ン ゲ ン	56K/15K		0.8 (IAA)	8	Rubisco	11
葉 緑 体	エ ン ド ウ	55K/14K		1.3 (IAA)	8	Rubisco	11
核	コ コ ナ ツ	94K		7.5 (IAA)	8	転写活性促進効果	12
核	コ コ ナ ツ	70K		0.058 (IAA)	8	転写活性促進効果	13
細胞 質	エ ン ド ウ					転写活性促進効果	14
細胞 質	トウモロコシ					転写活性促進効果	14
細胞 質	タバコ		200K	0.006 (IAA)	7.8	転写活性促進効果	15
細胞 質	ヤ エ ナ リ	47K/15K	390K	3.2 (IAA)	7.5	転写活性促進効果	16
細胞 質	ヤ エ ナ リ	48K	190K	10 (2,4-D)	5.5	転写活性促進効果	17

雑困難にしている(表1)。

ここでは、植物ホルモン結合タンパク質としては初めて遺伝子の単離されたトウモロコシの小胞体に局在するオーキシン結合タンパク質(ABP)を中心に、植物細胞のオーキシン認識機構に関する研究の現状について紹介する。なお、この分野の研究に関しては、いくつかの成書があるので参照されたい¹⁸⁻²¹⁾。

II: 小胞体に局在するABPの構造

植物細胞の膜画分にオーキシンを特異的に結合する部位があることが1972年ドイツのHertel

ら²²⁾によりトウモロコシを材料として見いだされた。そして、細胞分画法により、この結合部位は主に小胞体に存在することが示された²³⁾。この結合部位のオーキシン特異性と細胞の伸長生長促進作用におけるオーキシン特異性との間に相関性が認められること²⁴⁾、更に、この結合部位の消長と組織の伸長生長能との間にも相関性があること²⁵⁾から、オーキシン受容体として機能しているのではないかと考えられた。しかしながら、受容体機能を解析する有効な方法が見いだされなかったことから、しばらくこの分野の研究が低迷していた。

ATCTCATTCCACTCCGACATTACGTCGAGCTGTCGGGAGCAGGCA

ATGGCGCCGGATCTAAGCGAACTCGCCGCCGCCGCTCCAGCCCGTGGCGCCTACCTCGCCGGCGTGGTGTGCGG
M A P D L S E L A A A P A R G A Y L A G V G V A
1 10 20

GTCTCTCTCGCTGCCTCCTTCCCTCCAGTAGCCGAGTCGTCCTGCGTGCGAGATAACTCATTGGTGAGAGACATA
V L L A A S F L P V A E S S C V R D N S L V R D I
30 40 50

AGCCAAATGCCGCAAAGCAGCTATGGGATTGAAGATTGTACATATAACAGTTGCTGGTGCGCTCAATCATGGG
S Q M P Q S S Y G I E G L S H I T V A G A L N H G
60 70

ATGAAGGAGGTGGAAGTGTGGCTTCAGACAATAAGTCCAGGTCAAAGGACGCCAATCCACAGGCATTCTGTGAA
M K E V E V W L Q T I S P G Q R T P I H R H S C E
80 90 100

GAAGTTTTCCTGTCTCAAAGGGAAGGGTACGCTCTTGATGGGATCAAGCTCACTAAAGTACCCAGGGCAGCCA
E V F T V L K G K G T L L M G S S S L K Y P G Q P
110 120

CAGGAAATTCCTTTCTTTCAGAATACCACATTTTCAATCCCTGTAAGTGATCCACACCAGGTTTGGAATTCTGAC
Q E I P F F Q N T T F S I P V S D P H Q V W N S D
130 140 150

GAGCACGAAGATTTCGAAGTTCTTGTGATCATATCGAGACCGCTGCTAAGATATTTTATATGATGATTGGAGC
E H E D L Q V L V I I S R P P A K I F L Y D D W S
160 170

ATGCCTCATACAGCCGCGTACTGAAATTCCTTTCGCTCTGGGATGAGGACTGCTTCGAAGCAGCAAAAGACGAA
M P H T A A V L K F P F V W D E D C F E A A K D E
180 190 200

CTCTAGGTCACAAGTGTTTCTGCAATTTATCTGCTTCATCCATGATCCTGCTGGTGCTGGACTACTACAATTCT
L
201

CAGCACTAGTTGTAATAAAGCCAGTGCCTTTTCATGTATAATTCTGTATTGTGGCTCGCGAAAATAAAATTTGG

CAACGGTTTATGAACTAAAAAAAAA

図1. トウモロコシの小胞体ABP前駆体をコードするcDNAの塩基配列と推定アミノ酸配列(文献2より改図)

↑, プロセッシング部位. ★, 糖鎖付加部位. 下線は小胞体滞留シグナル配列。

1985年ドイツの Klämbt ら³⁾ による抗体を用いた親和クロマト法, 1986年には筆者ら¹⁾ によるオーキシン-セファロースを用いた親和クロマト法により, この結合部位の精製がなされるに至り, オーキシン認識機構を分子レベルで解析するための突破口が開かれた。

この結合部位は分子量約 21 kDa のポリペプチド鎖 2 本からなる 42 kDa タンパク質として可溶化された^{1, 3)}。続いて, 1989年に筆者ら²⁾ 及びドイツの 2 つの研究グループ^{26, 27)} から, この A B P をコードする c D N A 塩基配列が報告された。図 1 に塩基配列より推定される A B P 前駆体のアミノ酸配列を示す。A B P は 201 個のアミノ酸より成る分子量 22 kDa のタンパク質として合成され, 小胞体に入るためのシグナルペプチド (アミノ末端 38 残基) が小胞体内で切断を受けて, 163 個のアミノ酸より成る分子量 18 kDa のタンパク質が作られると考えられる。更に, 小胞体内で糖鎖が付加され見かけの分子量 21 kDa の成熟タンパク質となる^{2, 26)}。

このタンパク質は細胞の膜画分を冷アセトンで脱脂処理することにより容易に可溶化されることから²⁶⁾, 膜内在性タンパク質ではないと考えられた。実際, A B P には, 膜内在性タンパク質の特徴である疎水性アミノ酸の集合した領域がシグナルペプチド以外に認められない (図 1)。

A B P のカルボキシル末端には K D E L という配列が見られる (図 1)。この配列は可溶性タンパク質を小胞体に留めるためのシグナルとして機能することが示されている²⁶⁾。このことから, A B P は小胞体の膜表在タンパク質あるいは内腔内の可溶性タンパク質として存在すると思われ, 細胞内局在性について得られる実験結果と一致する³⁰⁾。

Ⅲ: 小胞体に局在する A B P の抗体による細胞のオーキシン応答阻害

1989年フランスの Barbier-Brygoo ら³¹⁾ は, トウモロコシの小胞体由来の A B P に対する抗体を用いた実験から興味ある現象を発見した。タバコ細胞のプロトプラストの膜電位がオーキシンに応答して変化することが知られているが, Barbier-Brygoo らは, この実験系に A B P に対する抗体を添加するとオーキシン応答が阻害されることを見いだした。

抗体がプロトプラストに取り込まれた後, 小胞体に移行して小胞体の A B P と反応する可能性は考えにくいことから, この抗体による阻害現象は, 細胞内部ではなく細胞の原形質膜表面で生じているオーキシンの作用を特異的に阻害している現象であると考えられる。この阻害現象からは, オーキシン受容体が原形質膜表面に存在すること, そして, このオーキシン受容体と小胞体の A B P とは免疫化学的に類似していることが示唆される。

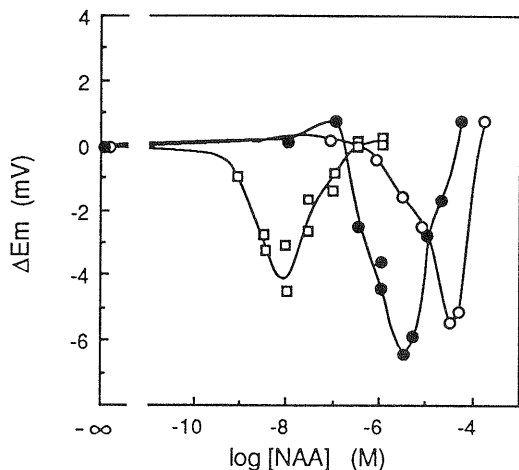
膜電位に対するオーキシンの濃度依存性は, 図 2 に示されているように濃度の上昇とともに分極化が促進されるが, 高濃度では逆に脱分極されるようになる³²⁾。この特異的なオーキシン濃度依存性はオーキシン作用の特徴として古くから知られている現象と極めて良く似ている。例えば, 細胞の伸長生長に対するオーキシン濃度依存性は, このような 2 面性を示す。

抗体が共存すると膜電位変化を誘導するオーキシンの濃度依存性が高濃度側にシフトする (図 2 A)。このように, 抗体による阻害は, 膜電位の最大変化量, すなわちホルモン応答の強度を低下させるのではなく, 細胞のオーキシン濃度依存性を変えるような作用であるといえる。高濃度側へのシフトはオーキシン耐性変異

種細胞のプロトプラストでも観察されている³²⁾。これとは逆に、*Agrobacterium rhizogenes*の感染によりオーキシン感受性が高まった形質転換植物のプロトプラストでは、オーキシ

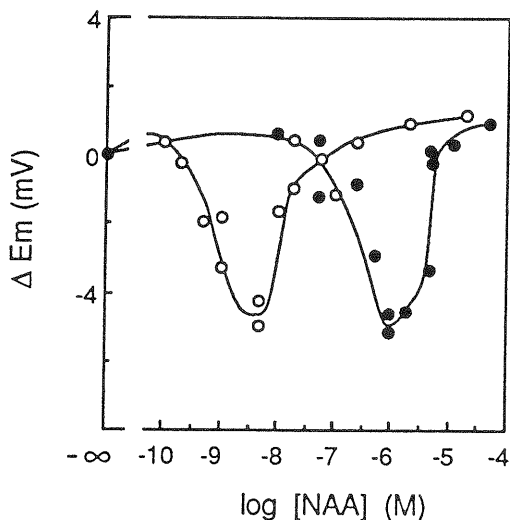
ン濃度依存性が低濃度側にシフトする³³⁾(図2B)。そして、このオーキシン応答反応を阻害するためには、野生種に対するよりもより高濃度の抗体が必要になる(図2C)。オーキシン高感受性形質転換植物に見られるオーキシン濃度依存性の低濃度側へのシフトという現象は、精製したトウモロコシABPを野生種のタバコ・プロトプラストに添加するだけで再現することができる(図2A)。

これらの現象から、細胞間におけるオーキシン感受性の違いは、原形質膜に存在するオーキシン受容体の量に依存していることが強く示唆される。すなわち、受容体の量が増えると感受性が高まり、逆に減少するとオーキシン耐性になると考えられる。更に、トウモロコシ小胞体由来のABPがタバコのオーキシン応答性を変化させることから、原形質膜受容体と小胞体ABPはオーキシン情報の伝達機能において同じ働きをしているといえる。



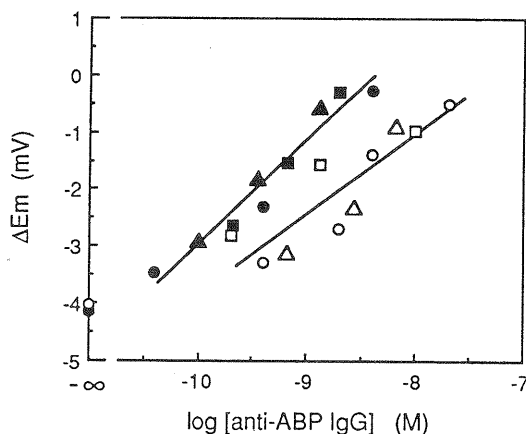
A. 膜電位変化 (ΔE_m) のオーキシン (NAA) 濃度依存性

●, プロトプラスト単独の場合. □, トウモロコシ小胞体より精製したABP 0.1 nM 共存下. ○, ABP に対する抗体 4 nM 共存下.



B. 膜電位変化のオーキシン濃度依存性

●, 野生種のプロトプラスト. ○, *Agrobacterium rhizogenes* の感染によりオーキシン感受性が高まった形質転換体のプロトプラスト.



C. オーキシンで誘導される膜電位変化を阻害するABP抗体 (anti-ABP IgG) の濃度依存性

●, ■, ▲, 1 μ M NAA により誘導される野生種プロトプラストの膜電位変化. ○, □, △, 5 nM NAA により誘導される形質転換体プロトプラストの膜電位変化.

図2. タバコ細胞プロトプラストのオーキシシンに応答した膜電位変化に及ぼすABPまたはABP抗体の添加効果^{32, 33)}

IV: 原形質膜オーキシシン受容体と小胞体

ABPは同一タンパク質か

原形質膜のオーキシシン受容体と小胞体のABPが同一のタンパク質である可能性が上に示した現象から示唆される。しかし、同一のタンパク質であると仮定した場合、幾つかの矛盾点が生じる。すなわちABPのカルボキシル末端には小胞体に留まるためのシグナル配列が存在することから、原形質膜表面に分泌されるには、この配列領域が修飾されたり切断を受ける必要がある²⁹⁾。

トウモロコシよりABPを精製すると、分子量が1kDa小さいABPがマイナー成分として常に含まれていることが知られている^{1, 34)}。このタンパク質がカルボキシル末端の切られたABPであるかについては明らかではない。しかし、このABPも小胞体画分に存在しているタンパク質であることが示されている³⁰⁾。また、筆者らはABP cDNAの中で、ポリペプチド内部に6個のアミノ酸配列(図1における79-84番目のアミノ酸残基)を欠失させるような塩基配列をもつcDNAを得ている²⁾。このcDNAがサイズの小さいABPをコードする遺伝子に

由来した可能性も残されている。

カルボキシル末端の配列が小胞体滞留シグナルとして不完全であり、徐々に細胞外へ分泌されていく可能性も考えられる²⁹⁾。ズキニの小胞体にはオーキシシン結合活性が認められないことが報告されている³⁵⁾。このことから、単子葉植物であるトウモロコシのABPのみに、小胞体滞留シグナルと類似の配列が進化の間に偶然生じた可能性も考えられる。そこで、筆者らは、双子葉植物であるシロイヌナズナのABPをコードする遺伝子のクローニングを行い、単子葉と双子葉植物間の構造を比較した所、このシグナル配列が保存されていることが明らかになった³⁶⁾。このことから、ABPにおいて、この配列は重要な意味をもっているものと思われる。

最近、筆者らは⁶⁾、トウモロコシ細胞抽出液の可溶性画分にも小胞体ABPと分子量、免疫化学的に類似するABPを検出した。このタンパク質にも糖鎖が付加されていることから、元々小胞体で合成されたものであるといえる。しかし、トウモロコシの齢とともに小胞体ABP量が減少するのに対して、可溶性画分のABPが相対的に増加することから、この可溶性画分

に見られるABPは、小胞体から細胞外に分泌されたタンパク質の可能性も残されている(図3)。

既に述べたように、小胞体ABP自体は可溶性タンパク質の特徴を示す。原形質膜受容体として機能すると仮定した場合、オーキシシン情報を細胞に伝達するためには、原形質膜に結合し

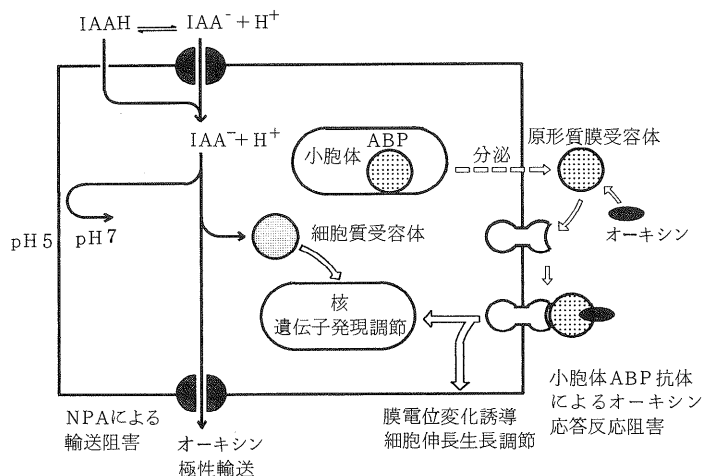


図3. 植物細胞のオーキシシン認識機構に関する推定図

ない。しかし、膜内在性タンパク質とは考えにくいことから、恐らく他の原形質膜タンパク質（ABP受容体）と相互作用し、この膜タンパク質を仲介としてオーキシン情報を細胞に伝達するのであろう（図3）。この相互作用が細胞破碎時に切られた場合、ABPは原形質膜画分には認められなくなり、その代わり、可溶性画分に認められるようになるであろう。

筆者らは、タバコからも分子量および免疫化学的にトウモロコシABPと類似するABPを検出している⁵⁾。しかし、タバコにおいては、ズキニと同じく小胞体に認められず、原形質膜にそれが認められた。タバコではABPが細胞抽出で破壊されない程度の強さで原形質膜タンパク質と相互作用しているのかもしれない。しかしながら、タバコと同じ双子葉植物であるシロイヌナズナのABPには小胞体滞留シグナルが存在する³⁰⁾にも拘わらず、双子葉植物では小胞体にABPが見いだされない理由について現在のところ明らかではない。

V: 多種類のオーキシン結合タンパク質が

細胞に存在している理由

表1に示すように、小胞体ABPとは分子量やオーキシンに対する親和性そして特異性の異なるABPが可溶性画分、核、葉緑体、液胞膜、原形質膜など細胞内の多くの小器官に分布していることが知られている。

オーキシンの親和性を示すタンパク質としてはオーキシン受容体に加え、オーキシン合成と分解に預かる酵素類、オーキシンの輸送を仲介する輸送担体などが考えられる。更に、オーキシンが特定の酵素タンパク質に対してアロステリック・エフェクターとして作用する可能性も否定できない。また、試験管内という非生理的

条件下で人工的に作られたオーキシン結合活性を見ている可能性もある³⁰⁾。これらを区別するためには、それぞれのABPの性質を更に詳細に調べる必要がある。

細胞内にもオーキシン受容体が存在すると仮定するためには、オーキシンが細胞内に取り込まれることを示さなければならない。実際、オーキシン（インドール-3-酢酸：IAA）は弱酸性の脂溶性化合物であることから原形質膜を単純拡散により容易に透過することができると考えられる（図3）。一方、細胞質pHは中性付近にあり、このpHにおいてはオーキシン分子のカルボキシル基のほとんどが解離型として存在する。解離型オーキシンは非解離型オーキシンより膜透過性が1,000倍以上低いことから、細胞内にオーキシンが蓄積されることになる（図3）。

一方、オーキシンには植物体の形態学的な極性に沿った輸送、すなわち、地上部の先端から根の方向に向かって1~2cm/時程度の非常にゆっくりとした移動が観察されている。この移動は、導管や篩管などの通道器官を介さない細胞-細胞間の移動である。この極性輸送という現象については、細胞内に取り込まれたオーキシンを再び細胞外に放出する輸送担体が存在し、この輸送担体は細胞の原形質膜上で偏った分布をしている、すなわち、細胞の基底部に多く存在するために生じたと説明されている³⁰⁾。

オーキシンの極性輸送がN-1-ナフチルフトール酸（NPA）により特異的に阻害されることが知られている（図3）。この極性輸送阻害剤は細胞へのオーキシン取り込み系には作用せず、専ら、オーキシン放出系のみを阻害する。そして、この阻害剤受容体は原形質膜タンパク質として、細胞の基底部に偏って分布している

ことが抗体標識法により示されたことから³⁹⁾、上記の仮説は妥当であると考えられている。

極性輸送に加え、オーキシンは重力方向への輸送も行われている可能性が示されている。植物の重力屈性という現象に対して、オーキシン濃度勾配の形成が原因すると考えられている。これは Cholodony-Went 仮説として古くから提唱されている仮説である。極性輸送に關与する輸送系と重力に感応した輸送系とが同じものであるかについては明らかでない。最近、細胞の重力感応に關係すると思われる A B P が検出されている。それは、地上部の組織が重力に対して非感受性になったトマト変異種 (*diageotropica*) を用いてなされた⁹⁾。この変異種の茎の細胞には、オーキシンの光親和標識誘導体 (5-azido I A A) によりラベルされる分子量 40 と 42 kDa の原形質膜タンパク質が欠失していることが示された。一方、この変異種の根は正常な重力屈性を示し、かつ、これらのタンパク質が野生種と同じように存在していることも示された⁹⁾。このことから、オーキシンで光親和標識される 40 と 42 kDa タンパク質は重力に感応したオーキシン輸送系または細胞の重力感応と密接な關係をもつオーキシン受容体である可能性が高いと思われる。これらの A B P は分子量および免疫化学的に小胞体 A B P とは異なることから (表 1)、その構造解析がなされることを期待する。

既に述べたように、オーキシンは単純拡散により容易に細胞内に取り込まれることができる。更に、低濃度オーキシンを積極的に細胞内に取り込む能動輸送担体の存在も知られている⁴⁰⁾ (図 3)。このことから、オーキシンが細胞内に取り込まれた後にホルモン作用を発揮する可能性を否定することはできない。細胞内の小器

官や細胞質に見いだされている種々の A B P がそのような細胞質受容体として機能している可能性も残されている。例えば、ヤエナリの可溶性 A B P が核の遺伝子発現調節因子である可能性について検討がなされている⁴¹⁾。

一方、オーキシンを牛血清アルブミンやセファロースに共有結合させた固定化オーキシンを用いた実験も Venis ら⁴²⁾により報告された。これら固定化オーキシンは細胞内に取り込まれず細胞表面でのみ作用すると考えられるが、興味あることに、固定化オーキシンでも遊離のオーキシンと同じようにプロトプラストの膜電位変化を誘導することが明らかにされた⁴²⁾。このことは、オーキシンが細胞の外からホルモン情報を細胞内に伝達している可能性を強く示唆している。これら固定化オーキシンが原形質膜上で生じる膜電位変化以外に、例えば、細胞内部の核における遺伝子発現の調節にも作用しているという証拠が得られるならば、原形質膜受容体のみに焦点をあてることができ、受容体研究をより単純化することになるかもしれない。

茎や幼葉鞘の生長や屈性現象が表皮細胞の伸長生長調節に依存しているといわれている。小胞体 A B P については、その組織分布が調べられており、このタンパク質は表皮細胞に濃縮して存在し、内部の他の細胞よりも約 7 倍高濃度で存在する^{30, 43)}。一方、液胞膜に存在するオーキシン結合部位は小胞体のものと異なり、内部の細胞と表皮細胞間でその分布に差がない³⁰⁾。このような分布の違いはオーキシン作用において互いに異なる役割を演じている可能性を示唆している。一方、表皮細胞のオーキシン濃度が内部の細胞よりも 2 倍以上高いことが、オーキシンの光親和標識誘導体を用いた実験から示されている⁴⁴⁾。隣接する細胞間でもオーキシン濃

度勾配を形成するような仕組みが備わっているであろう。

VI: お わ り に

以上述べたように、原形質膜表面にオーキシン受容体が存在する可能性を示す証拠が蓄積されてきている。しかしながら、小胞体に存在する A B P が、この原形質膜受容体の前駆体であるのかどうか、更に、細胞内に認められている多種類の A B P も、細胞内受容体としてそれぞれ異なる機能を担っているのかについては、更に詳細な研究がなされる必要がある。特に、分化した細胞においてオーキシン応答が異なることから、1種類のオーキシン認識機構や情報伝達機構のみでこれらの細胞間の特異性を説明でき得るのかも明らかにする必要がある。植物ホルモンの中でオーキシン特有の作用として知られる頂芽優性や屈性などが、オーキシンの細胞間輸送の結果形成されるオーキシン濃度勾配に基づくとしても、このオーキシンの細胞内への取り込みそして放出という機構が単に輸送のみのために働くのか、それとも輸送に伴い何らかのホルモン情報が細胞に伝達されるのか、多くの解明すべき問題点が残されている。

このように、植物ホルモンの認識および情報伝達機構に関しては、動物や微生物の系と比較して、ほとんど明らかにされていないのが現状である。しかし、ここ数年分子レベルでの解析が内外で活発に行われるようになったことから、近い将来、この未知の分野の全貌が明らかにされるものと期待される。

引 用 文 献

- 1) Shimomura, S., T. Sotobayashi, M. Futai and T. Fukui: Purification and

properties of an auxin-binding protein from maize shoot membranes. *J. Biochem.*, 99, 1513-1524 (1986).

- 2) Inohara, N., S. Shimomura, T. Fukui and M. Futai: Auxin-binding protein located in the endoplasmic reticulum of maize shoots: molecular cloning and complete primary structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 3564-3568 (1989).
- 3) Löbner, M. and D. Klämbt: Auxin-binding protein from coleoptile membranes of corn (*Zea mays* L.), I. Purification by immunological methods and characterization. *J. Biol. Chem.*, 260, 9848-9853 (1985).
- 4) Murphy, G. J. P.: Naphthaleneacetic acid binding by membrane-free preparations of cytosol from the maize coleoptile. *Plant Sci. Lett.*, 19, 157-168 (1980).
- 5) 下村正二: 小胞体と原形質膜に存在するオーキシン結合タンパク質の比較. 日本植物生理学会 1990年度年会 講演要旨集 p.97 (1990).
- 6) Nakamura, C. and H. Ono: Solubilization and characterization of a membrane-bound auxin-binding protein from cell suspension cultures of *Nicotiana tabacum*. *Plant Physiol.*, 88, 685-689 (1988).
- 7) Jones, A. M. and M. A. Venis: Photoaffinity labeling of indole-3-acetic acid-binding proteins in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 6153-6156 (1989).
- 8) Hicks, G. R., D. L. Rayle, A. M. Jones and T. L. Lomax: Specific photoaffinity labeling of two plasma membrane polypeptides with an azido auxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 4948-4952 (1989).

- 9) Hicks, G.R., D.L. Rayle and T.L. Lomax: The *diageotropica* mutant of tomato lacks high specific activity auxin binding sites. *Science*, 245, 52-54 (1989).
- 10) Zaina, S., A. Bertani, L. Lombardi, S. Mapelli and G. Torti: Membrane-associated binding sites for indoleacetic acid in the rice coleoptile. *Planta*, 179, 222-227 (1989).
- 11) Wardrop, A.J. and G.M. Polya: Co-purification of pea and bean leaf soluble auxin-binding proteins with ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *Plant Physiol.*, 66, 105-111 (1980).
- 12) Mondal, H., R.K. Mandal and B.B. Biswas: RNA stimulated by indole acetic acid. *Nature New Biol.*, 240, 111-113 (1972).
- 13) Roy, R. and B.B. Biswas: A receptor protein for indoleacetic acid from plant chromatin and its role in transcription. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 74, 1597-1606 (1977).
- 14) Venis, M.A.: Stimulation of RNA transcription from pea and corn DNA by protein retained on Sepharose coupled to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68, 1824-1827 (1971).
- 15) Van der Linde, P.C.G., H. Bouman, A.M. Mennes and K.R. Libbenga: A soluble auxin-binding protein from cultured tobacco tissues stimulates RNA synthesis in vitro. *Planta*, 160, 102-108 (1984).
- 16) Sakai, S. and T. Hanagata: Purification of an auxin-binding protein from etiolated mung bean seedlings by affinity chromatography. *Plant Cell Physiol.*, 24, 685-693 (1983).
- 17) Sakai, S.: Auxin-binding protein in etiolated mung bean seedlings: purification and properties of auxin-binding protein-II. *Plant Cell Physiol.*, 26, 185-192 (1985).
- 18) 下村正二: 細胞膜のオーキシン結合タンパク質の構造と機能. 植物の化学調節, 25, 28-39 (1990).
- 19) Klämbt, B.: A view about the function of auxin-binding proteins at the plasma membranes. *Plant Mol. Biology*, 14, 1045-1050 (1990).
- 20) Napier, R.M. and M.A. Venis: Receptors for plant growth regulators: recent advances. *J. Plant Growth Regul.*, 9, 113-126 (1990).
- 21) Napier, R.M. and M.A. Venis: From auxin-binding protein to plant hormone receptor?, *TIBS*, 16, 72-75 (1991).
- 22) Hertel, R., K.-St. Thomson and V. E.A. Russo: In-vitro auxin binding to particulate cell fractions from corn coleoptiles. *Planta*, 107, 325-340 (1972).
- 23) Ray, P.M.: Auxin-binding sites of maize coleoptiles are localized on membranes of the endoplasmic reticulum. *Plant Physiol.*, 59, 594-599 (1977).
- 24) Ray, P.M., U. Dohrmann and R. Hertel: Specificity of auxin-binding sites on maize coleoptile membranes as possible receptor sites for auxin action. *Plant Physiol.*, 60, 585-591 (1977).
- 25) Walton, J.D. and P.M. Ray: Evidence for receptor function of auxin binding sites in maize. *Plant Physiol.*, 68,

- 1334-1338 (1981).
- 26) Hesse, T., J. Feldwisch, D. Balshüsemann, G. Bauw, M. Puype, J. J. Vandekerckhove, M. Löbler, D. Klämbt, J. Schell and K. Palme: Molecular cloning and structural analysis of a gene from *Zea mays* (L.) coding for a putative receptor for the plant hormone auxin. *EMBO J.*, 8, 2453-2461 (1989).
 - 27) Tillmann, U., G. Viola, B. Kayser, G. Siemeister, T. Hesse, K. Palme, M. Löbler and D. Klämbt: cDNA clones of the auxin-binding protein from corn coleoptiles (*Zea mays* L.): isolation and characterization by immunological methods. *EMBO J.*, 8, 2463-2467 (1989).
 - 28) Venis, M. A.: Solubilisation and partial purification of auxin-binding sites of corn membranes. *Nature*, 266, 268-269 (1977).
 - 29) Pelham, H. R. B.: The retention signal for soluble proteins of the endoplasmic reticulum. *TIBS*, 15, 483-486 (1990).
 - 30) Shimomura, S., N. Inohara, T. Fukui and M. Futai: Different properties of two types of auxin-binding sites in membranes from maize coleoptiles. *Planta*, 175, 558-566 (1988).
 - 31) Barbier-Brygoo, H., G. Ephritikhine, D. Klämbt, M. Ghislain and J. Guern: Functional evidence for an auxin receptor at the plasmalemma of tobacco mesophyll protoplasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 891-895 (1989).
 - 32) Barbier-Brygoo, H., J. Guern, G. Ephritikhine, W. H. Shen, C. Maurel and D. Klämbt: The sensitivity of plant protoplasts to auxins: modulation of receptors at the plasmalemma. 'Plant Gene Transfer (C. Lamb and R. Beachy, eds)', pp. 165-173, Alan R. Liss Inc. (1990).
 - 33) Barbier-Brygoo, H., G. Ephritikhine, W. H. Shen, A. Delbarre, D. Klämbt and J. Guern: Characterization and modulation of the sensitivity of plant protoplasts to auxin. 'Transducing Pathways: Activation and Desensitisation (T. M. Konijin, M. D. Houslay and P. J. M. van Haastert, eds)', pp. 231-234, Springer-Verlag (1990).
 - 34) Napier, R. M., M. A. Venise, M. A. Bolton, L. I. Richardson and G. W. Butcher: Preparation and characterisation of monoclonal and polyclonal antibodies to maize membrane auxin-binding protein. *Planta*, 176, 519-526 (1988).
 - 35) Jacobs, M. and R. Hertel: Auxin binding to subcellular fractions from *Cucurbita* hypocotyls: in vitro evidence for an auxin transport carrier. *Planta*, 142, 1-10 (1978).
 - 36) 劉 威・猪原直弘・下村正二・二井将光: *Arabidopsis thaliana* のオーキシン結合タンパク質遺伝子の単離と構造解析. 生化学, 62, p. 979 (1990).
 - 37) Venis, M. A.: Hormone-binding studies and the misuse of precipitation assays. *Planta*, 162, 502-505 (1984).
 - 38) Goldsmith, M. H. M.: The polar transport of auxin. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 28, 439-478 (1977).
 - 39) Jacobs, M. and S. F. Gilbert: Basal localization of the presumptive auxin transport carrier in pea stem cells. *Science*, 220, 1297-1300 (1983).

- 40) Lomax, T.L., R.J. Mehlhorn and W.R. Briggs, : Active auxin uptake by zucchini membrane vesicles : quantitation using ESR volume and Δ pH determinations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 6541-6545 (1985).
- 41) Kikuchi, M., H. Imaseki and S. Sakai: Modulation of gene expression in isolated nuclei by auxin-binding proteins. *Plant Cell Physiol.*, 30, 765-773 (1989).
- 42) Venis, M.A., E.W. Thomas, H. Barbier-Brygoo, G. Ephritikhine and J. Guern: Impermeant auxin analogues have auxin activity. *Planta*, 182, 232-235 (1990).
- 43) Löbner, M. and D. Klämbt: Auxin-binding protein from coleoptile membranes of corn (*Zea mays* L.). II. Localization of a putative auxin receptor. *J. Biol. Chem.*, 260, 9854-9859 (1985).
- 44) Jones, A.M.: Location of transported auxin in etiolated maize shoots using 5-azidoindole-3-acetic acid. *Plant Physiol.*, 93, 1154-1161 (1990).

タイヌビエのむれ苗症状

1960年ころ、研究室で早春に容器に土を詰めタイヌビエを育てていたところ、急に立枯れ症状が出て枯れてしまった。そのときは原因がよく分からなかったが、後にイネのむれ苗症状を見て、タイヌビエもむれ苗になったのではなしかと想像した。

イネのむれ苗は、土壤酸度が中性寄りの畑苗代で早朝 5～10℃ くらいの低温に 1～2 回遭った後に晴天になるような条件の下で急に葉が萎ちょうして枯死するという生理障害である。病害の分野ではこれにピシウム属菌による立枯れ病を充てているが、これは、むれ苗の発生がピシウム属菌と関係のあることを認めたもので、むれ苗は即ピシウム属菌による立枯れ病だと言っているのではない。

むれ苗の発生機構については定説はないようであるが、種々な面から解明されていて、低温がイネの病原細菌に対する抵抗性を弱めるのではないかという推論もある。それより前に、西

潟高一氏の亜硝酸説（北農試い報70, 1956）があったが、今では余り関心が持たれていないようである。

湛水土中における窒素の動きの中で亜硝酸が発生して作物の根に障害を与えることが知られている（渡辺ら、関東東山農試研報2, 1951）が、畑苗代で亜硝酸が発生してイネの根に障害を与えるのがむれ苗発生の原因だというのが亜硝酸説である。根にその障害が出た後でピシウム属菌が侵入、増殖するとすれば、亜硝酸がこの立枯れ病の発生の引き金になっていると言えるだろう。

それにしても、土壤酸度、低温、畑水分の各条件はどのようにむれ苗の発生に関与しているのでしょうか。むれ苗に卓効のあるヒドロキシイソキサゾールが使える現在でも、むれ苗の発生機構には依然として関心が持たれる。

（財）日本植物調節剤研究協会 技術顧問 片岡孝義）