

生理活性物質の膜輸送を介した作用メカニズム

渡邊 俊介¹, 清水 崇史², 瀬尾 光範³

¹Biochemistry and Plant Molecular Physiology Research Unit, UMR INRAE CNRS SupAgro
2 Place Pierre Viala, 34060 Montpellier cedex 02, France

²奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術科
〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5

³理化学研究所 環境資源科学研究センター
〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町 1-7-22

Mode of action of bioactive molecules through transmembrane transport

Shunsuke Watanabe¹, Takafumi Shimizu², Mitsunori Seo³

¹Biochemistry and Plant Molecular Physiology Research Unit, UMR INRAE CNRS SupAgro
2 Place Pierre Viala, 34060 Montpellier cedex 02, France

²Graduate School of Science and Technology, Nara Institute of Science and Technology
8916-5 Takayama, Ikoma, Nara, 630-0192, Japan

³IKEN Center for Sustainable Resource Science
1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi-ku, Yokohama, Kanagawa, 230-0045, Japan

Keywords: abscisic acid (ABA), auxin, indole-3-butyric acid (IBA), NPF, plant hormones

DOI: 10.24480/bsj-review.13b6.00229

1. はじめに

生体内で作られ出される多種多様な化合物は、自身や他の生物の生命活動に様々な形で用いられている。いずれの場合にも、細胞もしくは細胞内小器官の内外を仕切る生体膜を介した化合物の移動を必要とする場合が多い。化合物の膜輸送を司る因子、すなわち「輸送体」に関する研究は精力的に進められているが、生体内に存在すると考えられる化合物の数、もしくはゲノム情報から推測される輸送体タンパク質の数に比べ、機能（輸送基質）が明らかにされている輸送体の数は圧倒的に少ない。

私たちは、植物ホルモンに代表される低分子生理活性物質に着目し、その輸送体の同定に取り組んでいる。ダーウィンの実験でもよく知られているように、オーキシシン (indole-3-acetic acid; IAA) は植物体内を極性輸送される。1990年代頃からオーキシシンの輸送に欠陥を持つ変異体が形態異常や、外生オーキシシンに対する感受性を指標として数多く単離され、その解析を通して現在までに PIN, AUX, ABC 型に分類される複数の輸送体によってオーキシシンの輸送が複雑に制御されている様子が明らかになってきている (Benjamins and Scheres 2008; Petrasek and Friml 2009; Grones and Friml 2015; Anfang and Shani 2021)。これに対し、他の植物ホルモンに関しては同位体ラベルした化合物の投与や接木実験などから植物体内を輸送される事が示唆されているものもあるが、その制御機構については不明な点が多い。この様な状況の中、私たちは NPF と呼ばれるタンパク質ファミリーが複数の植物ホルモンの輸送に関与

する事をこの 10 年ほどの間に明らかにしてきたので、本稿ではその一部について紹介したい。

2. 乾燥に応答した気孔の閉鎖とアブシシン酸 (ABA)

ABA の代表的な生理作用の一つとして、気孔の閉鎖誘導が挙げられる。葉の水分含量を変えず、根の一部にのみ乾燥を与えた場合にも気孔の閉鎖が誘導される事、またこの時に道管中の ABA 濃度の上昇が見られる事から「根で合成された ABA が道管を通して地上部に運ばれて気孔の閉鎖を誘導する」という考えが長い間受け入れられてきた (Davies and Zhang 1991; Jiang and Hartung 2008; Schachtman and Goodger 2008; Christmann et al. 2013)。しかしながらその後の ABA 欠損変異体を用いた接木実験などでは、気孔の閉鎖は地上部の ABA 生合成能力に大きく依存するという報告が多数なされている (Holbrook et al. 2002; Christmann et al. 2007; McAdam et al. 2016)。さらに、シロイヌナズナにおいて ABA 生合成の鍵酵素である NCED3 とそれに続く細胞質内での ABA 生合成最終段階の反応を触媒する ABA2, AAO3 といった酵素が葉の維管束周辺の細胞に多く分布している事などから (Endo et al. 2008; Kuomori et al. 2014), 乾燥に応答して ABA が主に葉の維管束組織で合成されると考えられるようになっていく。実際に、シロイヌナズナ ABA 欠損変異体 *aba2* において正常な *ABA2* 遺伝子を維管束組織 (師部伴細胞) 特異的に発現させる事により、その表現型が回復する事が確認されている (Merilo et al. 2018)。これらの事は、維管束組織で合成された ABA が孔辺細胞へと輸送され、気孔の閉鎖を誘導する事を示唆している。

3. ABA 輸送体

孔辺細胞は、原形質連結 (プラスモデスマータ) を持たない。また、ABA 受容体は細胞膜上に存在する可能性も考えられていたが、現在では細胞質もしくは核内で機能する可溶性タンパク質である PYR1/PYL/RCAR が主要な ABA 受容体である事が明らかになっている (Rodriguez et al. 2019)。そのため、維管束周辺の細胞で合成された ABA が受容体に認識され気孔の閉鎖を誘導するためには、ABA が一度細胞外に排出され孔辺細胞内に取り込まれるという過程が必要になる。ABA は pK_a 値 4.7 の弱酸であり、溶液中では pH に依存してカルボキシル基がイオン化する解離型 (COO^-) と非解離型 ($COOH$) の 2 つの形態の存在比が変化する。非解離型の ABA は比較的脂溶性が高く、拡散によって細胞膜を通過する事ができる。また、オーキシン輸送体の多くが形態異常やオーキシン低感受性を示す変異体の解析を通して同定されてきたのに対し、ABA の輸送に欠陥を持つ変異体はいわゆる順遺伝学的手法では単離されてこなかった。これらの事から、ABA の細胞膜を介した移動に能動的な仕組みが必要であるかどうかは長らく不明であった。

このような状況の中、私たちは ABA の生体膜を介した移動を仲介する因子、すなわち輸送体 (トランスポーター) となり得るタンパク質を活性に基づいて網羅的にスクリーニングする方法を、ABA 受容体 PYR1/PYL/RCAR がリガンド依存的に PP2C タンパク質ホスファターゼと相互作用するという報告 (Park et al. 2009) から着想を得て構築した。すなわち、ABA 受容体と PP2C の相互作用を検出する酵母 two-hybrid (Y2H) 系を確立し、そこに ABA を細胞内

に取り込む輸送体を発現させた場合には、選択培地上での酵母の生存が通常より低濃度の ABA 存在下で可能になると期待したのである (図 1)。これに基づいて、シロイヌナズナの cDNA ライブラリーを用いたランダムなスクリーニングを行った結果、低親和性の硝酸イオン輸送体として知られている NRT1 (NITRATE TRANSPORTER 1) タンパク質を含むファミリーメンバー (Tsay et al. 2007; Leran et al. 2014; Corratge-Faillie and Lacombe 2017) のいくつかは、細胞内に ABA を取り込む活性を持つ事を明らかにした (Kanno et al. 2012)。NRT1 が属する輸送体ファミリーは動物の SLC15 (Solute Carrier 15) に相当し、シロイヌナズナには 53 のメンバーが存在する。その中には、小ペプチド (主にジペプチドとトリペプチド) の輸送体 (PEPTIDE TRANSPORTER; PTR) として機能するタンパク質が存在する事も報告されている (Tsay et al. 2007; Leran et al. 2014; Corratge-Faillie and Lacombe 2017)。私たちは当初 ABA 輸送活性を持つ当該ファミリーメンバーに AIT (ABA-IMPORTING TRANSPORTER) という名前を付けたが、後述する通り同一のタンパク質が複数の化合物を輸送する可能性がある事から、基質に基づいた命名は後に混乱を引き起こす事が懸念された。そのため、NRT1 と PTR を含む輸送体ファミリー全体を NRT1/PTR FAMILY (NPF) として系統的に 8 つのサブファミリーに分類し、NPF1.1, NPF1.2, . . . NPF8.1, NPF8.2, . . . という様に統一した呼び方をする事が提案されている (Leran et al. 2014)。私たちが酵母で確認した中では、NPF4.6 が ABA に対して比較的高い輸送活性を示した。NPF4.6 は過去の研究で硝酸イオン輸送体としての機能が明らかにされていた NRT1.2 (Huang et al. 1999) と同一のタンパク質であるが、ABA に対する K_m 値が $0.5\sim 5 \mu\text{M}$ と比較的低い (Kanno et al. 2012; Leran et al. 2020) (硝酸イオンに対する K_m 値は約 5.9mM)。さらに NPF4.6 の機能を失った変異体 (*npf4.6*) において発芽時の外生 ABA に対する感受性が低下している事、NPF4.6 の過剰発現により発芽時の外生 ABA に対する感受性が高まる事から、NPF4.6 が植物体内で ABA 輸送体として機能し得る事が示された (Kanno et al. 2012)。

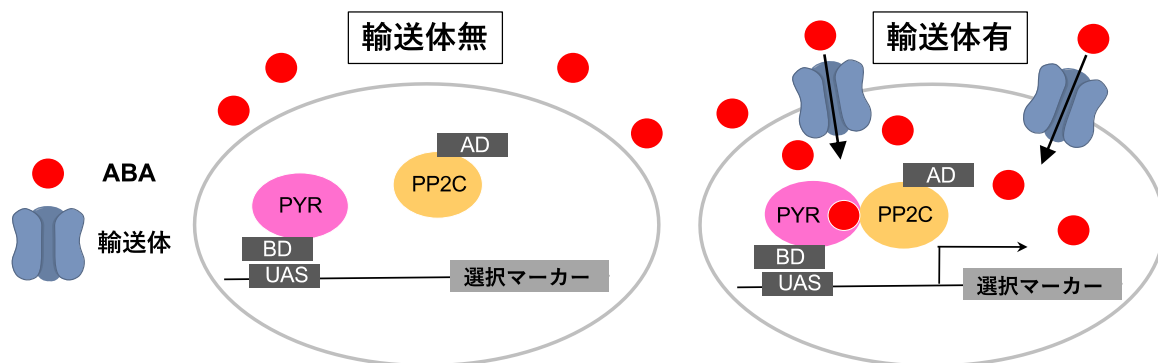


図 1. ABA 受容体 (PYR) と PP2C タンパク質ホスファターゼの ABA 依存的な相互作用を検出する Y2H 系を用いた輸送体の同定

ここで本題に入る。NPF4.6 は、維管束組織から孔辺細胞への ABA の輸送に関与しているのであるか? *npf4.6* 単独変異体においては葉の表面温度に関して野生型との違いが見られないが、ABA の内生量が減少した (完全には欠損しない) *aao3* 変異体と *npf4.6* を掛け合わせた二重変異体においては *aao3* 単独変異体に比べて葉の表面温度が低下する (Shimizu et al.

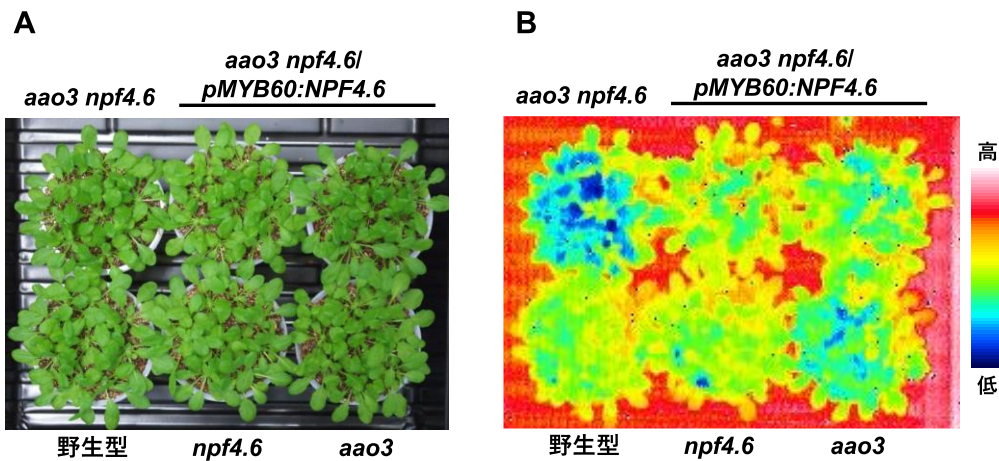


図 2. *npf4.6* 変異の葉の表面温度に対する影響

(A) 発芽後約 1 ヶ月の野生型, *npf4.6*, *aao3*, *aao3 npf4.6* および *aao3 npf4.6* 背景で孔辺細胞特異的に正常な *NPF4.6* を発現させる形質転換植物 (*aao3 npf4.6/pMYB60:NPF4.6*)。 (B) サーモグラフィーで観察した表面温度。

2021) (図 2)。このことから, *NPF4.6* は気孔の閉鎖を促進する働きを持つと考えられる。*NPF4.6* のゲノム配列の下流に *GUS* を挿入し, 自身のプロモーターで *NPF4.6* と *GUS* の融合タンパク質を発現させる形質転換体 (*pNPF4.6:gNPF4.6-GUS*) において, 維管束組織および孔辺細胞で *GUS* 活性が検出された (Shimizu et al. 2021) (図 3)。*NPF4.6* は細胞内に ABA を取り込む活性を持つ事 (Kanno et al. 2012), *aao3 npf4.6* において気孔の開度が *aao3* に比べて高まる (葉の表面温度が低下する) 事 (Shimizu et al. 2021) を考えると, 孔辺細胞における ABA の取り込みが *NPF4.6* の主要な働きであると予想された。この事は, *aao3 npf4.6* 二重変異体背景で, 正常な *NPF4.6* 遺伝子を孔辺細胞特異的な *MYB60* プロモーターで発現させると気孔の閉鎖が促進する (葉の表面温度が高まる) という実験結果 (Shimizu et al. 2021) (図 3) からも支持される。維管束組織で発現している *NPF4.6* の生理的な機能については現時点で不明であるが, 生合成部位から孔辺細胞へと輸送される ABA 量の制御等に関与している可能性などが考えられる。

前述の通り, 輸送活性に強弱はあるものの *NPF4.6* 以外にも複数の *NPF* が ABA を基質とする (Kanno et al. 2012; Chiba et al. 2015)。そのうちの *NPF5.1* に関しては, 機能欠失変異体 (*npf5.1*) において葉の表面温度が野生型よりも高い (気孔開度が低い) 事が明らかになった

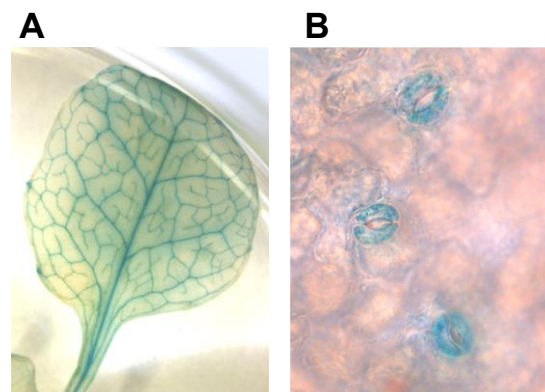


図 3. *NPF4.6* タンパク質の局在部位

NPF4.6 プロモーター支配下で *NPF4.6* と *GUS* の融合タンパク質を発現させる形質転換体における *GUS* 染色。(A) ロゼット葉。(B) 表皮の拡大写真。

(Shimizu et al. 2021) (図 4)。この事は、NPF5.1 が気孔の閉鎖を負に制御する因子である事を意味している。NPF5.1 は NPF4.6 と同様に、酵母においては細胞内への ABA の取り込みを仲介する (Shimizu et al. 2021)。NPF5.1 の過剰発現により発芽時の ABA に対する感受性が高まる事からも、NPF5.1 が植物体内で ABA 取り込み輸送体として機能するという事が支持される (Shimizu et al. 2021)。それでは何故、同じ ABA 取り込み輸送体としての機能を持つ NPF4.6 と NPF5.1 の機能欠失が気孔の開度に関して反対の表現型を示すのであろうか？それはおそらく、二つのタンパク質の機能部位の違いによるものであると考えられる。前述の通り NPF4.6 が孔辺細胞で ABA の取り込みに関与している一方で、NPF5.1 の発現は少なくともプロモーター活性に基づくと葉肉細胞や維管束組織など広範囲で見られる (図 5)。これらの事から、NPF5.1 は維管束組織から孔辺細胞へと輸送される ABA を葉肉細胞や維管束組織に取り込む事で気孔の閉鎖を抑制しており、*npf5.1* においては細胞間を通して維管束組織から孔辺細胞へ辿り着く ABA の量が増大する事で気孔が閉鎖すると考えられる (図 6)。*npf4.6 npf5.1* 二重変異体と野生型の葉の表面温度が同程度である事 (図 2) は、NPF4.6 による孔辺細胞への ABA の取り込みが気孔閉鎖において重要である事を改めて意味している。

長らくその実態が不明であった ABA の輸送メカニズムであるが、ここで紹介した NPF4.6、NPF5.1 を含め、実に多くの ABA 輸送体が近年になって続々と報告されている (Kuromori et al. 2018; Seo and Marion-Poll 2019; Anfang and Shani 2021)。本稿では主に気孔閉鎖に焦点を当て ABA 輸送の必要性を考えてきたが、これまでに知られている多様な ABA の生理作用と照らし合わせると複数の ABA 輸送体の存在意義がより鮮明になるであろう。

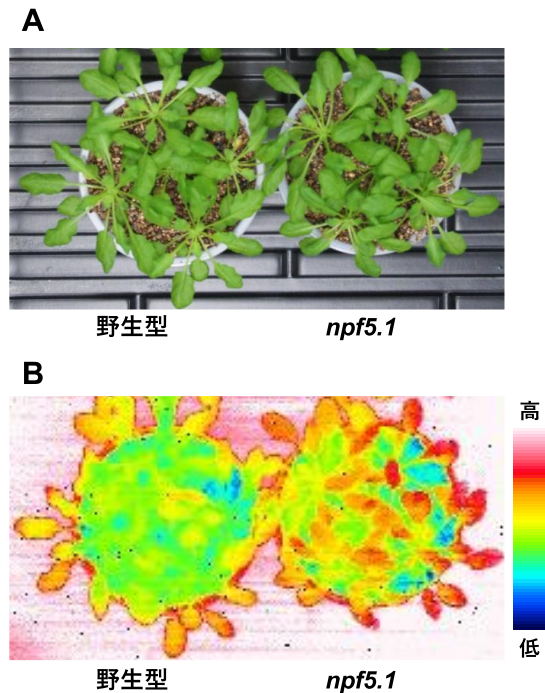


図 4. 野生型及び *npf5.1* の葉の表面温度 (A) 発芽後約 1 ヶ月の植物。(B) サーモグラフィーで観察した表面温度。

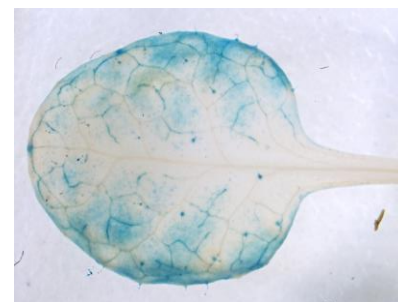


図 5. NPF5.1 のプロモーター活性 NPF5.1 プロモーター支配下で GUS を発現させる形質転換体のロゼット葉における GUS 染色。

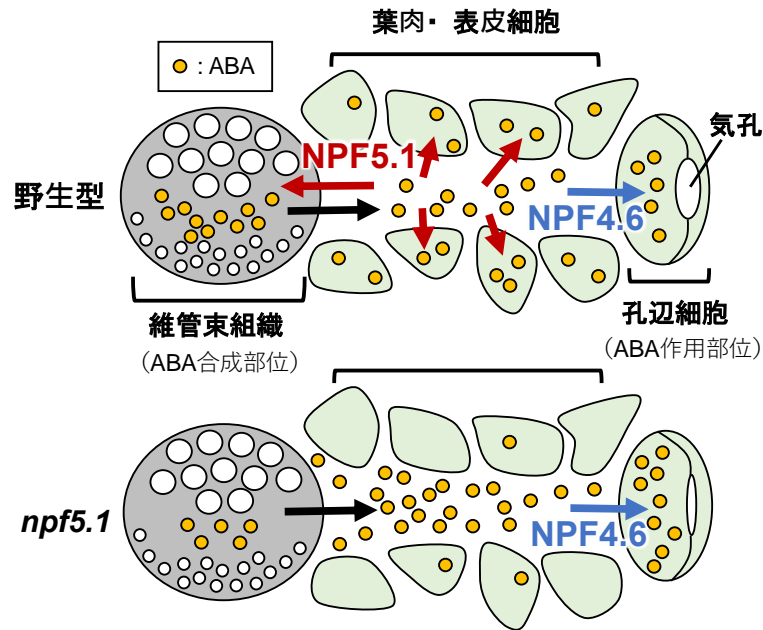


図 6. NPF4.6, NPF5.1 の維管束組織から孔辺細胞への ABA 輸送と気孔閉鎖における機能

4. NPF の多様な機能

NPF は古くから知られている硝酸イオン、小ペプチド、そして前述の ABA 以外にも、オーキシシン (Krouk et al. 2010)、ジベレリン (Saito et al. 2015; David et al. 2016; Tal et al. 2016)、ジャスモン酸 (Ishimaru et al. 2017) といった植物ホルモンや、グルコシノレート (Nour Eldin et al. 2012)、アルカロイド (Payne et al. 2017)、ニコチアナミン (Chao et al. 2021) 等の二次代謝産物を基質とする事が明らかになってきている。ファミリー全体を見渡した場合もそうであるが、興味深い点はある特定の NPF が複数の基質を認識する場合も多々見受けられる事である。

タルウマゴヤシ (*Medicago truncatula*) の *nip/latd* は、根粒形成、側根形成、主根伸長等に欠陥を持つ変異体である (Veereshlingam et al. 2004; Bright et al. 2005)。NIP/LATD は硝酸イオンに対して輸送活性を示す NPF タンパク質をコードするが、*nip/latd* 変異体で同じく硝酸イオンを基質とするシロイヌナズナ NRT1.1/CHL1 (NPF6.3) を発現させた場合には主根成長、側根形成が部分的に回復する一方で、根粒形成に関する表現型は相補されない (Bagchi et al. 2012)。この事は、NIP/LATD が硝酸イオン以外に根粒形成に重要な役割を果たす何らかの化合物の輸送体として機能する可能性を示唆している。今後 NPF の機能解析を通して、化合物の新たな働きや新規の生理活性物質・植物ホルモンが発見される事が期待される。

5. インドール酪酸 (IBA) の輸送に関わる NPF

シロイヌナズナに存在する 53 の NPF の中には、植物体内での機能が明らかになっていないものが多数存在する。さらに前述の通り、ある一つの基質輸送に関する生理的役割が明らかになっている NPF があっても、その NPF に他の未知の機能が隠されている可能性

も考えられる。この様な事から、私たちは NPF の機能を失った変異体の表現型を幅広く観察している。

この過程において、過去に硝酸イオンおよびカリウムイオンを基質とする事が報告されていた NPF7.3 (NRT1.5 としても知られる) (Lin et al. 2008; Li et al. 2017) の機能を失った変異体 (*npf7.3*) の根の重力屈性が異常になっている事に気付いた (Watanabe et al. 2020) (図 7)。この表現型は培地中に硝酸イオンおよびカリウムイオンが高濃度に含まれている条件においても観察される事から、NPF7.3 の基質となる他の化合物の存在が示唆された。オーキシンが根の重力屈性に関与している事がよく知られている。NPF7.3 は酵母において主要な内生オーキシンであるインドール酢酸 (IAA) に対して優位な取り込み活性を示したが、IAA は比較的脂溶性が高いために NPF7.3 非存在下でも酵母細胞内に取り込まれやすく、また NPF4.6 が ABA に対して示した輸送活性ほど NPF7.3 の IAA 輸送活性は顕著ではなかった。これに対し、植物の内生化合物であり IAA の前駆体としても知られる IBA は膜透過性が比較的 low、NPF7.3 の基質として IAA よりも効率的に輸送された。*npf7.3* で観察される根の重力屈性異常は外生 IAA 処理で回復するが IBA 処理では回復しない。また、*npf7.3* においては野生型に比べてオーキシン誘導性プロモーターである DR5 の活性が低下しており、重力に応答した DR5 活性の偏差分布が起きにくい (図 8)。さらに NPF7.3 の発現は、IBA の IAA への変換が活発に行われる事が予想されているコルメラ細胞で見られる。これらの事から、*npf7.3* では IBA から IAA への変換が行われる細胞内への IBA の取り込みが低下していると考えられる (Watanabe et al. 2020) (図 9)。IBA から合成される IAA が側根形成に重要である事が

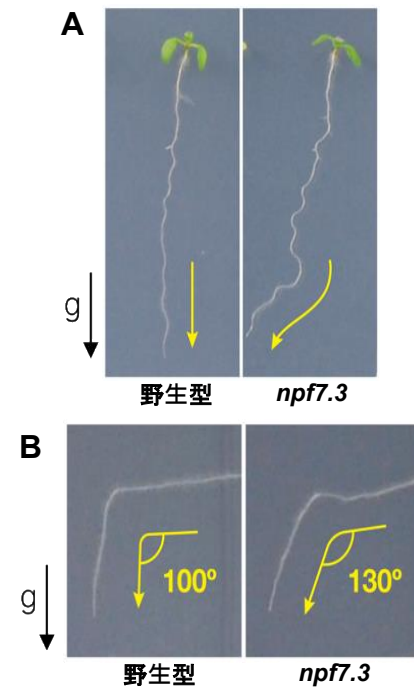


図 7. 野生型, *npf7.3* の根の重力屈性

(A) 垂直に立てた培地上で *npf7.3* の根は波を打ち重力に向かってまっすぐに伸長しにくい。(B) 重力方向を 90 度変化させた場合 *npf7.3* の根は重力方向に屈曲しにくい。

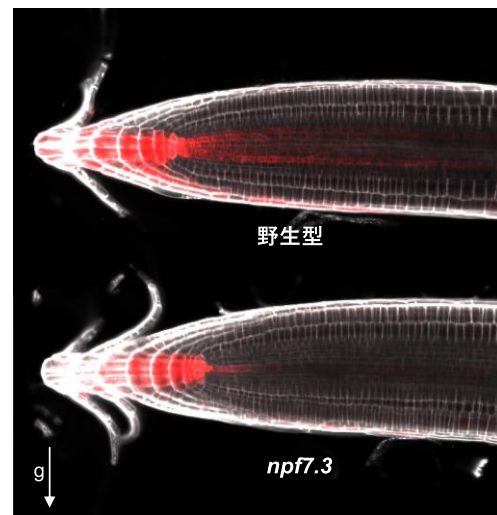


図 8. 野生型, *npf7.3* における DR5 活性
根の重量方向を 90 度変化させると野生型では重力側に DR5 活性 (赤) が偏って分布するが、*npf7.3* ではそれがみられない。

よく知られていたが、私たちの NPF の機能解析を通して、IBA から合成される IAA が根の重力屈性にも必要であるという新たな発見をもたらす事ができた。

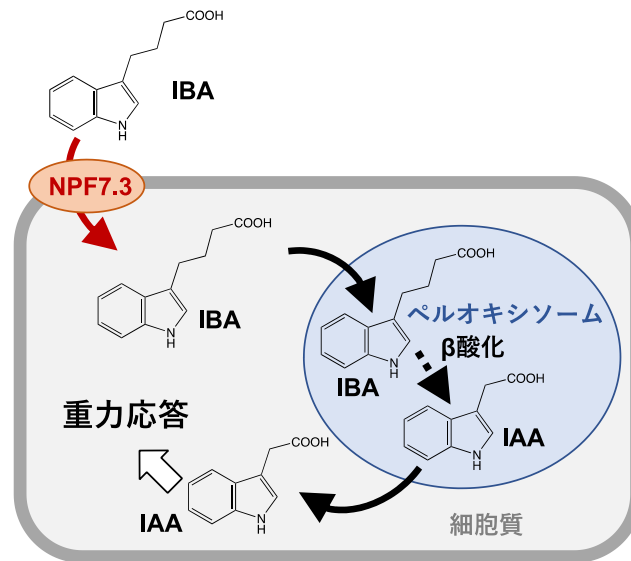


図 9. NPF7.3 によって細胞内に取り込まれた IBA はペルオキシソーム内での β 酸化によって IAA へと変換され、重力応答を引き起こす。

6. 終わりに

これまで私たちの NPF に着目した研究を中心に紹介してきたが、近年になって異なる輸送体ファミリーに属する新たな植物ホルモン輸送体の同定が進んでいる (Anfang and Shani 2021)。今後、植物ホルモンの輸送介の詳細な制御メカニズムを明らかにしていくためには、植物体内における植物ホルモンの分布を正確に把握する事が必要であろう。現在私たちは、一細胞・超微量サンプルからの質量分析系の確立に取り組んでいる (Shimizu et al. 2015; 清水ら 2020)。これにより、適したマーカー遺伝子やセンサータンパク質が確立されていない植物ホルモンに関してもその局在を、高い空間解像度で明らかにする事が可能になると期待している。近い将来、これらの成果についても紹介できる日が来る事を強く願っている。

引用文献

- Anfang M, Shani E (2021) Transport mechanisms of plant hormones. *Curr Opin Plant Biol* 63: 102055. doi: 10.1016/j.pbi.2021.102055
- Bagchi R, Salehin M, Adeyemo OS, Salazar C, Shulaev V, Sherrier DJ, Dickstein R (2012) Functional assessment of the *Medicago truncatula* NPF/TATD protein demonstrates that it is a high-affinity nitrate transporter. *Plant Physiol* 160: 906-916. doi: 10.1104/pp.112.196444
- Benjamins R, Scheres B (2008) Auxin: the looping star in plant development. *Annu Rev Plant Biol* 59: 443-465. doi: 10.1146/annurev.arplant.58.032806.103805

- Bright LJ, Liang Y, Mitchell DM, Harris JM (2005) The LATD gene of *Medicago truncatula* is required for both nodule and root development. *Mol Plant-Microbe interact* 18: 521-532. doi: 10.1094/MPMI-18-0521
- Chao ZF, Wang YL, Chen YY, Zhang CY, Wang PY, Song T, Liu CB, Lv QY, Han ML, Wang SS et al. (2021) NPF transporters in synaptic-like vesicles control delivery of iron and copper to seeds. *Sci Adv* 7: eabh2450. doi: 10.1126/sciadv.abh2450
- Chiba Y, Shimizu T, Miyakawa S, Kanno Y, Koshiha T, Kamiya Y, Seo M (2015) Identification of *Arabidopsis thaliana* NRT1/PTR FAMILY (NPF) proteins capable of transporting plant hormones. *J Plant Res* 128: 679-686. doi: 10.1007/s10265-015-0710-2
- Christmann A, Grill E, Huang J (2013) Hydraulic signals in long-distance signaling. *Curr Opin Plant Biol* 16: 293-300. doi: 10.1016/j.pbi.2013.02.011
- Christmann A, Weiler EW, Steudle E, Grill E (2007) A hydraulic signal in root-to-shoot signaling of water shortage. *Plant J* 52: 167-174. doi: 10.1111/j.1365-3113X.2007.03234.x
- Corratge-Faillie C, Lacombe B (2017) Substrate (un)specificity of *Arabidopsis* NRT1/PTR FAMILY (NPF) proteins. *J Exp Bot* 68: 3107-3113. doi: 10.1093/jxb/erw499
- David LC, Berquin P, Kanno Y, Seo M, Danniell-Vedele F, Ferrarion-Mery S (2016) N availability modulates the role of NPF3.1, a gibberellin transporter, in GA-mediated phenotypes in *Arabidopsis*. *Planta* 244: 1315-1328. doi: 10.1007/s00425-016-2588-1
- Davies WJ, Zhang J (1991) Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu Rev Plant Biol Plant Mol Biol* 42: 55-76. doi: 10.1146/annurev.pp.42.060191.000415
- Endo A, Sawada Y, Takahashi H, Okamoto M, Ikegami K, Koiwai H, Seo M, Toyomasu T, Mitsushashi W, Shinozaki K et al. (2008) Drought induction of *Arabidopsis* 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase occurs in vascular parenchyma cells. *Plant Physiol* 147: 1984-1993. doi: 10.1104/pp.108.116632
- Grones P, Friml J (2015) Auxin transporters and binding proteins at a glance. *J Cell Sci* 128: 1-7. doi: 10.1242/jcs.159418
- Holbrook NM, Shashidhar VR, James RA, Munns R (2002) Stomatal control in tomato with ABA-deficient roots: response of grafted plants to soil drying. *J Exp Bot* 53: 1503-1514. Doi: 10.1093/jexbot/53.373.1503
- Huang NC, Liu KH, Lo HJ, Tsay YF (1999) Cloning and functional characterization of an *Arabidopsis* Nitrate Transporter gene that encodes a constitutive component of low-affinity uptake. *Plant Cell* 11: 1381-1392. doi: 10.1105/tpc.11.8.1381
- Ishimaru Y, Oikawa T, Suzuki T, Takeishi S, Matsuura H, Takahashi K, Hamamoto S, Uozumi N, Shimizu T, Seo M et al. (2017) GTR1 is a jasmonic acid and jasmonoyl-L-isoleucine transporter in *Arabidopsis thaliana*. *Biosci Biotechnol Biochem* 81: 249-255. doi: 10.1080/09168451.2016.1246174
- Jiang F, Hartung W (2008) Long-distance signalling of abscisic acid (ABA): the factors regulating the intensity of the ABA signal. *J Exp Bot* 59: 37-43. doi: 10.1093/jxb/erm127

- Kanno Y, Hanada A, Chiba Y, Ichikawa T, Nakazawa M, Matsui M, Koshiha T, Kamiya Y, Seo M (2012) Identification of an abscisic acid transporter by functional screening using the receptor complex as a sensor. *Proc Natl Acad Sci USA* 109: 9653-9658. doi: 10.1073/pnas.1203567109
- Krouk G, Lacombe B, Bielach A, Perrine-Walker F, Malinska K, Mounier E, Hoyerova K, Tillard P, Leon S, Ljung K et al. (2010) Nitrate-regulated auxin transport by NRT1.1 defines a mechanism for nutrient sensing in plants. *Dev Cell* 18: 927-937. doi: 10.1016/j.devcel.2010.05.008
- Kuromori T, Seo M, Shinozaki K (2018) ABA transport and plant water stress responses. *Trends Plant Sci* 23: 513-522. doi: 10.1016/j.tplants.2018.04.001
- Kuromori T, Sugimoto E, Shinozaki K (2014) Intertissue signal transfer of abscisic acid from vascular cells to guard cells. *Plant Physiol* 164: 1587-1592. doi: 10.1104/pp.114.235556
- Leran S, Noguero M, Corratge-Faillie C, Boursiac Y, Brachet C, Lacombe B (2020) Functional characterization of the Arabidopsis abscisic acid transporter NPF4.5 and NPF4.6 in *Xenopus* oocytes. *Front Plant Sci* 11: 144. doi: 10.3389/fpls.2020.00144
- Leran S, Varala K, Boyer JC, Chiurazzi M, Crawford N, Daniel-Vedele F, David L, Dickstein R, Fernandez E, Forde B et al. (2014) A unified nomenclature of NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family members in plants. *Trends Plant Sci* 19: 5-9. doi: 10.1016/j.tplants.2013.08.008
- Li H, Yu M, Du XQ, Wang ZF, Wu WH, Quintero FJ, Jin XH, Li HD, Wang Y (2017) NRT1.5/NPF7.3 functions as a proton-coupled H⁺/K⁺ antiporter for K⁺ loading into the xylem in Arabidopsis. *Plant Cell* 29: 2016-2026. doi: 10.1105/tpc.16.00972
- Lin SH, Kuo HF, Canivenc G, Lin CS, Lepetit M, Hsu PK, Tillard P, Lin HL, Wang YY, Tsai CB et al. (2008) Mutation of the Arabidopsis NRT1.5 nitrate transporter causes defective root-to-shoot nitrate transport. *Plant Cell* 20: 2514-2528. doi: 10.1105/tpc.108.060244
- McAdam SAM, Brodribb TJ, Ross JJ (2016) Shoot-derived abscisic acid promotes root growth. *Plant Cell Environ* 39: 652-659. doi: 10.1111/pce.12669
- Merilo E, Yarmolinsky D, Jalakas P, Parik H, Tulva I, Rasulov B, Kilk K, Kollist H (2018) Stomatal VPD response: there is more to the story than ABA. *Plant Physiol* 176: 851-864. doi: 10.1104/pp.17.00912
- Nour-Eldin HH, Andersen TG, Burow M, Madsen SR, Jorgensen ME, Olsen CE, Dreyer I, Hedrich R, Geiger D, Halkier BA (2012) NRT/PTR transporters are essential for translocation of glucosinolate defence compounds to seeds. *Nature* 488: 531-534. doi: 10.1038/nature11285
- Park SY, Fung P, Nishimura N, Jensen DR, Fujii H, Zhao Y, Lumba S, Santiago J, Rodrigues A, Chow TF et al. (2009) Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatase via the PYR/PTL family of START proteins. *Science* 324: 1068-1071. Doi: 10.1126/science.1173041
- Payne RME, Xu D, Foureau E, Carqueijeiro MIST, Oudin A, de Bernonville TD, Novak V, Burow M, Olsen CE, Jones DM et al. (2017) An NPF transporter exports a central monoterpene indole alkaloid intermediate from the vacuole. *Nat Plants* 3: 16208. doi: 10.1038/nplants.2016.208
- Petrasek J, Friml J (2009) Auxin transport routes in plant development. *Development* 136: 2675-2688.

- Rodriguez PL, Lozano-Juste J, Albert A (2019) PYR/PYL/RCAR ABA receptors. *Adv Bot Res* 92: 51-82. doi: 10.1242/dev.030353
- Saito H, Oikawa T, Hamamoto S, Ishimaru Y, Kanamori-Sato M, Sasaki-Sekimoto Y, Utsumi T, Chen J, Kanno Y, Masuda S et al. (2015) The jasmonate-responsive GTR1 transporter is required for gibberellin-mediated stamen development in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 6: 6095. doi: 10.1038/ncomms7095
- Schachtman DP, Goodger JQD (2008) Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends Plant Sci* 13: 281-287. doi: 10.1016/j.tplants.2008.04.003
- Seo M, Marion-Poll A (2019) Abscisic acid metabolism and transport. *Adv Bot Res* 92: 1-49. doi: 10.1016/bs.abr.2019.04.004
- Shimizu T, Kanno Y, Suzuki H, Watanabe S, Seo M (2021) *Arabidopsis* NPF4.6 and NPF5.1 control leaf stomatal aperture by regulating abscisic acid transport. *Genes* 12: 885. doi: 10.3390/genes12060885
- Shimizu T, Miyakawa S, Esaki T, Mizuno H, Masujima T, Koshihara T, Seo M (2015) Live single-cell plant hormone analysis by video-mass spectrometry. *Plant Cell Physiol* 56: 1287-1296. doi:10.1093/pcp/pcv042
- 清水崇史, 渡邊俊介, 鈴木洋弥, 竹林裕美子, 瀬尾光範 (2020) 植物科学における一細胞質量分析法: 植物ホルモンの定量と今後の展望. *J Mass Spec* 68: 26-32. doi: 10.5702/massspec.S20-0
- Tal I, Zhang Y, Jorgensen ME, Pisanty O, Barbosa ICR, Zourelidou M, Regnault T, Crocoll C, Olsen CE, Weinstain R, Schwechheimer C et al. (2016) The *Arabidopsis* NPF3 protein is a GA transporter. *Nat Commun* 7: 11486. doi: 10.1038/ncomms11486
- Tsay YF, Chiu CC, Tsai CB, Ho CH, Hsu PK (2007) Nitrate transporters and peptide transporters. *FEBS Lett* 581: 2290-2300. doi: 10.1016/j.febslet.2007.04.047
- Veereshlingam H, Haynes JG, Penmetsa RV, Cook DR, Sherrier DJ, Dickstein R (2004) *nip*, a symbiotic *Medicago truncatula* mutant that forms root nodules with aberrant infection threads and plant defense-like response. *Plant Physiol* 136: 3692-3702. doi: 10.1104/pp.104.049064
- Watanabe S, Takahashi N, Kanno Y, Suzuki H, Aoi Y, Takeda-Kamiya N, Toyooka K, Kasahara H, Hayashi K, Umeda M et al. (2020) The *Arabidopsis* NRT1/PTR FAMILY protein NPF7.3/NRT1.5 is an indole-3-butyric acid transporter involved in root gravitropism. *Proc Natl Acad Sci USA* 117: 31500-31509. doi: 10.1073/pnas.2013305117