

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔令和5（2023）年度 中間評価用〕

令和5年3月31日現在

研究期間：2021～2025  
課題番号：21H05034  
研究課題名：土壌環境変動にตอบสนองする植物のミネラル輸送システムの可塑性の解明  
研究代表者氏名（ローマ字）：馬 建鋒（MA Jian Feng）  
所属研究機関・部局・職：岡山大学・資源植物科学研究所・教授  
研究者番号：80260389

研究の概要：

本研究は土壌ミネラル環境変動に可塑的に対応する植物の輸送システムの解明を目的とする。主に“水陸両用”のイネを用いて、異なる土壌条件下（湛水と畑）で働く多様なミネラル輸送体を統合的に同定し、その機能や制御機構、構造を解明する。またミネラル変動や有害金属を感知する仕組み、環境変動に伴い輸送体を切り替えるシグナルなどを様々な手法で明らかにする。

研究分野：植物栄養生理学

キーワード：環境変動、ミネラル輸送、イネ、トランスポーター、制御、根

1．研究開始当初の背景

地球規模の気候変動は様々な形で作物の生産に被害をもたらしている。特に近年豪雨や干ばつが頻発するため、作物生育期間中に土壌の水分状態が大きく変動し、その結果作物の生育に必要な土壌ミネラル養分の濃度や化学形態に変化をきたしてしまう。多くの作物はこのような環境変動に対応できないため、生育障害が起こる。しかし、イネは例外で、湛水条件下でも畑状態でも生育できる。このような“水陸両用”のイネは土壌中のミネラル環境の変動に対して可塑的にตอบสนองする仕組みを持っていることを示唆している。しかし、この仕組みの分子機構はまだあまり明らかにされていない。

2．研究の目的

本研究の目的は変動する土壌のミネラル環境に対する植物（イネ）の輸送システムの可塑性を解明するとともに、有害ミネラルに対する感知機構を明らかにし、将来の環境変動に対応できる安全な作物の作出に寄与することである。それを実現するために、長年地道に整備してきた独自の材料を用い、生理学、遺伝学、分子生物学、生化学、結晶構造解析など多彩な手法を駆使して輸送体の同定だけでなく、その構造や感知機構、制御機構までミネラル輸送システムの統合解析を目指している。

3．研究の方法

本研究では、異なる環境条件下に働くミネラル輸送体遺伝子をそれぞれクローニングし、その発現パターンや組織細胞局在などを様々な手法でまず調べる。組織/細胞局在は抗体染色やタグ付き形質転換植物を用いて行う。また異なる環境下における各種輸送体の役割を調べるために、CRISPR/Cas9の手法を用いて、遺伝子破壊株を作出し、破壊株を異なる環境で生育させ、ミネラルの吸収や生育などを野生型と比較する。ミネラル元素の定量には質量分析計（ICP-MS）、元素の組織分布の観察には、レーザーアブレーション ICP-MS（LA-ICP-MS）などを用いる。また輸送体の活性測定には、酵母変異体、昆虫細胞、アフリカツメガエルの卵母細胞発現系に加え、独自のプロテオリソソーム再構築系も用いる。ミネラル輸送体タンパク質のリン酸化、分解、ユビキチン化などを様々な条件下で調べるために、輸送体特異的な抗体やタグ付きの融合タンパク質を発現する組換えイネを活用する。さらにクライオ電子顕微鏡解析やX線結晶構造解析を活用して、一部ミネラル輸送体の構造を解析する。

4．これまでの成果

低親和性アンモニウム輸送体ファミリーに属する三種類のAMT1輸送体について詳しく機能解析を行った結果、アンモニウムにตอบสนองして、3種類のアンモニウム輸送体は遺伝子発現レベルだけではなく、タンパク質の細胞内局在にも変化があることを突き止めた。また3種類とも根において細胞膜に極性局在をしていることを明らかにした。さらに3種類の輸送体を同時に破壊すると、低アンモニウム条件下でアンモニウムの吸収がほとんどなくなり、この3種類の輸送体がアンモニウムの吸収を担っていることを示した。一方、イネのホウ素吸収に関わる二つの輸送体について解析した結果、Lsi1の遺伝子発現やタンパク質はホウ素濃度の影響を受けないが、OsBOR1は過剰なホウ素にตอบสนองして素早くタンパク質が分解されることでホウ素の吸収を制御していることが分かった。またこのOsBOR1タンパク質の分解過程はシロイヌナズナのAtBOR1とは異なり、クラスリン非依存性経路によって行われていることを明らかにした。イネのケイ酸輸送体Lsi1について、根の外皮細胞および内皮細胞における遠心側への極性局在に重要なタンパク質領域の解析を行い、N末端およびC末端領域の特定のイソロイシン残基、およびC末端領域の正電荷を持つアミノ酸残基が必須であることを明らかにした。また極性局在が失われた改変型Lsi1を導入し

た形質転換イネによる解析から、効率的なケイ酸吸収におけるLsi1極性局在の重要性が改めて確認された。ミネラルの感知機構について、イネケイ素輸送体遺伝子*OsLsi1*と*OsLsi2*の発現抑制に関わるシグナル分子(SSS)を同定した。SSS遺伝子は葉に発現し、根に発現しないが、そのタンパク質は根において強く検出されることから、地上部のケイ素蓄積を感知し、地上部から根へSSSがシグナルとして移動していることを示唆している。

その他いくつかの新規ミネラル輸送体を同定し、その機能を解明した。またカドミウムの低集積に関わる遺伝子を同定し、低カドミウムイネ品種の育成に成功した。アルミニウム耐性に関わる輸送体の構造解析にも成功した。

## 5. 今後の計画

生理学的、分子生物学的な手法などを用いて、引き続き異なる環境条件下で発現する輸送体遺伝子の機能解析や環境応答機構の解析などを行う。またすでに同定しているケイ素感知シグナルSSSについて更なる解析を行い、ミネラル環境感知機構の解明を進める。さらにアルミニウム感知機構に関して、リン酸化サイトの同定、リン酸化の生理的役割の検討、MAPキナーゼ変異体のAI応答性の検討などを進めていく。構造解析に関して引き続きケイ素やマンガンなどの輸送体の結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡解析を行い、得られた構造情報から、輸送基質の選択性に関わるアミノ酸残基を同定し、さらにこれらの残基を改変した形質転換植物を作成して、有害ミネラルフリーの作物の作出を試みる

## 6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

- (1) Polar localization of a rice silicon transporter requires isoleucine at both C-and N-termini as well as positively charged residues. Konishi, N., Mitani-Ueno, N., Yamaji, N., \*Ma, J. F. *The Plant Cell* doi.org/10.1093/plcell/koad073. 2023.
  - (2) A tonoplast-localized magnesium transporter is crucial for stomatal opening in Arabidopsis under high Mg<sup>2+</sup> conditions. Inoue, S. I., Hayashi, M., Huang, S., Yokosho, K., Gotoh, E., Ikematsu, S., Okumura, M., Suzuki, T., Kamura, T., Kinoshita, T., \*Ma, J. F. *New Phytol.* 236: 864-877. 2022.
  - (3) Duplication of a manganese/cadmium transporter gene reduces cadmium accumulation in rice grain. Yu, E., Wang, W., Yamaji, N., Fukuoka, S., Che, J., Ueno, D., Ando, T., Deng, F., Hori, K., Yano, M., Shen, R. F., \*Ma, J. F. *Nature Food* 3: 597-607. 2022.
  - (4) Cell-type-dependent but CME-independent polar localization of silicon transporters in rice. Konishi, N., Huang, S., Yamaji, N., \*Ma, J. F. *Plant Cell Physiol.* 63: 699-712. 2022.
  - (5) A crucial role of a node-localized transporter, HvSPDT, in loading phosphorus into barley grains. Gu, M., Huang, H., Hisano, H., Ding, G., Huang, S., Mitani-Ueno, N., Yokosho, K., Sato, K., Yamaji, N., \*Ma, J. F. *New Phytol.* 234: 1249-1261. 2022.
  - (6) A pericycle-localized silicon transporter for efficient xylem loading in rice. Huang, S., Yamaji, N., Sakurai, G., Mitani-Ueno, N., Konishi, N., \*Ma, J. F. *New Phytol.* 234: 197-208. 2022.
  - (7) Boron uptake in rice is regulated posttranslationally via a clathrin-independent pathway. Huang, S., Konishi, N., Yamaji, N., Shao, J. F., Mitani-Ueno, N., \*Ma, J. F. *Plant Physiol.* 188: 1649-1664. 2022.
  - (8) Zinc Transport in Rice: Dilemma between optimal plant requirement and human nutrition. Huang, S., Yamaji, N., \*Ma, J. F. *J. Exp. Bot.* 73: 1800-1808. 2022.
  - (9) Structural basis for high selectivity of a rice silicon channel Lsi1. Saitoh, Y., Mitani-Ueno, N., Saito, K., Matsuki, K., Huang, S., Yang, L., Yamaji, N., Ishikita, H., Shen, J. R., \*Ma, J. F., \*Suga, M. *Nature Communications* 12: 6236. 2021.
  - (10) Three polarly localized ammonium transporter 1 members are cooperatively responsible for ammonium uptake in rice under low ammonium condition. Konishi, N., \*Ma, J. F. *New Phytol.* 232: 1778-1792. 2021.
- その他 13 編 (すべて査読有)

### 受賞

2021 年度 馬 建鋒 植物生理学会賞

2021 年度 PCP 論文賞

2022 年度 Highly Cited Researchers (馬 建鋒、山地直樹)

2022 年秋 紫綬褒章

## 7. ホームページ等

<http://www.rib.okayama-u.ac.jp/plant.stress/index-j.html>

<https://scholar.google.com/citations?user=kDZcBhkAAAAJ&hl=ja&oi=ao>