

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔平成28年度研究進捗評価用〕

平成25年度採択分  
平成28年3月16日現在

植物の無機栄養ホメオスタシスと成長の統合的理解と仮説検証

Homeostasis of Plant Mineral Nutrients and Growth-  
Modeling of Overall Regulation

課題番号：25221202

藤原 徹 (FUJIWARA TORU)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



研究の概要

無機栄養ホメオスタシスに必須な遺伝子を多くの元素について同定解析し、無機栄養の恒常性維持に細胞壁合成やRNA代謝等の重要性を示した。リボソームRNA複合体による無機栄養感知にAUGUAAが必須であることやその仕組みの一端を明らかにした。ホウ素輸送のモデル構築と実験的検証を行い、根の成長と地上部への輸送が根の異なる部分で担われることを示唆した。

研究分野：農学

キーワード：シロイヌナズナ、栄養感知、数理モデル、予測、実証、低栄養適応

1. 研究開始当初の背景

植物は土壌から無機元素を吸収して生育する独立栄養生物であり、人間の生存は植物の繁栄に依存している。植物には17種類の必須元素が知られているが、土壌の濃度は最適値から外れていることが多い。植物はどの元素が足りないか（多すぎるか）を感知し、吸収速度や代謝のパターンを変化させたりすることによってある程度生育を維持することができる。このような応答は、移動能力の無い植物が進化の過程で獲得した能力であり生産の基盤である。その理解には多面的解析が不可欠である。

2. 研究の目的

複数の元素について分子遺伝学を用いて栄養ホメオスタシスに重要な分子を同定し、その機能解析を通じて機構を明らかにする。RNAとリボソームを介したホウ素応答機構を解明する。栄養と輸送と成長を統合した数理モデルを構築し、実験的な検証を進め、統合的な栄養輸送と利用についてのモデル構築を行う。

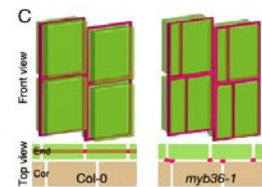
3. 研究の方法

栄養変異株をイネやシロイヌナズナから同定し、その株のゲノム配列を解読するなどして原因遺伝子を同定する。さらに原因遺伝子の機能解析を行う。

RNAとリボソームを介したホウ素応答機構についてはNIP5;1 mRNAの5' UTRに変異を導入し、そのホウ素応答を検討した。また、mRNA seq等を用いた発現解析を行った。ホウ素輸送のモデルを様々な手法で構築した。

4. これまでの成果  
挙げる。

1) カスパリー線を介した栄養輸送に関与する転写制御因子を発見し、この転写因子がカスパリー線形成に関わる多くの遺伝子の発現を司っており、異所発現によって本来カスパリー線を合成しない細胞に合成させることに成功した(Kamiya et al PNAS 2015)。右図は転写因子 myb36 に異常のある変異株のカスパリー線の異常を示した模式図である。

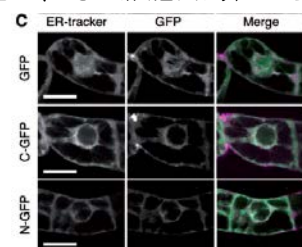


2) カスパリー線形成に不可欠な新規遺伝子を同定し、変異株の解析を通じてカスパリー線周辺に蓄積するスペリンが側根発生時の根の中心柱への物質流入を防ぐ役割があることを見いだした。

3) マグネシウムの恒常性維持に関与するマグネシウム輸送体をマグネシウム欠乏感受性の変異株を用いて同定し、その細胞内局在から

ERのマグネシウム恒常性についての役割を示唆した。

（右図は輸送体の細胞内局在を表している。Oda et al PCP in press）



4) マグネシウム恒常性維持にスプライシングを司る遺伝子が重要であることを見だし、輸送体遺伝子のスプライシング制御の重要性を示唆した。

5) 銅の恒常性維持機構に重要な遺伝子として、

TPST 遺伝子を見いだした。TPST は植物のペプチドホルモンであるフオスホスルフォカインの硫黄付加を担い、エチレン合成にも関与していた (Wu et al 2015 J Exp Bot)。

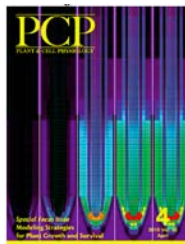
6) ホウ素の恒常性維持に関する細胞壁合成関連遺伝子 *CTL1* の解析を通じて、ホウ素とセルロース合成の関係を検討したところ、ホウ素を与えることで、セルロース合成酵素の微小管上の移動速度が高くなる傾向を見いだした。

7) イネの栄養条件に応じた根の成長変異株の原因遺伝子としてサイトカイニンの代謝に関わる遺伝子を同定し、この変異株でのサイトカイニンの代謝異常を見いだした。

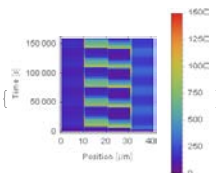
8) ホウ素条件に応じた蓄積制御に *NIP5;1* の 5' UTR に存在する AUGUAA (開始-終止コドン) にリボソームが停止することを見いだしていた。さらに、AUGUAA 周辺のコザック配列が重要であること、mRNA の切断には AUGUAA 上流側 13nt 程度上流の C/A に富む配列が重要であることを見いだした。

9) ホウ素は reinitiation やそれに至る過程に影響を及ぼすことが明らかになった。

10) Laser Ablation ICP-MS (LA-ICP-MS) を用いてホウ素の濃度分布を測定したところ、モデルの予想(右図、モデルに基づいた計算による培地ホウ素の根への分布の経時変化:PCP の表紙に採用された)とよく一致した。



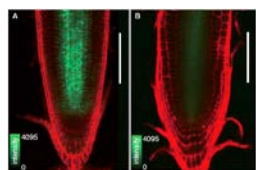
11) ホウ素輸送体のホウ素による制御を取り入れた数理モデルを構築し、一次元に配置された細胞列でのホウ素の輸送速度と濃度の関係を明らかにし、オシレーションが起こりうることを初めて示した(右図、横軸で示す4つの細胞列のホウ素輸送を経時的に(縦軸で示したもの。濃度をカラーコードで示している)。



11) 元々の発現場所とは異なる根の細胞層など特定の細胞に特異的トランスポーターを発現させると、細胞層によって、生育の改善やホウ素輸送の促進がみられたり、見られなくなることが明らかになった。

12) BOR1 の極性を変化させる C 末側の配列を同定し、この配列を無極性の輸送体に付与することで極性を制御することができた。

13) ホウ素欠乏によって PIN1 と PIN2 が異なる制御を受けホウ素欠乏での根の生育には PIN3 が重要であることを見いだした (Li et al 2015, PCP)。右図は PIN1 の発現がホウ素欠乏で低下することを示している。



## 5. 今後の計画

各種栄養元素の輸送・応答機構の解明については、既に得られている変異株や変異株を元に得られた変異株等を駆使して、新規遺伝子同定と機能解析を進めて行く。特に細胞壁の役割や mRNA のスプライシングに着目する。

リボソームと RNA を介した栄養感知機構の解明については、生化学的なアプローチと、構造生物学的なアプローチの両面から解析を進め、ホウ素がどのようにリボソームの挙動に影響を及ぼすのかを推定する。

ホウ素輸送モデルの構築と検証としてはこれまでに構築した一次元の輸送体の栄養制御を取り入れたモデルを二次元に拡張して基本的挙動の解析を行うと共に、実験的検証を進め、より精度高いモデルを構築する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む) Kamiya, T., Borghi, M., Wang, P., Danku, J. M., Kalmbach, L., Hosmani, P.S., Naseer, S., Fujiwara, T., Geldner, N. and Salt, D.E. The MYB36 transcription factor orchestrates Casparian strip formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112(33):10533-8 (2015)

Shimotohno A., Sotta N., Sato T., De Ruvo M., Maree AF, Grieneisen VA. and Fujiwara, T.\* Mathematical modeling and experimental validation of the spatial distribution of boron in the root of *Arabidopsis thaliana* identify high boron accumulation in the tip and predict a distinct root tip uptake function. *Plant Cell Physiol.* 56(4):620-30 (2015)

Li K, T. Kamiya and Fujiwara, T. Differential Roles of PIN1 and PIN2 in Root Meristem Maintenance Under Low-B Conditions in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 56(6):1205-14 (2015)

Wu T, T. Kamiya, Yumoto H, Sotta N, Katsushi Y, Shigenobu S, Matsubayashi Y, and Fujiwara, T.\* An *Arabidopsis thaliana* copper-sensitive mutant suggests a role of phyto-sulfokine in ethylene production. *J Exp Bot.* 66(13):3657-67 (2015)

Hanaoka, H., Uruguchi, S., Takano, J., Tanaka, M. and Fujiwara, T. OsNIP3;1, a rice boric acid channel, regulates boron distribution and is essential for growth under boron-deficient conditions. *The Plant Journal* 78:5 890-902 (2014)

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/syokuei/>