

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：15301

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22119002

研究課題名（和文）劣悪化する土壌環境に適応するための植物の知恵

研究課題名（英文）Strategies of plants to overcome problem soils

研究代表者

馬 建鋒 (Jian Feng, Ma)

岡山大学・その他部局等・教授

研究者番号：80260389

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 193,300,000円

研究成果の概要（和文）：イネの高アルミニウム耐性に関して複数の耐性遺伝子を同定した。またこれら耐性遺伝子の発現を制御する転写因子ART1のシス配列を同定した。オオムギのアルミニウム耐性遺伝子HvAACTの発現は上流への1 kbの挿入で、シラゲガヤのアルミニウム耐性遺伝子HIALMT1の発現はプロモーター領域にART1と結合するシス因子の数を増やすことによって耐性を向上させたことを明らかにした。さらに環境中のマンガン濃度の変動に対処するために、イネの節で発現しているOsNramp3がマンガンの分配をコントロールしていることを解明した。そのほかにミネラル輸送に関する遺伝子を複数同定し、ケイ素吸収の数値モデルを構築した。

研究成果の概要（英文）：We identified several rice genes involved in tolerance to Al toxicity, which is a major stress factor in acid soil. We also identified a cis-acting element of transcription factor ART1, which regulates the Al-tolerance genes in rice. Furthermore, we found that 1 kb insertion in the upstream of barley Al-tolerance gene, HvAACT1, increasing number of cis-acting elements of ART1 in the promoter region of Al-tolerance gene HIALMT1 in Yorkshire fog are important for enhanced expression of these genes. We also found that a node-based transporter OsNramp3 functions as switch in response to environmental change of Mn concentration. In addition, we have identified several genes involved in mineral element transport and constructed a mathematical model for Si uptake in rice.

研究分野：植物栄養学

キーワード：酸性土壌 突破力 輸送体 耐性遺伝子 アルミニウム毒性 マンガン毒性

1. 研究開始当初の背景

酸性土壌は世界の耕地面積の 4 割を占める典型的な問題土壌であり、現在も酸性雨などの影響で拡大している。酸性土壌にはアルミニウムイオン毒性をはじめ、マンガ毒性や栄養素の欠乏など様々な植物生育阻害要因が存在するため、作物生産性が低い。しかし、これらのストレスに対する耐性は植物種あるいは品種によって大きく異なり、一部の耐性植物は酸性土壌においても旺盛な生育を示す。しかし、これまでに酸性土壌耐性遺伝子が数個しか同定されておらず、酸性土壌耐性の分子機構の全貌はまだ解明されていない状況であった。

2. 研究の目的

本研究は一部の植物が発達させた酸性土壌での生存成長戦略の分子機構を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

遺伝子の発現は定量的RT-PCRで調べた。また組織・細胞局在は抗体染色などを用いて行った。遺伝子破壊株による表現型の解析は水耕及び土耕栽培を用いた。金属の輸送活性は酵母などに遺伝子を発現させて測定した。

4. 研究成果

(1) 植物のアルミニウム耐性遺伝子の機能同定と発現制御

イネの高アルミニウム耐性に関わる遺伝子を複数同定した。イネからアルミニウムトランスポーター*Nrat1*、液胞へのアルミニウム隔離に必要なトランスポーター*OsALS1*、クエン酸の分泌に関与する *OsFRDL4*、アルミニウム結合ペプチド *OsCDT3*、アルミニウム誘導性マグネシウム輸送体 *OsMGT1* などの機能を解明した。またこれらの耐性遺伝子の発現を制御する転写因子 *ART1* のシス配列 (GGNVS) を同定し、イネの多重な耐性機構の一端を解

明することができた。また *Nrat1* をさらに解析したところ、その発現量の違いがイネアルミニウム耐性の品種間差の原因の一つであることを明らかにした。

また酸性土壌に適応したシラゲガヤ (白毛茅) は、リンゴ酸の分泌に関与する遺伝子 *HIALMT1* のプロモーター領域に転写因子である *ART1* と結合するシス因子の数を増やして、*HIALMT1* の発現を高めていることを明らかにした。さらにオオムギのアルミニウム耐性遺伝子 *HvAACT1* の発現制御機構を調べたところ、耐性品種の *HvAACT1* 上流にある 1kb の挿入が発現量と組織局在に重要な役割を果たしていることを突き止めた。またこの遺伝子は鉄輸送に関する遺伝子から進化してきたことも明らかにした。

その他、ソバの根と葉でアルミニウムに応答して発現する遺伝子を網羅的に解析し、約 8 万の遺伝子 contig にアノテーションを付けることができた。さらに、普通ソバと同様、ダツタンソバと野生ソバもアルミニウムに応答して根から素早くシュウ酸を分泌し、根と葉では、アルミニウム-シュウ酸、導管液にはアルミニウム-クエン酸の錯体で存在していることがわかった。

(2) マンガンの吸収及び無毒化に関与する遺伝子の同定

Nramp ファミリーに属する *OsNramp5* はイネのマンガン吸収の主要な輸送体であることを明らかにした。イネのマンガン過剰耐性にニコチアナミン-Mn 錯体を輸送する *OsYSL6*、液胞膜に局在する *OsMTP8.1* が関与していることを突き止めた。さらにイネの節に存在するマンガン輸送体 *OsNramp3* が、環境中のマンガン濃度が低い時には、少ないマンガンを優先的に成長の活発な新葉や穂に分配し、マンガン濃度が高くなると、素早く分解され、その結果、過剰なマンガンは古い葉に分配されることを明らかにした。

(3) 他のミネラル吸収に関与する遺伝子の機能解析

OsHMA2 が亜鉛を優先的に成長が活発な組織に輸送し、OsHMA5 は銅の導管へのローディングに関与していることを明らかにした。銅を古い組織から新しい組織や穂へ届けるために OsYSL16 が必要であることも明らかにした。

ケイ酸トランスポーター Lsi1 の基質選択性における ar/R selectivity filter の役割を解析した。また Lsi1 の発現制御領域を転写開始点上流約 400bp の範囲まで限定した。さらに根のケイ酸吸収の数値モデルを構築し、Lsi1, Lsi2 の極性局在とカスパリー線の配置は他の作物に比べ輸送能力が高く、コストパフォーマンスが最も良いことを解明した。オオムギの地上部でのケイ素の分配に、節の木部転送細胞とその隣接の柔細胞に局在する HvLsi6 と HvLsi2 による維管束間輸送が機能していることを明らかにした。

そのほかに、BOR1 のホウ素条件による分解にリシン残基とユビキチン化が関与していること、ホウ素栄養条件に応じたトランスポーター遺伝子の発現制御に mRNA の分解が重要であることを見いだした。またホウ素過剰が DNA 損傷を引き起こし、コンデンシン II が損傷を緩和することを見いだした。さらにホウ素吸収に重要な NIP5;1 mRNA の蓄積はホウ素欠乏で 5'UTR 領域を介した制御で誘導されるが、5'UTR 領域の uORF とリボソームの相互作用によって制御が起きていることを見いだした。マグネシウムに対する感受性の高まったシロイヌナズナ変異株から原因遺伝子を複数見いだした。また銅に感受性のシロイヌナズナ変異株の生理実験と分子遺伝学実験を進めたところ、原因遺伝子は植物のペプチドホルモンの硫黄付加に関与する酵素であった。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 42 件) 全て査読有

Sakurai G, Satake A, Yamaji N, Mitani-Ueno N, Yokozawa M, Feugier FG, Ma JF (2015) In silico simulation modeling reveals the importance of the Caspian strip for efficient silicon uptake in rice roots. *Plant Cell Physiol.* 56, 631–639

Miyaji, T., Kuromori, T., Takeuchi, Y., Yamaji N., Yokosho, K., Shimazawa, A., Sugimoto, E., Omote, H., Ma, J. F., Shinozaki, K. and Moriyama, Y. 2015. [AtPHT4; 4 is a chloroplast-localized ascorbate transporter in Arabidopsis](#) *Nat. Commun.* 6:5928 doi: 10.1038/ncomms6928.

Chen, J., Wang, Y., Wang, F., Yang, J., Gao, M., Li, C., Liu, Y., Liu, Y., Yamaji N., Ma, J. F., Paz-Ares, J., Nussaume, L., Zhang, S., Yi, K., Wu, Z. and Wu, P. 2015. The rice CK2 kinase regulates trafficking of phosphate transporters in response to phosphate levels. *Plant Cell*, 27: 711–723 10.1105/tpc.114.135335

Ashikari, M. and Ma, J. F. 2015. Exploring the power of plants to overcome environmental stresses. *Rice*, 8:10, DOI 10.1186/s12284-014-0037-y

Wang, H., Chen, R. F., Iwashita, T., Shen, R. F. and Ma, J. F. 2015. Physiological characterization of aluminum tolerance and accumulation in tartary and wild buckwheat. *New Phytol.* 205:273-279. doi: 10.1111/nph.13011

Song, W. Y., Yamaki, T., Yamaji N., Ko, D., Jung, K. H., Fujii-Kashino, M., An, G., Martinoia, E., Lee, Y. and Ma, J. F. 2014. A rice ABC transporter, OsABCC1, reduces arsenic accumulation in the grain. *Proc Natl*

- Acad Sci USA* 111: 15699-15704.
- Yokosho, K., Yamaji, N. and Ma, J. F. 2014. Global transcriptome analysis of Al-induced genes in an Al-accumulating species, common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Plant Cell Physiol.* 55: 2077-2091. doi: 10.1093/pcp/pcu135
- Yamaji, N. and Ma, J. F. 2014. The node, a hub for nutrient distribution in gramineous plants. *Trends in Plant Sci.* 19: 556-563.
- Xia, J., Yamaji, N., Che, J., Shen, R. F. and Ma, J. F. 2014. Differential expression of *Nrat1* is responsible for Al-tolerance QTL on chromosome 2 in rice. *J. Exp. Bot.* 65:4297-4304.
- Xia, J., Yamaji, N. and Ma, J. F. 2014. An appropriate concentration of arginine is required for normal root growth in rice. *Plant Signaling & Behavior* 9: e28717
- Xia, J., Yamaji, N., Che, J., Shen, R. and Ma, J. F. 2014. Normal root elongation requires arginine produced by argininosuccinate lyase in rice. *Plant J.* 78: 215-226.
- Ma, J. F., Chen, Z. C. and Shen, R. F. 2014. Molecular mechanisms of Al tolerance in gramineous plants. *Plant Soil* 381:1-12.
- Mitani-Ueno, N., Ogai, H., Yamaji, N. and Ma, J. F. 2014. Physiological and molecular characterization of Si uptake in wild rice species. *Physiol. Plant.* 151: 200-207.
- Yamaji, N., Sasaki, A., Xia, J.X., Yokosho, K. and Ma, J.F. 2013. A node-based switch for preferential distribution of manganese in rice. *Nat. Commun.* 4:2442 doi: 10.1038/ncomms3442.
- Deng, F., Yamaji, N., Xia, J. and Ma, J. F. (2013) A member of heavy metal P-type ATPase *OshMA5* is involved in xylem loading of copper in rice. *Plant Physiol.* 163: 1353-1362
- Chen, Z., Fujii, Y., Yamaji, N., Masuda, S., Takemoto, Y., Kamiya, T., Yusuyin, Y., Iwasaki, K., Kato, S., Maeshima, M., Ma, J.F. and Ueno D (2013) Mn tolerance in rice is mediated by MTP8.1, a member of the cation diffusion facilitator family. *J. Exp. Bot.* 64: 4375-4387
- Xia, J. X., Yamaji, N., Ma, J. F. 2013. A plasma membrane-localized small peptide is involved in rice Al tolerance. *Plant J.* 76, 345-355
- Chen, Z. C., Yokosho, K., Kashino, M., Zhao, F. J., Yamaji, N. and Ma, J. F. 2013. Adaptation to acidic soil is achieved by increased cis-acting element numbers regulating *ALMT1* expression in *Holcus lanatus*. *Plant J.* 76: 10-23
- Chen, Z. C. and Ma, J. F. 2013 Magnesium transporters and its role in Al tolerance in higher plants. *Plant Soil*, 368: 51-56.
- Zheng, L. Q., Yamaji, N., Yokosho, K. and Ma, J. F. 2012. YSL16 is a phloem-localized transporter of the copper-nicotianamine complex that is responsible for copper distribution in rice. *Plant Cell* 24: 3767-3782.
- 21 Yamaji, N., Chiba, Y., Mitani-Ueno, N. and Ma, J. F. 2012. Functional characterization of a silicon transporter gene implicated in silicon distribution in barley. *Plant Physiol.* 160:1491-1497.
- 22 Tsutsui, T., Yamaji, N., Huang, C. H., Motoyama, R., Nagamura, Y. and Ma, J. F. 2012. Comparative genome-wide transcriptional analysis of Al-responsive genes reveals novel Al tolerance mechanisms in rice. *PLoS ONE* 7(10): e48197. doi:10.1371/journal.pone.0048197.
- 23 Sasaki, A., Yamaji, N., Yokosho, K. and Ma, J. F. 2012. *Nramp5* is a major transporter responsible for manganese and cadmium

- uptake in rice. *Plant Cell* **24**: 2155–2167.
- 24 Chen, Z. C., Yamaji, N., Motoyama, R., Nagamura, Y. and Ma, J. F. 2012. Up-regulation of a magnesium transporter gene OsMGT1 is required for conferring aluminum tolerance in rice. *Plant Physiol* **159**:1624–1633.
- 25 山地直樹・馬 建鋒 2012. 近年の農業へのケイ酸利用と研究。1. 植物のケイ酸栄養と輸送. *日本土壌肥科学雑誌* 83: 319-325
- 26 Delhaize, E., Ma, J. F. and Ryan, P.R. 2012. Transcriptional regulation of aluminium tolerance genes. *Trends Plant Sci.* **17**: 341-348
- 27 Fujii, M., Yokosho, K., Yamaji, N., Saisho, D., Yamane, M., Takahashi, H., Sato, K., Nakazono, M. and Ma, J. F. 2012. Acquisition of aluminium tolerance by modification of a single gene in barley. *Nature Communications*, 3:713 doi: 10.1038/ncomms1726.
- 28 Montpetit, J., Vivancos, J., Mitani-Ueno, N., Yamaji, N., Rémus-Borel, W., Belzile, F., Ma, J. F. and Richard R. Bélanger, R.R. 2012. Cloning, functional characterization and heterologous expression of TaLsi1, a wheat silicon transporter gene. *Plant Mol Biol* **79**:35–46
- 29 Huang, C. F., Yamaji, N., Chen, Z. and Ma, J. F. 2012. A tonoplast-localized half-size ABC transporter is required for internal detoxification of aluminum in rice. *Plant J.* **69**: 857–867
- 30 Huang, C. F., Yamaji, N., Ono, K. and Ma, J. F. 2012. A leucine-rich repeat receptor-like kinase gene is involved in the specification of outer cell layers in rice roots. *Plant J.* **69**: 565–576
- 31 Sasaki, A., Yamaji, N., Xia, J. X. and Ma, J. F. 2011. OsYSL6 is involved in the detoxification of excess manganese in rice. *Plant Physiol.* **157**: 1832-1840.
- 32 Yokosho, K., Yamaji, N. and Ma, J. F. 2011. An Al-inducible MATE gene is involved in external detoxification of Al in rice. *Plant J.* **68**: 1061-1069
- 33 Ma, J. F., Yamaji, N. and Mitani-Ueno, N. 2011. Transport of silicon from roots to panicles in plants. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B*, **87**: 377-385.
- 34 Tsutsui, T., Yamaji, N., and Ma, J. F. 2011. Identification of a cis-acting element of ART1, a C2H2-type zinc finger transcription factor for aluminum tolerance in rice. *Plant Physiol.* **156**: 925-931
- 35 Mitani-Ueno, N., Yamaji, N., Zhao, F. J. and Ma, J. F. 2011. Aromatic/arginine selectivity filter of NIP aquaporins plays a critical role in substrate selectivity for silicon, boron and arsenic. *J. Exp. Bot.* **62**: 4391-4398.
- 36 Yamaji, N. and Ma, J. F. 2011. Further characterization of a rice Si efflux transporter, Lsi2. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **57**: 259-564.
- 37 Mitani-Ueno, N., Yamaji, N. and Ma, J. F. 2011 Silicon efflux transporters isolated from two pumpkin cultivars contrasting in Si uptake. *Plant Signaling & Behavior*, **6**: 991 – 994.
- 38 Mitani, N., Yamaji, N., Ago, Y., Iwasaki, K. and Ma, J. F. 2011. Isolation and functional characterization of an influx silicon transporter in two pumpkin cultivars contrasting in Si accumulation. *Plant J.*, **66**: 231–240.
- 39 Kasai K, Takano J, Miwa K, Toyoda A, Fujiwara T (2011)High boron-induced ubiquitination regulates vacuolar sorting of the BOR1 borate transporter in Arabidopsis thaliana. *J Biol Chem* **286**, 6175-6183.

- 40 Tanaka M, Takano J, Chiba Y, Lombardo F, Ogasawara Y, Onouchi H, Naito S, Fujiwara T (2011) Boron dependent degradation of NIP5;1 mRNA for acclimation to excess boron conditions. *Plant Cell* 23, 3547-3559.
- 41 Sakamoto T, Tsujimoto-Inui Y, Uraguchi S, Yoshizumi T, Matsunaga S, Mastui M, Umeda M, Fukui K, Fujiwara T (2011) Condensin II alleviates DNA damage and is essential for tolerance of B overload stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 23, 3533-3546.
- 42 Xia, J. X., Yamaji, N. Kasai, T. and Ma, J. F. 2010. Plasma membrane-localized transporter for aluminum in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:18381-18385.

[学会発表](計 40 件)

Ma, J. F., Yamaji, N. and Mitani-Ueno, N. Silicon transporters and their role in plants. 6th International Conference on Silicon in Agriculture. Stockholm, Sweden, August 26-30, 2014. (Aug. 28 発表)

Ma, J. F., Yamaji, N. and Sasaki, A. Molecular mechanisms of mineral element distribution in rice. 12th International Symposium on Rice Functional Genomics. Arizona, USA, November 16-19, 2014.

Ma, J. F., Yamaji, N., Sasaki, A., Mitani-Ueno, N. and Ueno, D. Mineral transport from soil to seed. XVII International Plant Nutrition Colloquium 2013, Plant Nutrition for Nutrient and Food Security. Istanbul, Turkey, Aug. 19-22, 2013 (Aug. 22 発表)

[図書](計 件)

[産業財産権]

出願状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬 建鋒 (MA, Jian Feng)

岡山大学・資源植物科学研究所・教授

研究者番号: 80260389

(2) 研究分担者

山地 直樹 (YAMAJI, Naoki)

岡山大学・資源植物科学研究所・准教授

研究者番号: 00444646

藤原 徹 (FUJIWARA, Toru)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号: 80242163

(3) 連携研究者

()

研究者番号: