

機関番号：23303

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17078002

研究課題名（和文） 必須金属栄養素の吸収、移行と分配の分子機構

研究課題名（英文） Molecular mechanism of uptake and translocation of essential metal nutrients in plants.

研究代表者

西澤 直子 (NISHIZAWA NAOKO)

石川県立大学・生物資源環境学部・教授

研究者番号：70156066

研究成果の概要（和文）：

必須元素である鉄の吸収と体内移行に働く輸送体遺伝子を単離しその機能を明らかにした。鉄栄養制御の分子機構において中心となる転写因子を発見し、鉄欠乏応答遺伝子発現制御のネットワークの概要を明らかにした。鉄栄養に関与する遺伝子群を利用して多くのアルカリ土壌耐性イネを作出し圃場検定した。また貧血症改善に効果のある鉄含量の高いコメの開発にも成功した。

研究成果の概要（英文）：

Iron is essential for most living organisms and is required for normal plant growth. We identified two novel *cis*-acting elements, IDE1 and IDE2, in the promoter of iron-deficiency-inducible *IDS2* gene and two rice transcription factors, IDEF1 (IDE-binding factor 1) and IDEF2, which specifically bind to IDE1 and IDE2, respectively. IDEF1 efficiently binds to the CATGC sequence within IDE1. *IDEF1* transcripts are constitutively present in rice roots and leaves. Transgenic rice plants expressing *IDEF1* tolerate iron deficiency in calcareous soil. Expression analysis of these transgenic plants revealed that *IDEF1* positively regulates iron-deficiency-induced genes, including the ferrous iron transporter gene *OsIRT1* and the iron-deficiency-induced transcription factor gene *OsIRO2*. *OsIRO2* regulates the expression of various Fe-deficiency-inducible genes including those for phyto siderophore biosynthesis. IDEF2 recognizes CA[A/C]G[T/C][T/C/A][T/C/A] within IDE2. IDEF2 transcripts are constitutively present in rice roots and leaves. Microarray analysis showed that IDEF2 is involved in the regulation of Fe-deficiency-inducible genes, including the Fe(II)-nicotianamine transporter gene *OsYSL2*. These data suggest the presence of a sequential gene regulatory network that functions via novel *cis* element/*trans* factor interactions to promote the iron-deficiency response.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 17 年度	23,500,000	0	23,500,000
平成 18 年度	23,500,000	0	23,500,000
平成 19 年度	23,500,000	0	23,500,000
平成 20 年度	22,500,000	0	22,500,000
平成 21 年度	22,500,000	0	22,500,000
総計	115,500,000	0	115,500,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・土壌学

キーワード：

ミネラル栄養・金属錯体トランスポーター・ニコチアナミン・ムギネ酸・環境耐性作物

## 1. 研究開始当初の背景

植物が環境中から無機元素を取り込み、有機物に変換することによってヒトの生存は支えられている。植物は生育場所から動くことができないため、これらの無機元素を、それらが低濃度にしか環境中に存在しない場合でも、効率良く吸収して利用する必要がある。このため植物は、動物とは異なる独自の膜輸送系を発達させて、土壌に存在する極めて低濃度の無機栄養を吸収し、維管束系を経由して植物体内を循環させている。この過程は植物の成長、分化、環境応答、作物生産ばかりではなく、地球環境における物質循環に重要な役割を担っている。古くから栄養吸収や環境ストレスと植物膜輸送の関係は研究されてきたが、分子レベルでは未解明な点が多い状況であったことから、明確な理解と植物の生存維持への戦略が立てにくい状況であった。しかし、十数年前から、植物における膜輸送系の同定を分子レベルで進められるようになってきた。本特定領域研究では、発足当時急速に分子レベルでの研究が進展し始めていた「植物の養分吸収と循環に関与する輸送体」の同定と解析、それらの環境条件による制御機構を研究の対象とし、植物が進化の過程で獲得した独自の物質輸送機構の解析とその応用について世界をリードする研究の推進をめざした。

## 2. 研究の目的

植物は土壌中から必須栄養素である鉄、亜鉛、銅、マンガンなどの金属元素をトランスポーターによって細胞内に取り込み、必要とされる部位に送り込む。金属元素は生体機能の維持に必須であると同時に、細胞内にフリーのイオンとして過剰に存在することが細

胞に障害をもたらすという2面性をもっている。そのため植物は、トランスポーターを制御することにより、金属元素の吸収を厳密に制御している。これまでに我々はイネの「金属・キレート」複合体トランスポーターと想定される18個の遺伝子を単離した。そのうちのひとつについては「金属・ニコチアナミン」のトランスポーターであることを明らかにしている。本研究では、それ以外の遺伝子についてその機能を解析し、植物における必須金属栄養素の吸収、移行、分配の分子機構において「金属・キレート」複合体トランスポーターの果たす役割を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

植物は土壌中から必須栄養素である鉄や亜鉛などの金属元素を、トランスポーターによって細胞内に吸収し、必要とされる部位に送り込む。金属元素は生体機能の維持に必須であると同時に、過剰に存在すると障害を生じるため、植物はトランスポーターを制御することにより金属元素の吸収を厳密に制御している。我々はイネの「金属・キレート」複合体トランスポーターをコードすると想定される18個の遺伝子を単離した。これらの遺伝子についてその機能を解析し、植物における必須金属栄養素の吸収、移行、分配の分子機構において「金属・キレート」複合体トランスポーターの果たす役割を明らかにすることを目的として研究を進めた。

## 4. 研究成果

植物に吸収されて利用される各種元素の輸送機構やその制御、および成長阻害をもたらす重金属元素の排除機構が明らかにされ

たことに加えて、膜輸送にともなう植物の恒常性維持機構や、成長や分化にかかわる新たな現象も見いだされてきた。これらの知見は、植物における物質生産や有用品種の分子育種につながる基礎的な知見として、一流の国際学術雑誌・専門誌に発表された。研究発足時に比較して、本特定領域研究が実施されたことにより、当該分野における日本のプレゼンスが高まり、世界をリードする研究発信を行うことができたと考えている。

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 59 件）

- (1) Nozoye T, Nagasaka S, Kobayashi T, Takahashi M, Sato Y, Sato Y, Uozumi N, Nakanishi H, Nishizawa NK. (2011) Phytosiderophore Efflux Transporters Are Crucial for Iron Acquisition in Gramineous Plants. *The Journal of Biological Chemistry* (査読有) 286: 5446-5454 (2011)
- (2) Kobayashi T, Nakanishi Itai R, Ogo Y, Kakei Y, Nakanishi H, Takahashi M, Nishizawa NK. (2009) The rice transcription factor IDEF1 is essential for the early response to iron deficiency and induces vegetative expression of late embryogenesis abundant genes. *The Plant Journal* (査読有) 60: 948-961
- (3) Lee S, Jeon US, Lee SJ, Kim Y-K, Persson DP, Husted S, Schjørring JK, Kakei Y, Masuda H, Nishizawa NK, An G. (2009) Iron fortification of rice seeds through activation of the nicotianamine synthase gene. *Proceedings of the National Academy of the USA* (査読有) 106: 22014-22019
- (4) Ishimaru T, K. Akemi K. Horigane, Ida M, Iwasawa N, Yumiko A. San-oh, Nakazono M, Nishizawa NK, Masumura T, Kondo M, Yoshida M. (2009) Formation of grain chalkiness and changes in water distribution in developing rice caryopses grown under high-temperature stress. *Journal of Cereal Science* (査読有) 50: 166-174
- (5) Inoue H, Kobayashi T, Nozoye N, Takahashi M, Kakei Y, Suzuki K, Nakazono M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. (2009) Rice OsYSL15 is an iron-regulated iron(III)-deoxymugineic acid transporter expressed in the roots and is essential for iron uptake in early growth of the seedlings. *Journal of Biological Chemistry* (査読有) 284: 3470-3479
- (6) Ishimaru Y, Masuda H, Bashir K, Inoue H, Tsukamoto K, Takahashi M, Nakanishi H, Aoki N, Hirose T, Ohsugi R, Nishizawa NK. (2009) Rice metal-nicotianamine transporter, OsYSL2, is required for the long-distance transport of iron and manganese. *The Plant Journal* (査読有) 62: 379-390
- (7) Suzuki M, Morikawa CK, Nakanishi H, Takahashi M, Saigusa M, Mori S, Nishizawa NK. (2008) Transgenic rice lines that include barley genes have increased tolerance to low iron availability in a calcareous paddy soil. *Soil Science and Plant Nutrition* (査読有) 54: 77-85
- (8) Ogo Y, Kobayashi T, Nakanishi Itai R, Nakanishi H, Kakei Y, Takahashi M, Toki

- S, Mori S, Nishizawa NK. (2008) A Novel NAC Transcription Factor, IDEF2, That Recognizes the Iron Deficiency-responsive Element 2 Regulates the Genes Involved in Iron Homeostasis in Plants. *Journal of Biological Chemistry* (査読有) 283: 13407-13417
- (9) Ishimaru Y, Kim S, Tsukamoto T, Oki H, Kobayashi T, Watanabe S, Matsuhashi S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. (2007) Mutational reconstructed ferric chelate reductase confers enhanced tolerance in rice to iron deficiency in calcareous soil. *Proceedings of the National academy of Science of the USA* (査読有) 104: 7373-7378
- (10) Kobayashi T, Ogo Y, Nakanishi Itai R, Nakanishi H, Takahashi M, Mori S, Nishizawa NK. (2007) The transcription factor IDEF1 regulates the response to and tolerance of iron deficiency in plants. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* (査読有) 104: 19150-19155
- (11) Ogo Y, Nakanishi Itai R, Nakanishi H, Kobayashi T, Takahashi M, Mori S, Nishizawa NK (2007) The rice bHLH protein OsIRO2 is an essential regulator of the genes involved in Fe uptake under Fe-deficient conditions. *The Plant Journal* (査読有) 51, 366-377
- (12) Ishimaru Y, Suzuki M, Tsukamoto T, Suzuki K, Nakazono M, Kobayashi T, Wada Y, Watanabe S, Matsuhashi S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. (2006) Rice plants take up iron as an Fe<sup>3+</sup>-phytosiderophore and as Fe<sup>2+</sup>. *The Plant Journal* (査読有) 45: 335-346
- (13) Bashir K, Nagasaka S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. (2006) Cloning and characterization of deoxymugineic acid synthase genes from graminaceous plants. *Journal of Biological Chemistry* (査読有) 281: 32395-32402
- (14) Suzuki M, Takahashi M, Tsukamoto T, Watanabe S, Matsuhashi S, Yazaki J, Kishimoto N, Kikuchi S, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. (2006) Biosynthesis and secretion of mugineic acid family phytosiderophores in zinc-deficient barley. *The Plant Journal* (査読有) 48: 85-97
- (15) Tsuji H, Aya K, Ueguchi-Tanaka M, Shimada Y, Nakazono M, Watanabe R, Nishizawa NK, Gomi K, Shimada A, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M. (2006) GAMYB controls different sets of genes and is differentially regulated by microRNA in aleurone cells and anthers. *The Plant Journal* (査読有) 47: 427-444
- (16) Kobayashi T, Suzuki M, Inoue H, Nakanishi Itai R, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. (2005) Expression of iron-acquisition-related genes in iron-deficient rice is co-ordinately induced by partially conserved iron-deficiency-responsive elements. *Journal of Experimental Botany* (査読有) 56: 1305-1316

[学会発表] (計 270 件)

- (1) 西澤直子, ワークショップ「チャンネル・

- トランスポーターによる植物機能制御の分子基盤. Molecular basis of the regulation of plant growth and development by ion channels and transporters」BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会) 2010.12.10 兵庫県・神戸市
- (2) 西澤直子, 平成22年度日本農学賞・読売農学賞受賞記念講演「植物の鉄栄養制御に関する研究」日本土壌肥料学会2010年度北海道大会2010.9.8 北海道・札幌市
- (3) Naoko Nishizawa, “The regulation of iron transport and homeostasis in Strategy II plants.” the 15th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants 2010.7.27 ハンガリー・ブダペスト
- (4) 西澤直子「植物によるカドミウムのレメディエーション」日本学術会議公開シンポジウム「植物を活かす—植物を利用したグリーンイノベーションに向けて」2010.5.29 東京
- (5) 西澤直子「鉄栄養制御の分子機構と新機能作物作出への応用」中部土壌肥料研究会春の講演会 2010.5.26 愛知県・名古屋市
- (6) 西澤直子「植物の鉄栄養とその制御」日本原子力研究開発機構 生命科学研究シンポジウム2010 2010.3.16 東京
- (7) Naoko Nishizawa, “Iron uptake and loading in the rice grain.” The 6th International Rice Genetics Symposium (RG6) and 7th International Symposium on Rice Functional Genomics 2009.11.16 フィリピン・マニラ
- (8) 西澤直子, シンポジウム「植物の鉄欠乏応答の発現制御機構」検討課題「バイオテク手法を用いた食料生産性向上を目指した実用的な作物開発研究の方向」平成20年度北海道農業試験研究推進会議生物工学会 2009.2.2 北海道・札幌市
- (9) 西澤直子「農耕地の拡大を目指した不良土壌耐性作物の作出」第10回RIBSバイオサイエンスシンポジウム「食糧・バイオマス生産性の飛躍的向上に向けて」2008.10.31 岡山県・岡山市
- (10) Naoko K. Nishizawa, “The novel transcription factors IDEF1 and IDEF2 regulate the iron deficiency response and tolerance in rice through binding to iron deficiency-responsive elements.” The 6th International Symposium of Rice Functional Genomics 2008.11.10-12 韓国・済州島
- (12) 西澤直子「極限土壌における植物の耐性戦略に関わる分子とその応用」極限環境微生物学会第9回シンポジウム 2008.7.11 東京
- (13) Naoko Nishizawa, “Molecules required for the iron deficiency response in plants.” FASEB Summer Research Conferences 2008.6.18 アメリカ・コロラド
- (14) Naoko K. Nishizawa, “OsYSL family transporters involved in the uptake and translocation of iron in rice plants.” ISINIP2006 2006.7.4 フランス・モンペリエ
- (15) Naoko K. Nishizawa, “Mineral Nutrients and Organelle.” The 53rd NIBB Conference “Dynamic Organelles in Plants” 特定領域研究「植物の環境適応戦略としてのオルガネラ分化」2006.6.17 愛知県・岡崎市
- (16) 西澤直子「不良土壌耐性遺伝子をヒトの健康に役立てる」イネゲノム解読記念シンポジウム 2006.3.22 茨城県・つくば市

(17) Naoko K. Nishizawa, “Rice metal-nicotianamine and iron-phytosiderophore transporters involved in the uptake, translocation and accumulation of minerals in grains.” 5th International Rice Genetics Symposium 2005. 11. 19-23 フィリピン・マニラ

(18) 西澤直子 「植物の養分吸収と循環系 明日を担う植物科学」 シンポジウム—植物科学：分子動態から群落生産まで—2005. 10. 14 東京

(19) Nishizawa NK, “Rice metal-nicotianamine and iron-phytosiderophore transporters involved in the uptake and translocation of metal nutrients.” XV IPNC 2005 2005. 9. 15 中国・北京

(20) 西澤直子 「植物細胞における小胞体由来構造の解析」 日本顕微鏡学会第 61 回学術講演会 2005. 6. 1 茨城県・つくば市

〔図書〕 (計 4 件)

(1) Kobayashi T, Nakanishi H, Nishizawa NK. Recent insights into iron homeostasis and their application in graminaceous crops. Proceedings of the Japan Academy, Series B(Proc. Jpn. Acad., Ser. B) Vol. 86 (2010), No. 9 pp.900-913

(2) Kobayashi T, Nishizawa NK. Regulation of Iron and Zinc Uptake and Translocation in Rice. **Rice Biology in the Genomics Era** *Biotechnology in Agriculture and Forestry 62*(eds by H.-Y. Hirano et al.) pp 321-335 (2008) Springer

(3) Bashir K, Nishizawa NK. Deoxymugineic Acid Synthase. A Gene Important for

Fe-Acquisition and Homeostasis. Plant Signaling & Behavior vol.1 Issue 6 pp290-292, Landes Bioscience (2006)

(4) Kobayashi T, Nishizawa NK, Mori S. Molecular analysis of iron-deficient Gramineous plants. *In Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms* (eds by L. L. Barton and J. Abadía) pp 395-435, Springer Inc. (2006)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

1. 名称：植物の鉄欠乏耐性を向上させるポリペプチドおよびその利用

発明者：独立法人科学技術振興機構

権利者：西澤直子、森敏、小林高範、小郷裕子

種類：特許

番号：特願 2009-512948

出願年月日：平成 20 年 4 月 24 日

国内外の別：国外

2. 名称：デオキシムギネ酸合成酵素およびその利用

発明者：独立法人科学技術振興機構

権利者：西澤直子、森敏

種類：特許

番号：特願 2006-218548

出願年月日：平成 18 年 8 月 10 日

国内外の別：国外

〔その他〕

ホームページ等

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西澤 直子 (NISHIZAWA NAOKO)

石川県立大学・生物資源環境学部・教授

研究者番号：70156066

(2) 研究分担者

高橋 美智子 (TAKAHASHI MICHIKO)

宇都宮大学・農学部・准教授

研究者番号：90345182