

生物界初のホウ素輸送を担う分子の同定と制御機構の解明

高野順平 (東京大学 生物生産工学研究センター)

ujtakano@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

ホウ素は植物の必須栄養元素の一つであり、近年では動物における必須性も示されつつある。しかしながら、生物におけるホウ素輸送の分子メカニズムはほとんど不明であった。本研究では、モデル植物であるシロイヌナズナから、生物界で初めてホウ素の膜輸送を担う分子を同定した。また同定したホウ素輸送体の制御機構の解析を通じて、植物の細胞膜タンパク質のエンドサイトーシスによる分解とその栄養条件による制御を初めて明らかにした。

はじめに

ホウ素は植物の生育に必須であり、ホウ素の欠乏および過剰は作物生産を抑制する農業上の重大な問題点である。ホウ素の生理機能については、細胞壁構成多糖の一つであるラムノガラクトソナン II とエステル結合を形成し細胞壁の構造維持に寄与することが明らかにされている¹⁾。一方、ホウ素の膜輸送と植物における吸収および移行については、本研究以前に分子レベルの知見はほとんどなかった。ホウ素は水溶液中にて主に電荷のないホウ酸 ($B(OH)_3$) として存在することから、脂質二重層を受動拡散にて透過するほか、水チャネルを含む MIP (major intrinsic protein) family に属するタンパク質を介して透過することが示唆されていた²⁾。しかしながら、実際に植物体においてホウ素輸送を担う輸送体は同定されていなかった。本研究では、生物界で初めてのホウ素トランスポーターを同定した。また、さらにその制御機構の解析を通じて、植物の細胞膜タンパク質の分解経路を初めて明らかにした。続いて、ホウ素吸収に働くホウ酸チャネルを同定した。

導管へのホウ素積み込みに働くホウ素トランスポーターBOR1の同定

野口らは、シロイヌナズナ *bor1-1* 変異株はホウ素の導管への積極的な輸送機構に欠損をもつために低ホウ素条件下での生育が抑制されることを明らかにしていた^{3, 4)}。本研究では、この変異株についてさらに解析を行い、シロイヌナズナ野生型株は低ホウ素条件下で若い葉へ優先してホウ素を輸送すること、変異株はその優先的な輸送を行っていないことを示した⁵⁾。これより、BOR1 は根における導管へのホウ素輸送に加え、地上部における生長部位への優先的ホウ素輸送も担っていると考えられた。

bor1-1 変異は劣性一遺伝子変異であり、安森らによって変異遺伝子座のマッピング(ポジショナルクローニング)が進められていた。本研究ではさらにポジショナルクローニングを進め、遺伝子の同定に成功した⁶⁾。その結果、BOR1 は動物の重炭酸イオン(HCO_3^-)トランスポーターに相同性を持つ膜タンパク質であると予測された。また、BOR1 は根の中心柱において強く発現し、細胞膜に局在することを示した。さらに、酵母を用いて BOR1 は排出型のホウ素トランスポーターであることを示した。アニオントランスポーターとの相同性より、おそらく BOR1 はホウ酸アニオン ($B(OH)_4^-$) を輸送するものと考えられる。BOR1 は低ホウ素条件下に中心柱においてホウ素を細胞外に排出して導管に積み込み、地上部のホウ素濃度を十分に保つ役割を担うと考えられる(図)。本研究の成果は、生物界で初のホウ素輸送体の同定となった。またこの解析の過程において、酵母 BOR1 相同タンパク質もまた排出型ホウ素トランスポーターであることを明らかにした。

ホウ素トランスポーター・のホウ素栄養に依存したエンドサイトーシスと分解

ホウ素は植物に欠乏害と過剰害の両方を引き起こしやすいことから、ホウ素輸送系は厳密に制御される必要がある。本研究では、BOR1 による地上部へのホウ素輸送活性は低ホウ素条件下で顕著であり、高濃度のホウ素供給後にすみやかに抑制されることを生理学的に示した⁷⁾。また、このホウ素条件による BOR1 の制御は転写後調節によることを示した。続いて、BOR1-GFP 融合タンパク質を構成的に発現する形質転換植物の根端において、BOR1-GFP は低ホウ素条件下に細胞膜に局在し、高濃度のホウ素供給後にエンドソームを介し液胞へ輸送され分解されることを明らかにした。植物はエンドサイトーシスによって BOR1 をすみやかに不活性化し、ホウ素の地上部への過剰輸送を防いでいると考えられる。本研究は、植物細胞において初めてエンドサイトーシスによる細胞膜タンパク質の分解とその栄養条件による制御を示したものである。

ホウ素の根への吸収に働くホウ酸チャンネル NIP5;1 の同定

本研究では、シロイヌナズナの根で低ホウ素条件下に発現誘導を受ける遺伝子をマイクロアレイ解析により検索し、NIP5;1 を同定した⁸⁾。NIP (Nod26-like intrinsic protein) は前述した MIP family の四つの subfamily のうちの一つであり、そのメンバーの植物体における生理機能はほとんど知られていなかった。本研究では、アフリカツメガエル卵母細胞を用いた解析により、NIP5;1 はホウ酸を輸送することを示した。また、NIP5;1 は低ホウ素条件下に根の伸長領域および比較的若い根毛領域に強く発現し、細胞膜に局在することを示した。さらに、*nip5;1* T-DNA 挿入変異株は根へのホウ素吸収に欠損をもち、低ホウ素条件下における植物の生長が抑制されていることを示した。以上より、NIP5;1 は根へのホウ素吸収に働くホウ酸チャンネルであり、低ホウ素条件下の植物の生育に必須であることを明らかにした(図)。

まとめと応用

以上の一連の研究により、ホウ素のトランスポーターBOR1 とチャンネル NIP5;1 を同定し、シロイヌナズナにおけるホウ素輸送の分子メカニズムの一端を描くことができた。最近、植物・酵母・動物においてこれら輸送体の相同タンパク質がホウ素を輸送し、ホウ素の欠乏や過剰条件への適応に重要な役割を担うことが次々に示されている。さらに私たちは、BOR1 を過剰発現する形質転換シロイヌナズナでは、根から地上部へのホウ素輸送量が上昇しており、低ホウ素条件下における生長、特に稔実が改善していることを示した⁹⁾。本成果を作物に応用することにより、世界中に分布するホウ素欠乏土壌での作物収量増加に貢献できると考えている。

謝辞

本研究は主に東京大学農学生命科学研究科植物栄養・肥料学研究室、東京大学生物生産工学研究センター植物機能工学研究室、ドイツ Hohenheim 大学植物栄養学研究所において行ったものです。東京大学の藤原徹助教授には一貫して熱意にあふれたご指導を頂き、深く感謝いたします。東京大学の米山忠克教授と林浩昭助教授、Hohenheim 大学の Nicolaus von Wirén 教授には、暖かいご指導やご助言を頂きました。BOR1 に関する研究は野口享太郎博士と安森美帆博士の研究に基づいたものであり、小林正治君、三輪京子さんらの協力を頂き行いました。NIP5;1 に関する研究は和田素子さんと共同で行いました。ドイツ Tübingen 大学の Uwe Ludwig 博士には、アフリカツメガエル卵母細胞を用いた実験をご指導いただきました。研究室の皆様をはじめご助言ご助力いただきました多くの皆様、そして研究生活を常に支えてくださった私の妻と両親に深く感謝し御礼申し上げます。

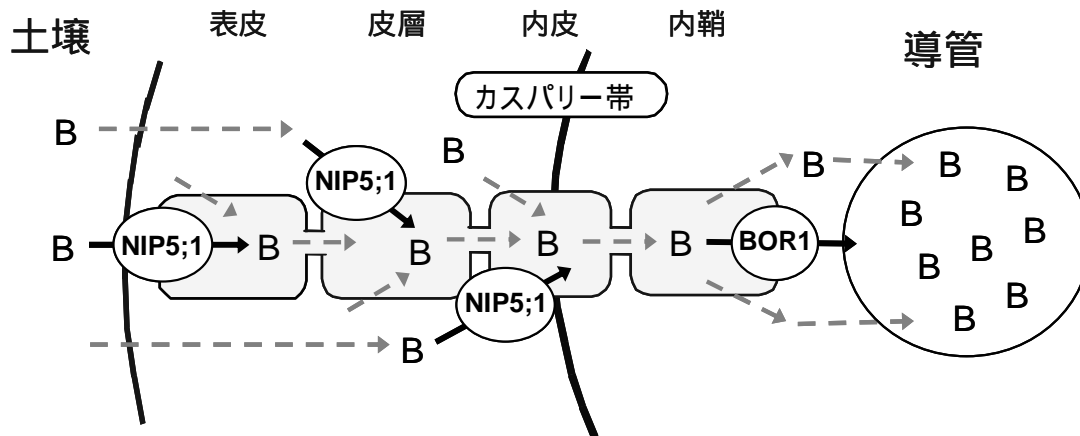


図.低ホウ素条件下のシロイヌナズナ根におけるホウ素輸送ルートと BOR1 および NIP5;1 の役割
 土壌中から導管へ至る細胞外（アポプラスト）経由の養分の移行は、内皮の細胞壁に存在するカスパリー帯によって遮られている。NIP5;1 によって表皮、皮層、内皮の細胞内に吸収されたホウ素は、細胞内（シンプラスト）経由でカスパリー帯の内側（中心柱）に運ばれる。続いてホウ素は、BOR1 によって内鞘から細胞外へ排出され、導管を経由して地上部へ運ばれる。BOR1 は地上部においても生長部位へのホウ素の優先的分配に働く。NIP5;1 は主に転写レベル、BOR1 は主に翻訳後レベルの制御によって低ホウ素条件下に機能する。

引用文献

- 1) O'Neill, M.A., Ishii, T., Albersheim, P., and Darvill, A.G. (2004) Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55:109-139.
- 2) Dordas, C., Chrispeels, M.J., and Brown, P.H. (2000) Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. *Plant Physiol.* 124:1349-1361.
- 3) Noguchi, K., Yasumori, M., Imai, T., Naito, S., Matsunaga, T., Oda, H., Hayashi, H., Chino, M., and Fujiwara, T. (1997) *bor1-1*, an *Arabidopsis thaliana* mutant that requires a high level of boron. *Plant Physiol.* 115:901-906.
- 4) Noguchi, K., Dannel, F., Pfeffer, H., Römheld, V., Hayashi, H., and Fujiwara T. (2000) Defect in root-shoot translocation of boron in *Arabidopsis thaliana* mutant *bor1-1*. *J. Plant Physiol.* 156:751-755.
- 5) Takano, J., Yamagami, M., Noguchi, K., Hayashi, H. and Fujiwara, T. (2001) Preferential translocation of boron to young leaves in *Arabidopsis thaliana* regulated by the *BOR1* gene. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 47:345-357.
- 6) Takano, J., Noguchi, K., Yasumori, M., Kobayashi, M., Gajdos, Z., Miwa, K., Hayashi, H., Yoneyama, T. and Fujiwara, T. (2002) Arabidopsis boron transporter for xylem loading. *Nature*, 420:337-340 .
- 7) Takano, J., Miwa, K., Yuan, L., von Wirén, N. and Fujiwara, T. (2005) Endocytosis and degradation of BOR1, a boron transporter of *Arabidopsis thaliana*, regulated by boron availability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102:12276~12281.

- 8) Takano, J., Wada, M., Ludewig, U., Schaaf, G., von Wirén, N., and Fujiwara, T. (2006) The Arabidopsis major intrinsic protein NIP5;1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation. *Plant Cell*, 18:1498-1509 .
- 9) Miwa, K., Takano, J., and Fujiwara, T. (2006) Improvement of seed yields under boron-limiting conditions through overexpression of BOR1, a boron transporter for xylem loading, in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 46:1084-1091 .

Identification of boron transporters and characterization of their regulatory mechanisms

Junpei Takano (Biotechnology Research Center, The University of Tokyo)

ujtakano@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp