

イネの鉄吸収トランスポーターに関する研究

石丸泰寛（東北大学大学院理学研究科）

yasnrn@m.tohoku.ac.jp

地球上の陸域には 67% の不良土壌（石灰質土壌、高塩類集積土壌、強酸性土壌、重金属集積土壌）が存在する。爆発的に増加すると予想される人口に見合う食糧増産を達成するためには、これらの不良土壌でも生育する「不良土壌耐性」穀物を遺伝子工学によって創製する必要がある。石灰質土壌では鉄が水酸化鉄（III）の結晶として不溶態化しており、植物は必須元素である鉄を吸収できずに鉄欠乏に陥る。本研究では、イネの鉄栄養に関わるトランスポーターを解析して、新たな鉄吸収・移行経路を明らかにした。これらの機構を応用して、石灰質土壌耐性の形質転換イネを創製し、食糧生産の増加と沙漠の緑化を目指した。また、世界に 37 億人と推定される鉄欠乏貧血症を改善する機能性食品としてのコメを創製することに挑戦した。

はじめに

植物において鉄はクロロフィル生合成、光合成、呼吸など多くの機能を果たすために必要不可欠な元素である。鉄は土壌中に豊富に存在しているが、好氣的条件下では、そのほとんどは酸化され、植物が容易に利用できない難溶態である水酸化鉄（III）やその各種誘導体となっている。特に、石灰質土壌では、pH が高く、鉄はさらに難溶性になっている。そのため、高等植物はこのような鉄欠乏条件を克服するために、土壌からの鉄を積極的に吸収するための「キレート戦略」、「還元戦略」という 2 種類の異なった戦略を進化させてきた。イネやムギ、トウモロコシなどイネ科の植物ではムギネ酸類を根から分泌して、土壌中の三価鉄を「三価鉄・ムギネ酸類」にして、そのまま吸収する「キレート戦略」を取っている。イネ科以外の植物では、プロトンを放出して pH を下げ、フェノール性酸を放出して可溶化し、根の表面の三価鉄還元酵素により、三価鉄を二価鉄に還元して、二価鉄イオンの形で吸収する「還元戦略」をとる。

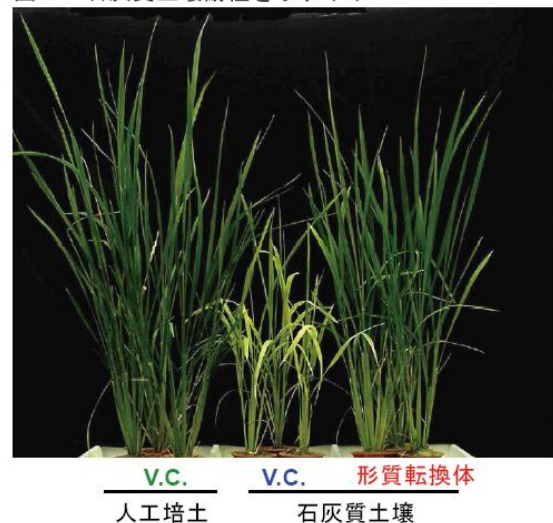
イネの新規の鉄吸収機構の解明と

鉄欠乏耐性イネの創製

これまで「還元戦略」を用いるイネは、三価鉄・デオキシムギネ酸錯体として鉄を吸収すると報告されてきた。本研究により、「キレート戦略」の鉄吸収機構に加え、イネは「還元戦略」の一部である二価鉄吸収機構を持つことを明らかにした。イネの鉄欠乏誘導性二価鉄トランスポーター遺伝子 *OsIRT1* が、鉄欠乏条件の根の表皮細胞で発現すること、吸収実験によりイネが、三価鉄・デオキシムギネ酸錯体と二価鉄の双方を吸収することから証明した¹¹。

一方、イネは、これらの 2 種類の鉄吸収機構を持っているにも関わらず、デオキシムギネ酸の

図 1. 石灰質土壌耐性を示すイネ



分泌量が少なく、三価鉄を二価鉄に還元する三価鉄還元酵素活性も低いために、鉄欠乏条件に弱い。そこで、完全合成した酵母由来の三価鉄還元酵素遺伝子に、PCR で変異を入れ改変した *refre1/372* を、*OsIRT1* のプロモーターにつなぎ、イネに導入した。形質転換体は、鉄欠乏の根において約2倍の三価鉄還元酵素活性を示した。その結果、形質転換体は石灰質土壌で耐性を示し、また収量も約8倍に増加した (図1)^{9,10}。

亜鉛輸送体の同定と解析

OsIRT1 に相同性の高い、亜鉛欠乏のイネの根で発現が誘導される新規の亜鉛トランスポーター遺伝子 *OsZIP4* を見出し、細胞分裂時に必要とされる亜鉛を分裂組織に優先的に送り込む重要なトランスポーターであることを明らかにした¹²。*OsZIP4* を過剰発現させたイネでは、種子中の亜鉛含量が5分の1に減少し、葉でも5分の1に減少したが、その一方で根では10倍に増加した。*OsZIP4* 過剰発現体のマイクロアレイ解析を行ったところ、亜鉛の蓄積量と一致して、葉では亜鉛欠乏になり、根では亜鉛過剰になっていた。これらの結果は、*OsZIP4* は、亜鉛を分裂組織に優先的に送り込む機構に関与すると考えられ、イネの亜鉛輸送機構に重要な機能を果たしていることを明らかにした⁸。また、鉄制御に関わる転写因子が、亜鉛過剰条件で亜鉛輸送にも関わることを明らかにした^{4,7}。

鉄高蓄積米の創製

鉄欠乏性贫血を改善する機能性食品としてのコメを創製するために、種子中への鉄輸送に関わるトランスポーターを解析した。イネのニコチアミン-鉄トランスポーター *OsYSL2* の発現抑制イネや過剰発現イネを作製し解析することで、*OsYSL2* が鉄の体内輸送に重要な役割を担うことを明らかにした^{5,6}。さらに、スクローストランスポーターのプロモーターを用いて *OsYSL2* の発現を制御することにより、胚乳中の鉄含量を4倍に増加させることに成功した。

ミトコンドリアの鉄吸収輸送体の発見

鉄は、根から吸収され、体内移行して、必要な部位に運ばれ、そして、細胞内でも適切な器官に輸送されねばならない。ミトコンドリアは、呼吸によってエネルギーを作り出す細胞内小器官である。この電子伝達系を触媒する酵素の活

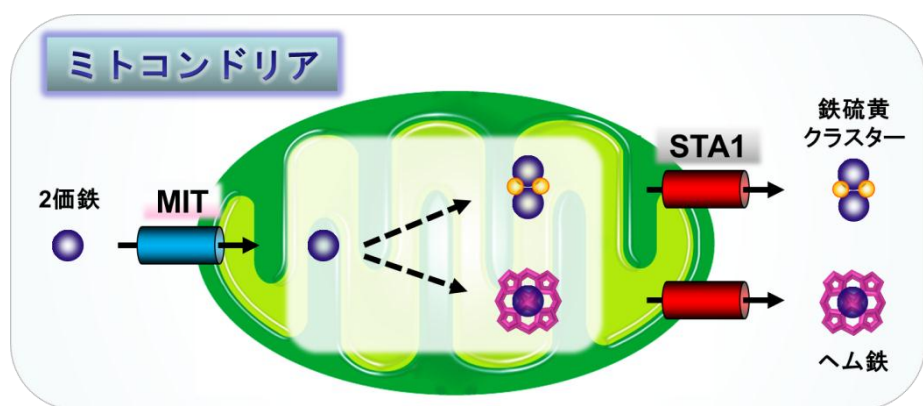


図2. ミトコンドリア鉄トランスポーター

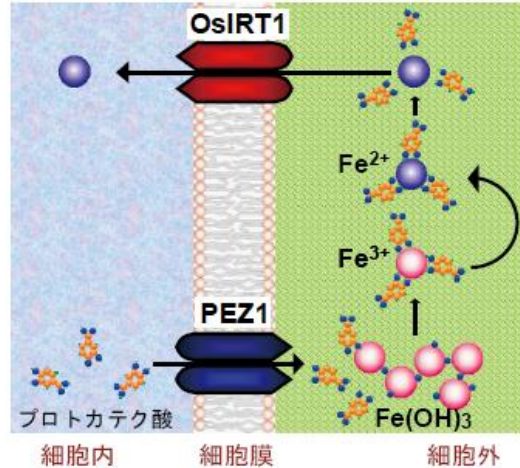
性中心には鉄は必須である。また、鉄を構成成分とするヘムや鉄硫黄クラスターの合成にも関わる。本研究で、遺伝子欠損イネのライブラリーから、鉄を過剰に蓄積するが、鉄欠乏症状であるクロロシスを示すイネを選抜した。原因遺伝子を特定して、機能解析を行い、ミトコンドリア鉄吸収トランスポーターMITを同定した(図2)³。MITの欠損イネでは、ミトコンドリア内の鉄や細胞室

内の鉄硫黄クラスター量が減少して、致死となることから、MIT はイネの生育に必須であることが示された。また、鉄欠乏処理したイネのマイクロアレイ解析より、鉄欠乏誘導性の機能未知のミトコンドリアタンパク質 MIR を同定し、鉄の恒常性に関わることを明らかにした。

フェノール性酸輸送体の発見

生物界で初めてのフェノール性酸放出のトランスporter PEZ1 を同定し、プロトカテク酸を輸送することを明らかにした(図3)^{1,2}。PEZ1 欠損イネでは、導管中の鉄濃度が減少するが、細胞外で三価鉄の蓄積が多く観察された。このことから、PEZ1 によって細胞外に放出されたプロトカテク酸が、沈着した三価鉄の可溶化に関わることを明らかにした。そして、可溶化された鉄は二価鉄に還元され、OsIRT1 によって、吸収されていることが強く示唆された。

図3. イネの導管における鉄吸収機構



おわりに

本研究では、イネの鉄吸収・移行に関わるトランスporterを同定した。今後の課題は、細胞内外において、まだ解明されていない鉄やそのキレーターの移行経路を探索することである。そして、これらの輸送経路を応用し、生育環境に応じた発現制御を人工的に行うことで、石灰質土壌耐性の形質転換イネを創製したり、鉄欠乏貧血症を改善する機能性食品を創製したりすることが重要だと考える。

今回、鉄トランスporterから発展して、亜鉛トランスporterも解析できたように、これらのトランスporterの相同タンパク質は、他の金属イオン輸送や物質輸送に関わる可能性を秘めている。様々な金属イオン輸送経路の分子的解析を通じ、より効率的にかつ効果的に金属イオンを吸収・移行できる有用な植物の創製することを目指して研究を進めていきたい。

謝辞

日本農学進歩賞の受賞にあたっては、日本農芸化学会から推薦を賜りました。日本農芸化学会の太田明德 会長、村田幸作 副会長、松田譲 副会長をはじめ、関係の先生の方々に心より感謝申し上げます。

西澤直子博士（石川県立大学教授・東京大学特任教授）には学生時代から多大なご指導や励ましを頂きました。森敏博士（東京大学名誉教授）、中西啓仁博士（東京大学特任准教授）や高橋美智子博士（宇都宮大学准教授）には貴重なご指導とご支援を頂きました。東京大学大学院農学生命科学研究科新機能植物開発学研究室、海外実地研究をおこなったロックフェラー大学、農業生物資源研究所でお世話になりました皆様、及びこの研究を推進するにあたりご協力下さいました全ての皆様方に、心より御礼申し上げます。

主要な研究業績

1. Ishimaru, Y., Bashir, K., Nakanishi, H., and Nishizawa, N.K.: The role of rice phenolics efflux transporter in solubilizing apoplasmic iron. *Plant Signal Behav* 6: in press.
2. Ishimaru, Y., Kakei, Y., Shimo, H., Bashir, K., Sato, Y., Sato, Y., Uozumi, N., Nakanishi, H., and Nishizawa, N.K.: A rice phenolics efflux transporter is essential for solubilizing precipitated apoplasmic iron in the plant stele. *J Biol Chem* 286: 24649-24655, 2011.
3. Bashir, K.*, Ishimaru, Y.*, Shimo, H., Nagasaka, S., Fujimoto, M., Takanashi H., Tsutsumi, M., An, G., Nakanishi, H., and Nishizawa, N.K. (*equally contributed): Mitochondrial iron transporter is essential for plant growth. *Nat Commun* 2: 322, 2011.
4. Ishimaru, Y., Bashir, K., and Nishizawa, N.K.: Zn uptake and translocation in rice plants. *Rice* 4: 21-27, 2011.
5. Ishimaru, Y., Masuda, H., Bashir, K., Inoue, H., Tsukamoto, T., Takahashi, M., Nakanishi, H., Aoki, N., Hirose, T., Ohsugi, R., and Nishizawa, N.K.: Rice metal-nicotianamine transporter, OsYSL2, is required for the long-distance transport of iron and manganese. *Plant J* 62: 379-390, 2010.
6. Ishimaru, Y., Bashir, K., Fujimoto, M., An, G., Itai, N.R., Tsutsumi, M., Mori, S., Nakanishi, H., and Nishizawa, N.K.: A mitochondrial iron regulated gene (MIR) plays an important role in iron homeostasis in rice. *Mol Plant* 2: 1059-1066, 2009.
7. Ishimaru, Y., Suzuki, M., Ogo, Y., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., and Nishizawa, N.K.: Synthesis of nicotianamine and deoxymugineic acid is regulated by OsIRO2 in Zn excess rice plants. *Soil Sci Plant Nutr* 54: 417-423, 2008.
8. Ishimaru, Y., Masuda, H., Suzuki, M., Bashir, K., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., and Nishizawa, N.K.: Overexpression of the OsZIP4 zinc transporter induces disarrangement of zinc distribution in rice plants. *J Exp Bot* 58: 2909-2915, 2007.
9. Ishimaru, Y., Kim, S., Tsukamoto, T., Oki, H., Kobayashi, T., Watanabe, S., Matsuhashi, S., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., and Nishizawa, N.K.: Mutational reconstructed ferric chelate reductase confers enhanced tolerance in rice to iron deficiency in calcareous soil. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 7373-7378, 2007.
10. 石丸泰寛, 西澤直子: 2 つの鉄吸収戦略を備えた石灰質アルカリ土壌耐性イネの作出. *蛋白質 核酸 酵素*, pp. 65-71, 2008.
11. Ishimaru, Y., Suzuki, M., Tsukamoto, T., Suzuki, K., Nakazono, M., Kobayashi, T., Wada, Y., Watanabe, S., Matsuhashi, S., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., and Nishizawa, N.K.: Rice plants take up iron as an Fe³⁺-phytosiderophore and as Fe²⁺. *Plant J* 45: 335-346, 2006.
12. Ishimaru, Y., Suzuki, M., Kobayashi, T., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., and Nishizawa, N.K.: OsZIP4, a novel zinc-regulated zinc transporter in rice. *J Exp Bot* 56: 3204-3214, 2005.

Iron transporter in rice

Yasuhiro ISHIMARU

(Department of Faculty of Science and Graduate School of Science, Tohoku University)

yasnr@m.tohoku.ac.jp