

ホウ素輸送体の機能分化とホウ素欠乏と過剰耐性植物の作出の研究

三輪京子（北海道大学 地球環境科学研究院）

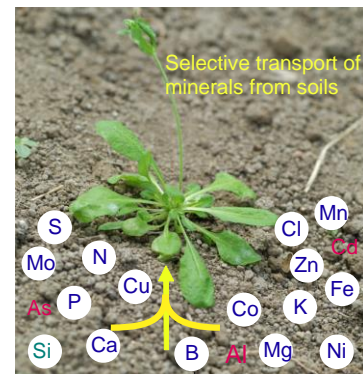
miwakyoko@ees.hokudai.ac.jp

世界的な人口増加に対する食料需要の増加とともに、バイオマスエネルギー原料としての植物の増産が課題となっている。しかし、世界的には利用可能な優良農地は減少し、水資源の減少、気候変動という課題に直面している。この状況下で、低エネルギー投入型の持続的な形態で増産を達成するには、肥沃度の低い土壌や有害元素の存在する不良な土壌環境での収量の増加が必須であり、不良な土壌環境においても高い収量をもつ不良環境耐性作物の開発が有効である。

本研究は植物の無機栄養輸送の分子機構の解明を通じて、不良栄養環境での植物の成長改善に取り組んだものである。植物の必須元素のひとつである「ホウ素 (B)」に注目し、モデル植物シロイヌナズナにおいて、ホウ素輸送に働く輸送体の対照的な機能と翻訳段階での発現制御を明らかにした。そして、これらの輸送体の発現上昇により世界に先駆けてホウ素欠乏と過剰耐性植物の作出に成功し、栄養ストレス耐性植物の作出の新たな道を拓いた。

1. 不良栄養土壌に対する植物の適応

植物は生産者として土壌から無機元素を吸収し、それらが無機養分として利用して炭酸同化をしている。光合成産物は従属栄養生物にエネルギーとして利用され、私たちが植物が吸収した無機元素を「ミネラル」として摂取している。現在、植物の必須元素は窒素、リン、カリウムをはじめとして17種類あり、そのうち14種類を土壌中から獲得する必要がある。しかし、植物が利用可能な必須元素が土壌中に常に十分に存在するとは限らず、有害元素も存在する。土壌中の無機栄養環境は、植物個体の成長・生存や種子生産/作物生産を決定する重大な要素である。



発芽した場所から動けない植物は進化の過程で無機元素の過不足に対する適応機構を発達させてきた。主な機構のひとつは、土壌環境中からの無機元素の輸送の制御であり、必要な無機元素の選択的な吸収と有害元素の排出・隔離である。植物は各無機栄養に対して「輸送体」という基質を選択的に運ぶ膜タンパク質をもち、土壌の栄養環境に応じてその発現や活性を制御して吸収・排出を行い、恒常性を保っている¹⁾。

2. 植物のホウ素欠乏症と過剰症

ホウ素 (B) は植物の微量必須元素のひとつである。ホウ素の生理機能は植物細胞壁ペクチン質多糖ラムノガラクトuronan II のエステル架橋であり、ペクチンのネットワーク形成による細胞強度維持や細胞接着に寄与する²⁾。ホウ素欠乏の障害は成長点に現れ、根の伸長、肥大の阻害や新葉の展開抑制、稔実性の低下を起こす。ゆえに、作物の収量・品質の低下に直結する。

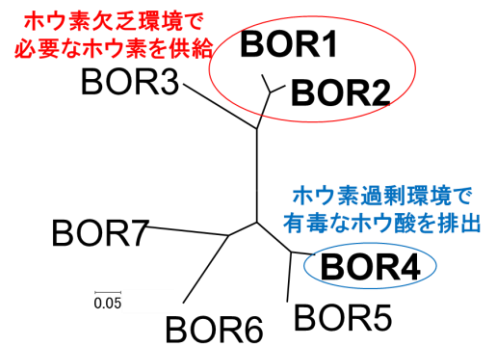
ホウ素は土壌溶液中で無電荷のホウ酸で存在するため、降雨の多い地域では溶脱がおき、欠乏症が発生しやすい。ホウ素欠乏症の発生は、日本を含めて東南アジアなど世界 80 以上で 100

以上の植物種で報告されている。日本では、ハクサイ、ダイコンなどアブラナ科などの作物でホウ素欠乏症が報告されている。実際は、外観には欠乏症状が現れない潜在的なホウ素欠乏による収量低下の被害も存在すると考えられている。日本ではホウ素肥料が使用されているが、ホウ素は至適濃度範囲が比較的狭く、植物種や品種間で至適濃度範囲が異なるため厳密な施用管理が必要であることや、発展途上国では継続的な施肥が現実的でないことから、ホウ素欠乏耐性作物品種の開発が望まれてきた。

一方、高濃度のホウ素は生物一般に毒性を示し、日本では環境基準が1 mg/Lと設定されている。過剰のホウ素は根の伸長抑制や葉縁部の枯死を引き起こし、成長量を著しく低下させる。世界では半乾燥地を中心にオーストラリア、西アジア（トルコ）などに高濃度のホウ素を含むホウ素過剰土壌が存在しており、ホウ素過剰による作物収量の減少が報告されている。ホウ素過剰土壌においては土壌からのホウ素の選択的な除去が困難であることから、耐性品種の作出が農業生産向上の最も有効な手段と考えられた。品種間での耐性の差異は記述されてきたものの、ホウ素欠乏・過剰耐性付与に關与する分子は未同定で、品種作出の手法は確立されていなかった。

3. 植物のホウ酸輸送体の機能分化 ～相同タンパク質による効率的な吸収と毒性緩和～

必須であり有毒でもあるホウ素の輸送を植物はどのように制御しているのだろうか。生物のホウ素輸送の分子機構は近年まで未解明であり、2002年にモデル植物シロイヌナズナより生物界で初めてのホウ酸輸送体 BOR1 が同定された。BOR1 は根の細胞膜に局在する排出型のホウ酸輸送体であり、低濃度ホウ素環境下でホウ酸を導管へ排出し、成長に必要なホウ酸を根から地上部へ効率的に輸送する。BOR1 が不要となる高濃度ホウ素環境下では BOR1 は選択的なタンパク質分解を受けて分解される³⁾。



シロイヌナズナゲノムには BOR1 相同遺伝子が6つ (BOR2-BOR7) 存在する。ホウ素輸送機構を明らかにするため、BOR1 相同遺伝子の機能解明に取り組んだ。その結果、BOR1 と最も近いホウ酸輸送体 BOR2 が低濃度ホウ素環境下で、根においてホウ素の作用点である細胞壁へのホウ素分配に機能し、根の成長に寄与することを明らかにした⁴⁾。BOR1 と BOR2 がホウ素欠乏下での地上部と根の成長を支えるために働く主要なホウ酸輸送体であることを示した。

さらに、BOR4 は BOR1 と同様に細胞膜に局在し、細胞内から細胞外へホウ酸を排出するホウ酸輸送体であったが、発現や生理機能は対照的であることを明らかにした。高濃度ホウ素環境において、BOR1 で引き起こされるタンパク質分解は BOR4 では起こらず、安定にタンパク質が存在した⁵⁾。BOR4 は高濃度ホウ素環境下で有毒な高濃度のホウ酸を根から排出し、毒性緩和に寄与する役割を担うことを明らかにした⁶⁾。BOR タンパク質群は排出型ホウ酸輸送体という分子としての活性は共通であるが、機能分担しており、「欠乏環境での成長に必要なホウ素の供給」と「過剰環境での有毒なホウ素排出」という対照的な役割を担っている。これは、植物が遺伝子重複を通じて異なる発現様式をもつタンパク質を獲得し、欠乏から過剰という幅広い栄養環境に適応していることを示す成果である。

4. ホウ酸輸送体のホウ素依存的な翻訳制御 ～異なる濃度範囲で起こる二段階の転写後制御～

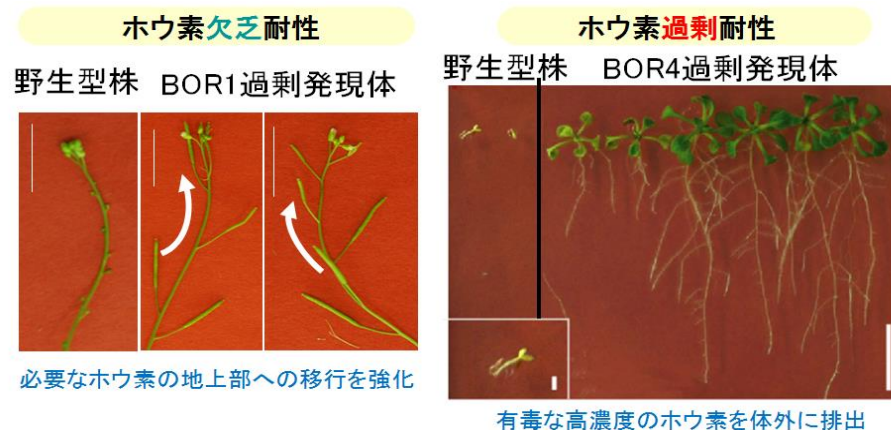
ホウ酸輸送体 *BOR1* mRNA は環境中のホウ素濃度に関わらず一定に蓄積するが、高濃度ホウ素環境で *BOR1* タンパク質の蓄積は減少する。このホウ素依存的な転写後制御として選択的なタンパク質分解が明らかにされていた。本研究ではタンパク質分解に加えて、*BOR1* が高濃度ホウ素条件下で翻訳抑制を受けることを見出し、二段階の転写後制御を受けることを明らかにした⁷⁾。これまで植物の栄養環境に応答した輸送体の発現制御として、翻訳段階での発現制御は焦点が当てられてこなかったものである。

ホウ素濃度に依存した翻訳制御には、5'-非翻訳領域(5'-UTR)が必要かつ十分であり、5'-UTR に存在する上流 ORF(uORF)が複数必要であることを明らかにした。さらに、翻訳抑制は分解制御と比較してより高濃度のホウ素条件下で誘導されることを見出した。また、二つの転写後制御による *BOR1* タンパク質の蓄積の減少は、高濃度ホウ素環境下において地上部への過剰なホウ素の移行を防ぎ、過剰害の回避に貢献することを実証した。

異なる濃度範囲で起こる *BOR1* の二段階制御は、ホウ素十分条件では迅速な輸送制御のためにタンパク質分解での制御を行い、より高濃度のホウ素過剰条件では翻訳制御によりタンパク質合成を抑制するという効率的な制御であると考察された。植物が外部環境に応答して輸送体の発現を多段階で制御することにより、栄養輸送を微調節するしくみを明らかにした成果である。

5. ホウ酸輸送体発現強化による植物のホウ素欠乏・過剰耐性の向上

BOR1 と *BOR4* を高発現する形質転換シロイヌナズナを作出したところ、それぞれホウ素欠乏、過剰耐性の付与に成功した。*BOR1* 高発現体では、野生型株がホウ素



欠乏症状を示す低濃度ホウ素環境において茎葉の成長と稔実性が大幅に向上した⁸⁾ (上左図)。*BOR1* 高発現体では低濃度ホウ素環境において地上部へのホウ素輸送量が増加していたことから、地上部への効率的なホウ素輸送という *BOR1* 本来の機能が強化された結果と考えられた。この手法の優位性は、環境中にホウ素が十分ある条件では *BOR1* がタンパク質分解を受けるために、ホウ素過剰に弱くなる悪影響がない点である。*BOR1* 高発現体はホウ素十分・過剰条件においては野生型株と成長に違いは認められず、ホウ素欠乏耐性のみを効果的に付与されたことが示された。本研究は植物の必須元素の輸送体を利用した生育改善の初めての例であった。同様の方法でホウ素欠乏耐性トマトの作出に成功し、実用植物への汎用性が示されている。

また、*BOR4* 高発現体ではホウ素過剰条件で野生型株と比較して大幅に生育改善が認められた⁹⁾ (上右図)。*BOR4* 発現上昇によるホウ素過剰耐性付与のしくみは、高濃度のホウ酸を根の細胞から体外に排出し、根と地上部のホウ素含有率を低下させることであると考えられる。加えて、*BOR4* 高発現体では葉が成長抑制を受けるホウ素含有率が、野生型株と比較して高いことから、

葉で発現した BOR4 は細胞内外のホウ酸の分配を変化させ、細胞内の毒性緩和に寄与していると考えられた⁹⁾。BOR4 高発現体は世界初のホウ素過剰耐性植物の成功例であった。

これらは輸送強化を通じた栄養欠乏・過剰耐性植物の作出の成果であり、モデル植物の研究を通じて農業形質向上に重要な遺伝子資源を発掘するさきがけとなった。

6. 今後に向けて

現在の高い作物生産性は、化石燃料由来のエネルギーに依存しており、その必要なエネルギーの3分1以上は窒素を中心とした化学肥料の施用にかかるものと計算されている。同時に、作物生産コストは原油価格の変動に直接影響を受け、近年、急激な増加傾向を示している。投入する外部エネルギーを低下させ、持続的な生産を達成するためには、肥沃度の低い貧栄養環境においても少ない施肥で高い生産性を示す植物の開発が急務である。そのためには、無機栄養の吸収や輸送の強化に加えて、無機栄養総量あたりの収穫量・バイオマス量を上昇させる植物体内の栄養利用効率の上昇／要求量の低下が重要である。現在、さらなる無機栄養欠乏耐性付与を目指し、体内の栄養要求量を低下させる新たな遺伝子変異の探索に取り組んでいる。持続的な農業生産に向けて、不良栄養環境における作物生産を向上させる遺伝子資源の発掘に貢献したい。

謝辞

本受賞にあたり推薦を頂きました日本土壌肥料学会 犬伏和之会長はじめ関係の先生方に御礼申し上げます。本研究は東京大学大学院農学生命科学研究科ならびに北海道大学創成研究機構、北海道大学大学院環境科学院において実施しました。本研究の推進にあたり、多大なるご指導とご支援を賜りました藤原徹教授（東京大学）、森川正章教授（北海道大学）に心より感謝を申し上げます。高野順平博士をはじめ多くの共同研究者、学生メンバー、技術補助員の皆様に深く感謝いたします。

引用文献

- 1) Aibara I. and Miwa K.: *Plant Cell Physiology* 55: 2027-2036 (2014).
- 2) Funakawa H. and Miwa K.: *Frontiers in Plant Science* 6: 223 (2015).
- 3) Takano J., Tanaka M., Toyoda A., Miwa K., Kasai K., Fuji K., Onouchi H., Naito S. and Fujiwara T.: *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 107, 5220-5225. (2010).
- 4) Miwa K., Wakuta S., Takada S., Ide K., Takano J., Naito S., Omori H., Matsunaga T. and Fujiwara T.: *Plant Physiology* 163: 1699-1709 (2013).
- 5) Miwa K., Takano J., Omori H., Seki M., Shinozaki K. and Fujiwara T.: *Science* 318: 1417 (2007).
- 6) Miwa K., Aibara I. and Fujiwara T.: *Soil Science and Plant Nutrition* 60: 349-355 (2014).
- 7) Aibara I., Hirai T., Kasai K., Takano J., Onouchi H., Naito S., Fujiwara T. and Miwa K.: *Plant Physiology* 177: 759-774 (2018).
- 8) Miwa K.¹, Takano J.¹ and Fujiwara T.: *Plant Journal* 46: 1084-1091 (2006). (¹equally contributed)
- 9) Miwa K. and Fujiwara T.: *Soil Science and Plant Nutrition* 57: 558-565 (2011).