

東京大学大学院農学生命科学研究科 教授

森 敏

「極限ストレス土壌における植物の耐性戦略」

1. 研究実施の概要

研究全体概要

21 世紀の急速に増大する人口に由来する食糧危機に対して、世界の陸地の 67% を占める不良土壌のうち、主として石灰質アルカリ土壌または酸性土壌でも旺盛に生育する食糧増産のための穀物を遺伝子工学の手法で創製することを研究の主目的とした。従って当初は石灰質アルカリ土壌の植物生育の律速の主要因である「鉄欠乏」に関する研究をする「鉄欠乏耐性」班と、酸性土壌での植物生育の律速の主要因である「アルミニウム過剰」に関する研究をする「アルミニウム過剰耐性」班の 2 本立てで研究をスタートした。

森敏、西澤直子、中西啓仁（東京大学）で組織した「鉄欠乏耐性」班は、イネ科植物のムギネ酸生合成経路（メチオニンからデオキシムギネ酸に至る）に直接関わるこれまで全く未知であった遺伝子の全て (*sam*, *nas*, *naat*, *dmas*, *Ids2*, *Ids3*) のクローニングに成功した。またその生合成を活発にさせるための周辺の代謝経路の遺伝子 (*IDI1*, *apt1*, *Fdh*) や遺伝子発現制御に関わるタンパク質の遺伝子 (*IDI2*)、鉄欠乏と直接の関係は不明であるが鉄欠乏で誘導される液胞へのトランスポーター遺伝子 (*IDI7*) 等もクローニングした。そして、アルカリ土壌ではほとんど育たないイネにゲノム *naat* 遺伝子を導入して、アルカリ土壌耐性イネの創製に成功した。

以上のように研究の発展によりイネ科植物の鉄獲得機構である「Strategy-II」(この機構については後述する)に関わる、鉄欠乏で特異的に発現する遺伝子を数多くクローニングしたので、現在植物では全く未知の「鉄欠乏応答性シスエレメント」や「トランス因子(タンパク)」を確定することも視野に入ってきた(動物では *cis aconitase*、微生物では *FUR* などのタンパク質がトランス因子として同定されている)。これは現在進行形である。また研究の途中から、イネ科以外の植物が有する鉄獲得機構である「Strategy-I」に関わる遺伝子を草本や樹木にも導入すれば、単に食糧問題ばかりではなく、砂漠の緑化(地球温暖化の抑止)という壮大な環境問題にも寄与し得ると発想し、アルカリ土壌耐性双子葉植物の創製も目指した。その結果、酵母が持つ 3 価鉄還元酵素遺伝子 (*FRE1*) をタバコ用に遺伝子改変し(*refre1* と命名)、つぎに、なおかつアルカリ土壌で酵素活性が強いようにさらに進化工学的に遺伝子改変した(*refre1:1* と命名)ものをタバコに遺伝子導入しアルカリ土壌耐性タバコの創製にも成功した。

また遺伝子導入系統の作出以外に、作物の鉄欠乏を解消する普遍的な画期的な技術としての、樹脂で物理的に鉄剤をコーティングし溶出に緩効性を持たせた“被覆鉄系肥料”の開発と「ムギネ酸/ニコチアナミン・アナログ」・鉄系葉面散布剤の開発も途中から目的とし実践した。前者はチッソ(株)および長谷川和久教授(石川農業短期大学)との共同研究で、後者は北原武教授(東大・応用生命化学)との共同研究で、それぞれ萌芽的な成果を得ることができた(現在進行形)。

もう一方の酸性土壌を対象とした「アルミニウム過剰耐性」班は 1999 年から研究班の主

力であった松本英明グループ（岡山大学資源生物学研究所）が生研機構（BRAIN）の政府出資金大型研究費を獲得して独立して行ったので、以降は吉村悦郎（東京大学）と我妻忠雄（山形大学）の班が植物のアルミニウム過剰耐性の基礎研究を行なった。

「鉄欠乏耐性」班（森敏グループ）

鉄欠乏耐性機構としてイネ科の持つ Strategy-II の構成物質であるムギネ酸類の生合成機構を明らかにした。

メチオニンから出発した生合成経路を明らかにした。

生合成経路に関わる遺伝子の全てをクローニングした。又、メチオニンサイクル周辺の鉄欠乏で誘導される酵素の遺伝子をクローニングした。

ニコチアナミンアミノ基転移酵素の遺伝子をイネに導入してアルカリ土壌耐性イネを創製した。

以上の 3 点はいずれも世界の先陣を切って成功したものであり他の追従を許さない。

については 2001 年の Nature Biotechnology に掲載され世界的な反響を呼んだ。

酵母の 3 価鉄還元酵素遺伝子を進化工学的に改変して遺伝子導入したアルカリ土壌耐性タバコを創製した。これは Strategy-I の遺伝子を導入して成功した世界で最初の作物創製の例である。

「アルミニウム過剰耐性」班

（松本英明グループ）

ソバがシュウ酸を出して Al 耐性であることを見出した。これは 1997 年の nature に掲載された。

シロイヌナズナとタバコの遺伝子で Al によって誘導される遺伝子をクローニングし、これを酵母に遺伝子導入して Al に対する耐性の遺伝子を 2 つクローニングした。

（吉村悦郎グループ）

酸性河川に存在するムラサキヒシヤクゴケ（*Scapania undulata*）はアルミニウムや重金属を細胞外壁に沈着することによってアルミニウム耐性であることを示した。

また、草津温泉に生息するイデユコゴメ（*Cyanidium caldarium*）が 200 mM という驚異的な濃度の Al に耐性であることを発見し（外国の研究者に incredible!! と言わしめた現象の発見）、その理由を追究し、イデユコゴメが Al を吸収しない機構を有すること、イデユコゴメの細胞内に Fe, P, Al を溜め込む特殊な顆粒が存在することを見出した。

オオムギが Al に極めて弱い理由として、Al 処理によってカロース（ β -1,3 グルカン）が合成されるために基質 UDPG が消費されて、同じ UDPG を基質として利用するセルロースの合成が押さえられることが、根の細胞伸長が押さえられるためであることを証明した。

(我妻忠雄グループ)

根端細胞原形質膜のAl 結合度合の少ないことが植物のAl 耐性の構成的支配要因であることを明らかにした。また、これを決めるのは膜の脂質組成であると示唆された。

各種養分欠乏のうち、リン欠乏条件で、Al耐性が明らかに強くなった。リン欠乏条件では根内部のフェノール性化合物濃度が上昇し、培地へ放出される量も増大した。培地中のフェノール性化合物は培地中でAlイオンと錯体をつくり、Al毒性をある程度軽減できることがAl耐性強化のひとつの理由であることを明らかにした。

2 . 主な研究成果

(1)論文発表 (国内 2 5 件、海外 7 0 件)

鉄欠乏耐性研究班関連 (森敏グループ)

原著論文(英文のみ)

- 1) Bughio N, Takahashi M, Yoshimura E, Nishizawa NK, Mori S: Light dependent iron transport into isolated chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 38, 101-105 (1997)
- 2) Suzuki K, Kanazawa K, Higuchi K, Nishizawa N and Mori S: Immunological characterization of a 36 kDa Fe deficiency specific peptide in barley roots. *BioMetals* 10, 77-84 (1997)
- 3) Mori S: Reevaluation of the genes induced by iron deficiency in barley roots. *Soil Sci Plant Nutr* 43, 975-980 (1997)
- 4) Bughio N, Takahashi M, Yoshimura E, Nishizawa NK and Mori S: Characteristics of light-regulated iron transport system in barley chloroplasts. *Soil Sci Plant Nutr* 43, 959-963 (1997)
- 5) Suzuki K, Itai R, Suzuki K, Nakanishi H, Nishizawa NK, Yoshimura E and Mori S: Formate dehydrogenase, an enzyme of anaerobic metabolism, is induced by iron deficiency in barley roots. *Plant Physiol* 116, 725-732 (1998)
- 6) Masaoka Y, Chino M and Mori S: Amino acid sequence of proteins induced in Fe-deficient stressed Alfalfa (*Medicago sativa* L.) roots. *Soil Sci Plant Nutr* 44, 453-458 (1998)
- 7) Kanazawa K, Higuchi K, Nakanishi H, Nishizawa NK and Mori S: Characterizing nicotianamine aminotransferase: Improving its assay system and details of the regulation of its activity by Fe nutrition status. *Soil Sci Plant Nutr* 44, 717-721 (1998)
- 8) Higuchi K, Suzuki K, Nakanishi H, Yamaguchi H, Nishizawa NK and Mori S: Cloning of nicotianamine synthase genes, novel genes involved in the biosynthesis of phytosiderophores. *Plant Physiol* 119, 471-479 (1999)
- 9) Nakanishi H, Bughio N, Matsuhashi S, Ishioka N, Uchida H, Tsuji A, Osa A, Sekine T, Kume T, Mori S: Visualising real time [¹¹C]methionine translocation in Fe-sufficient and Fe-deficient barley using a positron emitting tracer imaging system (PETIS). *J Exp Bot* 50, 637-643 (1999)
- 10) Singh K, Sasakuma T, Bughio N, Takahashi M, Nakanishi H, Yoshimura E, Nishizawa NK and Mori S: Ability of ancestral heat species to secrete MAs in response to Fe deficiency. *J Plant Nutr* 23,1973-1981(2000)
- 11) Sakaguchi T, Nishizawa N, Nakanishi H, Yoshimura E and Mori S: The role of potassium in the secretion of mugineic acids from iron-deficient barley roots. *Plant and Soil* 215,221-227(1999)
- 12) Takahashi M, Yamaguchi H, Nakanishi H, Shioiri T, Nishizawa NK, Mori S: Cloning two genes for nicotianamine aminotransferase, a critical enzyme in iron acquisition (Strategy-II) in graminaceous plants. *Plant Physiol* 121, 947-956(1999)
- 13) Higuchi K, Nakanishi H, Suzuki K, Nishizawa N, Mori S: Presence of nicotianamine synthase isozymes and their homologues in the root of graminaceous plants. *Soil Sci Plant Nutr* 45, 681-691(1999)
- 14) Suzuki K, Higuchi K, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S: Cloning of nicotianamine synthase genes from *Arabidopsis thaliana*. *Soil Sci Plant Nutr* 45,993-1002(1999)
- 15) Oki H, Yamaguchi H, Nakanishi H, Mori S: Introduction of the reconstructed yeast ferric reductase gene, *refr1*, into tobacco. *Plant and Soil* 215,211-220(1999)
- 16) Itai R, Suzuki K, Yamaguchi H, Nakanishi H, Nishizawa K, Yoshimura E, Mori S: Induced activity of adenine phosphoribosyltransferase(APRT) in iron-deficient barley roots. A possible role of adenine salvage in the methionine cycle for phytosiderophore production. *J Exp Bot* 51,1179-1188(2000)
- 17) Yamaguchi H, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S: Induction of the *IDI1* gene in Fe-deficient barley roots: a gene encoding a putative enzyme that catalyses the methionine salvage pathway for phytosiderophore production. *Soil Sci Plant Nutr* 46, 1-9(2000)
- 18) Yoshimura E, Sakaguchi T, Nakanishi H, Nishizawa N, Nakai I, Mori S: Characterization of the chemical state of iron in the leaves of wild-type tomato and of a nicotianamine-free chloronerva by X-ray absorption near-edge structure(XANES). *Phytochem Anal* 11,160-162(2000)

- 19) Yamaguchi H, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S: Isolation and characterization of *IDI2*, a new Fe-deficiency induced cDNA from barley roots, which encodes a protein related to the α subunit of eukaryotic initiation factor 2B(eIF2B α). *J Exp Bot* 51,2001-2007(2000)
- 20) Kobayashi T., Nakanishi H., Takahashi M., Kawasaki S., Nishizawa N. K., Mori S : In-vivo evidence that *Ids3* from *Hordeum vulgare* encodes a dioxygenase that converts 2'-deoxymugineic acid to mugineic acid in transgenic rice. *Planta* 212,864-871
- 21) Nakanishi H., Yamaguchi H., Sasakuma T., Nishizawa N. K., Mori S :
Two dioxygenase genes, *Ids3* and *Ids2*, from *Hordeum vulgare* are involved in the biosynthesis of mugineic acid family phytosiderophores.
Plant Molecular Biology 44,199-207(2000)
- 22) Higuchi K, Watanabe S, Takahashi M, Kawasaki S, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S: Nicotianamine synthase gene expression differs in barley and rice under Fe-deficient conditions. *Plant J* 25, 159-167(2001)
- 23) Bughio N, Nakanishi H, Kiyomiya S, Matsuhashi S, Ishioka NS, Watanabe S, Uchida H, Tsuji A, Osa A, Kume T, Hashimoto S, Sekine T, Mori S: Real-time [^{11}C]methionine translocation in barley in relation to mugineic acid phytosiderophore biosynthesis. *Planta* (in press) (2001)
- 24) Higuchi K, Tani M, Yoshihara T, Goto F, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S: The expression pattern of barley HvNAS1, nicotianamine synthase gene promoter-gus fusion gene in transgenic tobacco is similar to that of ferric reductase. *B.B.B.* in press (2001)
- 25) Higuchi K, Nakanishi NK, Nishizawa NK, Mori S: Evidence for strict regulation of nicotianamine synthase in transgenic rice. *Soil Sci Plant Nutr* in press (2001)
- 26) Takahashi M, Nakanishi H, Kawasaki S, Nishizawa NK, Mori S: Enhanced tolerance of rice to low iron availability in alkaline soils using barley nicotianamine aminotransferase genes. *Nature Biotechnology* 19, 466-469 (2001)
- 27) Kiyomiya S., Nakanishi H., Uchida H., Tsuji A., Nishiyama S., Futatsubashi M., Tsukada H., Ishioka N. S., Watanabe S., Osa A., Matsuhashi S., Hashimoto S., Sekine T., Mori S: Real time visualization of ^{13}N translocation in rice under different environmental conditions using positron emitting tracer imaging system. *Plant Physiology* 125: 1743-1753.
- 28) Kiyomiya S., Nakanishi H., Tsuji A., Uchida H., Nishiyama S., Tsukada H., Ishioka N. S., Watabnab S., Osa A., Mizuniwa C., Matsuhashi S., Hashimoto S., Sekine T., MoriS: Light activates H_2^{15}O flow in rice - Deatailed monitoring using a positron-emitting tracer imaging system (PETIS). *Physiologia Plantarum* (in press)

総説

- 1) 森 敏：植物の鉄欠乏ストレス耐性戦略に関する研究 日本土壌肥科学雑誌 68,233-236(1997)
- 2) Mori S: Iron Transport in Gramineous Plants. in "Iron Transport and Storage in Microorganisms, Plants and Animals", Vol.35 of Metal Ions in Biological Systems (A.Sigel and H.Sigel, Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, pp215-238(1998)
- 3) Mori S: Iron acquisition by plants. *Current Opinion in Plant Biology* 2, 250-253 (1999)
- 4) 森 敏：アルカリ土壌耐性イネの作出とその背景 21世紀の日本における農業・農村の役割 報告書 p65-80 平成 12 年 2 月 東京大学農学生命科学研究科・農学部，財団法人農学会編(2000)
- 5) 森 敏： 6) 森 敏：新しい世紀への植物栄養の展望 1 . アルカリ土壌での鉄欠乏耐性植物の創製 日本土壌肥科学雑誌 71,565-574(2000)
- 6) Mori S: The Role of Mugineic Acid in Iron Acquisition: Progress in Cloning the Genes for Transgenic Rice. Kluwer Academic Publishers, (ed. by Y.Ae et al.) in press.
- 7) 森 敏：第3次緑の革命に向かって 特集:食資源研究の展望 学術月報 54, 43-49(2001)

アルミニウム過剰耐性研究班関連

吉村悦郎グループ (原著論文のみ)

- 1) Kalyan Singh, Etsuro Yoshimura, Naimatullah Bughio, K. Kanazawa, Satoshi Mori: Complexing ability of organic acids with aluminium in acidic soils. *Develp. Plant Soil Sci.* 447-448 (1997).
- 2) Etsuro Yoshimura, Nobuyuki Satoh, Maiko Kaneko, Naoko-Kishi Nishizawa, Ken'ichi Satake, Satoshi Mori: Cellular distribution and chemical forms of aluminium in *Scapania undulata*. *Develp. Plant Soil Sci.* 457-458 (1997).
- 3) Etsuro Yoshimura, Kazuo Kitai, Ken'ichi Satake, Satoshi Mori and Sunao Yamazaki: Accumulation of metals and cellular distribution of aluminum in the liverworts *Scapania undulata* in acidic and neutral streams in Japan. *J. Environ. Sci. Health A33*(4), 671-680(1998).
- 4) Etsuro Yoshimura, Seiji Nagasaka, Yoshiyuki Sato, Kenich Satake and Satoshi Mori: Extraordinary high aluminium tolerance of the acidophilic thermophilic algae, *Cyanidium caldarium*. *Soil Sci. Plant Nutr.* 45(3), 721-724 (1999).
- 5) Maiko Kaneko, Etsuro Yoshimura, Naoko K. Nishizawa, and Satoshi Mori: Time course study of aluminum-induced callose formation in barley roots as observed by digital microscopy and low-vacuum scanning electron microscopy. *Soil Sci. Plant Nutr.* 45(3), 701-712 (1999).
- 6) Etsuro Yoshimura, Nobuyuki Sato, Naoko K. Nishizawa, Kenichi Satake and Satoshi Mori: Accumulation of metals in the cell walls of the liverworts, *Scapania undulata*. *J. Environ. Sci. Health* 35(6) 837-847 (2000).
- 7) Etsuro Yoshimura, Seiji Nagasaka, Kenichi Satake and Satoshi Mori: Mechanism of aluminium tolerance in *Cyanidium caldarium*. *Hydrobiologia* 433, 1005-1010 (2000).
- 8) Etsuro Yoshimura, Kinichi Tsunoda, Akiko Takatsu and Kenichi Satake: The determination and speciation of aluminum and its behavior in the environment. *Global Environ. Res.* 4, 61-71 (2000).
- 9) Etsuro Yoshimura, Makoto Tachibe, Satoshi Mori, Sunao Yamazaki: Anion binding to porcine pancreatic α -amylase as probed by bromine-81 nuclear magnetic resonance spectrometry. *Spectroscopy Letters* 33, 893-899(2000)

松本英明グループ (1997, 1998, 1999 の原著論文のみ)

- 1) Ezaki, B., Koyanagi, M., Gardner R.C., and Matsumoto, H.: Nucleotide sequence of cDNA for GDP dissociation inhibitor (GDI) which is induced by aluminum (Al) ion stress in tobacco cell culture (Accession No. AF012823). *Plant Physiol.* 115: 314 (1997).
- 2) Ma, J.F., Hiraide, S., Nomoto, K., Iwashita, T. and Matsumoto, H.: Internal detoxification mechanism of Al in *Hydrangea*: identification of Al form in the leaves. *Plant Physiol.* 113: 1033-1039 (1997).
- 3) Ma, J.F., Sasaki, M. and Matsumoto, H.: Al-induced inhibition of root elongation in corn, *Zea mays* L. is overcome by Si addition. *Plant Soil* 188: 171-176 (1997).
- 4) Ma, J.F., Zheng, S. J., Li, X. F. Takeda, K. and Matsumoto H.: A rapid hydroponic screening for aluminum tolerance in barley. *Plant Soil* 191: 133-137 (1997).
- 5) Ma, J.F., Zheng, S., Matsumoto H. and Hiraide, S.: Detoxifying aluminium with buckwheat. *Nature* 390: 569-570 (1997).
- 6) Ma, J.F., Zheng, S., and Matsumoto H.: Specific secretion of citric acid induced by Al stress in *Cassia tora* L. *Plant Cell Physiol.* 38: 1019-1025 (1997).
- 7) Sasaki, M., Yamamoto, Y., and Matsumoto H.: Aluminum inhibits growth and stability of cortical microtubules in wheat (*Triticum aestivum*) roots. *Soil Sci. Plant Nutr.* 43: 469-472 (1997).
- 8) Sasaki, M., Yamamoto, Y., Ma, J.F., and Matsumoto H.: Early events induced by aluminum stress in elongating cells of wheat root. *Soil Sci. Plant Nutr.* 43: 1009-1014 (1997).
- 9) Yamamoto, Y., Hachiya, A., and Matsumoto H.: Oxidative damage to membranes by a combination of aluminum and iron in suspension-cultured tobacco cells. *Plant physiol.* 38: 1333-1339 (1997).
- 10) Chang, Y.-C., Ma, J.F. and Matsumoto H.: Mechanisms of Al-induced iron chlorosis in wheat (*Triticum aestivum*). Al-induced biosynthesis and secretion of phytosiderophore. *Physiol. Plant.* 102: 9-15 (1998).
- 11) Ezaki, B., Gardner, R.C., Ezaki, Y., Kondo, H., and Matsumoto H.: Protective roles of two aluminum (Al) induced genes, HSP150 and SED1 of *Saccharomyces cerevisiae* in Al and oxidative stress. *FEMS Microbiol. Lett.* 159: 99-105 (1998).
- 12) Ikegami, H., Yamamoto, Y., and Matsumoto H.: Cell death caused by a combination of aluminum and iron in cultured tobacco cells. *Physiol. Plant.* 104: 474-478 (1998).
- 13) Ma, J.F., Hiraide, S. and Matsumoto H.: High Al resistance in buckwheat. II. Oxalic acid detoxifies aluminum internally. *Plant physiol.* 117: 753-759 (1998).
- 14) Yamamoto, Y., Hachiya, A., Hamada, H. and Matsumoto H.: Phenylpropanoids as a protectant of aluminum toxicity in cultured tobacco cells. *Plant Cell Physiol.* 39: 950-957 (1998).
- 15) Zheng, S.J., Ma, J.F. and Matsumoto H.: Continuous secretion of organic acids is related to aluminium resistance during relatively long-term exposure to aluminium stress. *Physiol. Plant.* 103: 209-214 (1998).
- 16) Zheng, S.J., Ma, J.F. and Matsumoto H.: High aluminum resistance in buckwheat. I. Al-induced specific secretion of oxalic acid from root tips. *Plant Physiol.* 117: 745-752 (1998).
- 17) Ezaki, B., Sivaguru, M., Ezaki, Y., Matsumoto H.: and Gardner, R.C.: Acquisition of aluminum tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* by expression of the BCB or NtGDI1 gene derived from plants. *FEMS Microbiol. Lett.* 171: 81-87 (1998).

- 18) Chang, Y.-C., Ma, J.F., Iwashita, T. and Matsumoto H.: Inhibition of Al on the phytosiderophore-mediated solubilization and uptake of iron in wheat (*Triticum aestivum*). *Physiol Plant* 106: 62-68 (1999).
- 19) Jan, F. and Matsumoto H.: Early effects of aluminium on nutrients (K, Ca and Mg) status of different root zones of two rice cultivars. *Toxicol. Environ. Chem.* in press
- 20) Yamaguchi, Y., Yamamoto, Y., Ikegawa, H. and Matsumoto H.: protective effect of glutathione on the cytotoxicity caused by a combination of aluminum and iron in suspension-cultured tobacco cells. *Physiol. Plant.* 105: 417-422 (1999).

我妻忠雄グループ (原著論文のみ)

- 1) 神尾あきら, 我妻忠雄: ヨシ植生がヘドロ土層の物理性と化学性改良におよぼす影響 - ライシメーターによる実験 - 。農業土木学会論文集 1986(1988)
- 2) Tawaraya K, Hashimoto K, Wagatsuma T: Effect of root exudate fraction from P-deficient and P-sufficient onion plants on root colonisation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *Mycorrhiza* 8, 67-70 (1998)
- 3) Ishikawa S, Wagatsuma T: Plasma membrane permeability of root tip cells following temporary exposure to Al ions is a rapid measure of Al tolerance among plant species. *Plant Cell Physiol* 39,516-525 (1998)
- 4) Tawaraya K, Imai T, Wagatsuma T: Importance of root length in mycorrhizal colonisation of Welsh onion. *J Plant Nutr* 22,589-596(1999)
- 5) Ishikawa S, Wagatsuma T, Sasaki R, P Ofei-Manu: Comparison of the amount of citric and malic acids in Al media of seven plant species and two cultivars each in five plant species. *Soil Sci Plant Nutr* 46,751-758(2000)
- 6) Ishikawa S, Adu-Gyamfi JJ, Nakamura T, Yoshiwara T, Watanabe T, Wagatsuma T: Genotypic variability in phosphorus solubilizing activity of root exudates by pigeon-pea grown in low-nutrient environments. *Plant and Soil* (2001) in press
- 7) Ofei-Manu P, Wagatsuma T, Ishikawa S, Tawaraya K: The plasma membrane strength of the root-tip cells and root phenolic compounds are correlated with Al tolerance in several common woody plants. *Soil Sci Plant Nutr* 47, (2001) in press
- 8) Ishikawa S, Wagatsuma T, Takano T, Tawaraya K, Oomata K: The plasma membrane intactness of root-tip cells is a primary factor for Al tolerance in cultivars of five plant species. *Soil Sci Plant Nutr* 47, (2001) in press
- 9) Tawaraya K, Tokairin K, Wagatsuma T: Dependence of *Allium fistulosum* cultivars on the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus Fasciculatum*. *Applied Soil Ecology* 17,119-124 (2001)

(2) 口頭発表

招待, 口頭講演 (国内 129件, 海外 22件)
 ポスター発表 (国内 45件, 海外 38件)
 プレス発表 1件

国際学会発表分のみ(招待講演には丸を入れている。国内学会は省略)

1997

Yoshimura E, Satoh N, Kaneko M, Nishizawa N, Satake K, Mori S: Cellular distribution and chemical forms of aluminum in *Scapania undulata*. - Plant nutrition for Sustainable food production and Environment, XIII International Plant Nutrition Colloquium 東京 1997年9月 p.457-458

高橋美智子, 山口博隆, 中西啓仁, 金澤健二, 塩入孝之, 西澤直子, 森敏 Cloning and Sequencing of Nicotianamine Aminotransferase Gene (*Naat*) - A key enzyme for the synthesis of mugineic acid-family phytosiderophores - 9th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in plants ドイツ 1997年7月

高橋美智子, 山口博隆, 中西啓仁, 金澤健二, 塩入孝之, 西澤直子, 森敏 Purification, characterization and DNA sequencing of nicotianamine aminotransferase (NAAT-III) expressed in Fe-deficient barley roots. - Plant nutrition for Sustainable food production and Environment, XIII International Plant Nutrition Colloquium 東京 1997年9月

Singh K, Yoshimura E, Bughio N, Kanazawa K, Mori S: Complexing ability of organic acids with aluminum in acidic soils. Plant nutrition for Sustainable food production and Environment, XIII International Plant Nutrition Colloquium 東京 1997年9月 p447-448

Singh K, Sasakuma T, Takahashi M, Yoshimura E, Nishizawa NK, Mori S: The ability for secretion of MAs within ancestral species of wheat. 9th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Stuttgart (Germany), July, 1997. p.107

Bughio N, Takahashi M, Nishizawa NK, Yoshimura E, Mori S: Role of light in iron transport in barley. . 9th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Stuttgart (Germany), July, 1997. p14

Bughio N, Takahashi M, Yoshimura E, Nishizawa NK, Mori S: Characteristics of light-regulated iron transport system in barley chloroplasts. - Plant nutrition for Sustainable food production and Environment, XIII International Plant Nutrition Colloquium 東京 1997年9月 p.157-161

Mori S: Reevaluation of iron deficiency induced enzymes, peptides and genes in barley root which have been identified till date. . 9th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Stuttgart (Germany), July, 1997. p.32

Mori S: Reevaluation of the genes induced by iron deficiency in barley roots. 13th International Plant Nutrition Colloquium, Tokyo (Japan), September, 1997. p249-254.

Yamaguchi H, Shioiri T, Mori S: Isolation and characterization of a barley cDNA clone which responses growth defect of yeast ferrous uptake mutant, *ctr1*. 9th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Stuttgart (Germany), July, 1997. p.56

Suzuki K, R. Itai, K. Suzuki, H. Nakanishi, S. Mori, Characterization and analysis of formate dehydrogenase gene in iron-deficient barley root. 9th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Stuttgart (Germany), July, 1997.

Nakanishi H, N. Bughio, S. Matsushashi, N. Shigeta, H. Uchida, A. Tsuji, A. Osa, T. Sekine, T. Kume, S. Mori, Visualization of translocation of ¹¹C-methionine by positron emission tomography (PET) in Fe-deficient barley. 9th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Stuttgart (Germany), July, 1997.

Nishizawa N. K., K. Higuchi, R. Takizawa, H. Nakanishi, V. Roemheld, H. Marschner, S. Mori, Enzymes for nicotianamine biosynthesis and their genetical regulation. 9th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Stuttgart (Germany), July, 1997.

Nakanishi H, H. Yamaguchi, S. Kiyomiya, K. Suzuki, K. Higuchi, N. K. Nishizawa, S. Mori, Characterization of a 36 kDa peptide induced by Fe deficiency in barley roots. 6th International Symposium on Genetics and Molecular Biology of Plant Nutrition, Elsinore (Denmark), July, 1998.

Yamaguchi H, S. Okumoto, H. Nakanishi, N. K. Nishizawa, S. Mori, Isolation and characterization of a barley cDNA clone, SFD1, which restores yeast copper uptake mutant, *ctr1*. 6th International Symposium on Genetics and Molecular Biology of Plant Nutrition, Elsinore (Denmark), July, 1998.

Nagasaka S, N. -K. Nishizawa, K. Satake, S. Mori and E. Yoshimura, Investigation of Al tolerant mechanism in *Cyanidium caldarium* . International symposium on impact of potential tolerance of plants on the increased productivity under aluminum stress. Kurashiki (Japan) September 16, 2000

Nakanishi H, N. K. Nishizawa, E. Yoshimura, S. Mori, Possible involvement of Ids3 in the hydroxylation of deoxymugineic acid to mugineic acid in Fe-deficient barley roots. 13th International Plant Nutrition Colloquium, Tokyo (Japan), September, 1997.

Yamaguchi H, Takahashi M, Nishizawa NK, Mori S: Establishment of a screening system for "Fe(III)-phytosiderophore" transporter from Fe-deficient barley roots. 13th International Plant Nutrition Colloquium, Tokyo (Japan), September, 1997. p.291-292

1 9 9 8

Higuchi Kyoko, Kazuya Suzuki, Hiromi Nakanishi, Hirotaka Yamaguchi, Naoko-Kishi Nishizawa and Satoshi Mori: 1998年8月(Denmark) VIth International Symposium on Genetics and Molecular Biology of Plant Nutrition . "Cloning of nicotianamine synthase genes from graminaceous plants"

Nakanishi H, Yamaguchi H, Kiyomiya S, Suzuki S, Higuchi K, Nishizawa NK, Mori S: Characterization of a 36kDa

peptide induced by Fe deficiency in barley roots. 6th International Symposium on Genetics and Molecular Biology of Plant Nutrition デンマーク 1998年8月

高橋美智子、山口博隆、谷匡治、中西啓仁、西澤直子、森敏 Cloning and characterization of nicotianamine aminotransferase gene (*naat-A* and *naat-B*). - 6th International Symposium on Genetics and Molecular Biology of Plant Nutrition デンマーク 1998年8月

Yoshimura, E., S. Nagasaka, K. Satake, S. Mori: Aluminium tolerance in *Cyanidium caldarium*. Chemistry and Ecology of Highly Acidic Environments. Durham UK. August 1998

Ohki H., Yamaguchi H., Nakanishi H., Mori S: Introduction of *refr1* gene, reconstructed ferric reductase gene, into tobacco plants. 6th International Symposium on Genetics and Molecular Biology of Plant Nutrition デンマーク 1998年8月

Yamaguchi H., Okumoto S., Nakanishi H., Nishizawa N.K., Mori S: Isolation and characterization of a barley cDNA, SFD1, which restores yeast copper uptake mutant, *ctr1*. 6th International Symposium on Genetics and Molecular Biology of Plant Nutrition デンマーク 1998年8月

Nishizawa Naoko K.: Tamami Sakaguchi, Hiromi Nakanishi and Satoshi Mori: The Role of Potassium in Mugineic Acids Secretion. Marschner's Memorial, Feb. 1998 Stuttgart (Germany)

Mori Satoshi: The role of mugineic acid in iron acquisition, and the molecular mechanisms for the action. International Workshop on New Concepts of Plant Nutrient Acquisition March 24-27, 1998, Tsukuba, Japan

Wagatsuma Tadao: The role of apoplast in tolerance of crops to acid-soils. International Workshop on New Concepts of Plant Nutrient Acquisition March 24-27, 1998, Tsukuba, Japan

Nishizawa Naoko K.: Direct uptake of macro organic molecules. International Workshop on New Concepts of Plant Nutrient Acquisition March 24-27, 1998, Tsukuba, Japan

Kaneko Maiko, Etsuo Yoshimura, Naoko K. Nishizawa and Satoshi Mori: Time course study of Al effect on root elongation of barley by Digital Microscope. International Workshop on New Concepts of Plant Nutrient Acquisition March 24-27, 1998, Tsukuba, Japan

1999

Higuchi Kyoko, Kazuya Suzuki, Hiromi Nakanishi, Shunsuke Watanabe, Naoko-Kishi Nishizawa and Satoshi Mori: 1999年6月 (Italia) World Congress on Iron Metabolism BIOIRON '99 要旨集 "Nicotianamine Synthase in Gramineous Plants"

Higuchi Kyoko, Kazuya Suzuki, Hiromi Nakanishi, Shunsuke Watanabe, Naoko-Kishi Nishizawa and Satoshi Mori: 1999年7月 (Baltimore, USA) Plant Biology '99 要旨集 "Cloning and Characterizing of Nicotianamine Synthase in Higher Plants"

Higuchi Kyoko, Masaharu Tani, Michiko Takahashi, Shinji Kawasaki, Hiromi Nakanishi, Naoko K. Nishizawa, and Satoshi Mori: 2000年5月 (Houston, USA) 10th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants 要旨集 "Heterologous transgenic expression of barley nicotianamine synthase gene, HvNAS1"

高橋美智子、中西啓仁、田中岳夫、川崎信二、西澤直子、森敏 Iron-deficiency-tolerant rice introduced with Nicotianamine aminotransferase of barley - The annual meeting of the Plant Biology'99, American Society of Plant Physiologists アメリカ (ボルチモア) 1999年7月

Nishizawa N. K., T. Negishi, K. Higuchi, M. Takahashi, H. Nakanishi, S. Mori, Intercellular dynamics of the two enzymes crucial to biosynthesis of mugineic acid family phytosiderophores (MAs). BIOIRON '99, Sorrento (Italy), May, 1999.

Higuchi K., K. Suzuki, S. Watanabe, H. Nakanishi, N. K. Nishizawa, S. Mori, Nicotianamine synthase in gramineous plants. BIOIRON '99, Sorrento (Italy), May, 1999.

Itai R., H. Nakanishi, K. Suzuki, H. Yamaguchi, N. K. Nishizawa, E. Yoshimura, S. Mori, Induction of APRT in iron-deficient barley roots. BIOIRON '99, Sorrento (Italy), May, 1999.

Mori S.: Cloning of NAS and NAAT genes from barley towards transgenic rice tolerant to Fe-deficiency.).

BIOIRON '99, Sorrento (Italy), May, 1999. p.68

2 0 0 0

高橋美智子、田中岳夫、中西啓仁、川崎信二、西澤直子、森敏 (2000) Iron-deficiency-tolerant transgenic rice having enhanced secretion of mugineic acids in calcareous soils 10th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants アメリカ(ヒューストン) 5月です。

水野大地、樋口恭子、坂本達也、中西啓仁、吉村悦郎、西澤直子、森 敏
Cloning of Nicotianamine Synthase Gene (*nas*) from Maize . 10th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plant. Houston, Texas USA. 2000年 5月14~19日

Okii H., H. Yamaguchi, H. Nakanishi, S. Mori, Directed evolution of the yeast ferric reductase. 10th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Houston (USA), May 14-19, 2000. (要旨集 p. 70)

Nishizawa N.K., T. Negishi, K. Higuchi, M. Takahashi, R. Itai, H. Nakanishi, S. Mori, The secretion and biosynthesis of mugineic acid family phytosiderophores. Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Houston (USA), May 14-19, 2000. (要旨集 p. 40)

Mori S., N. Bughio, S. Kiyomiya, H. Nakanishi, H. Osawa, K. Miyakoshi, T. Kitahara, Novel synthetic mugineic acid analogues equivalent to deoxymugineic acid for iron transport activity in barley. 10th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Houston (USA), May 14-19, 2000. (要旨集 p. 60)

Kobayashi T., H. Nakanishi, T. Negishi, N. K. Nishizawa, S. Mori, Characterization of a gene specific for iron deficiency (*Ids3*) from *Hordeum vulgare* using transient assay method. 10th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Houston (USA), May 14-19, 2000. (要旨集 p. 84)

Bughio N., H. Nakanishi, H. Yamaguchi, S. Mori, Cloning an Fe(II) transporter gene from rice. 10th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Houston (USA), May 14-19, 2000. (要旨集 p. 87)

Nakanishi H., S. Kiyomiya, N. Bughio, N. S. Ishioka, S. Watanabe, H. Uchida, A. Tsuji, S. Matsushashi, A. Osa, T. Sekine, S. Hashimoto, S. Mori, Real time ¹¹C-Methionine and ⁵²Fe translocation in Fe-deficient barley visualized by PETIS (Positron Emitting Tracer Imaging System). 10th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Houston (USA), May 14-19, 2000. (要旨集 p. 90)

Mori S: Transgenic rice tolerant to iron deficiency in calcareous soils: on the basis of molecular regulation of phytosiderophore (MAs) biosynthetic pathway. 10th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Houston (USA), May 14-19, 2000. (要旨集 p. 38)

松本英明関連(1997,1998)

1. Zaharieva, T., Yamashita, K. and Matsumoto, H. : Characterization of ferric chelate reductase in plasma membranes isolated from cucumber roots. XIII International Plant Nutrition Colloquium. Tokyo, Japan, Sep. 13-19, 1997
2. Sasaki, M., Yamamoto, Y., Ma, J.F. and Matsumoto, H. : Early events induced by aluminum stress in elongating cells of wheat root. . XIII International Plant Nutrition Colloquium. Tokyo, Japan, Sep. 13-19, 1997
3. Yamamoto, Y., Hachiya, A. and Matsumoto, H. : An aluminum-tolerant cell line isolated from cultured tobacco cells. . XIII International Plant Nutrition Colloquium. Tokyo, Japan, Sep. 13-19, 1997
4. Ma, J.F., Zheng, S.J. and Matsumoto, H. : Secretion of citric acid as an aluminium-resistant mechanism in *Cassia tora* L. . XIII International Plant Nutrition Colloquium. Tokyo, Japan, Sep. 13-19, 1997
5. Yamamoto, Y., Yamaguchi, Y., Ikegawa, H., Hachiya, A. and Matsumoto, H: The combination of aluminum and iron causes oxidative membrane damage in suspension cultured cells. Plant Biology 1997 (The Quadrennial Joint Annual Meetings of the American Society of Plant Physiologists and the Canadian Society of Plant Physiologists with the participation of the Japanese Society of Plant Physiologists and the Australian Society of Plant Physiologists), Vancouver, Canada, Aug. 2-6, 1997
6. Ma, J.F., Zheng, S.J., Hiradate, S. and Matsumoto, H. : A Strategy to Avoid Aluminium Stress in Buckwheat. 1st International Congress of Stress. Budapest, Hungary, July 1-5, 1997
7. Kenjebaeva, S.S. and Matsumoto, H. : Cell-wall-specific glycoproteins from wheat root under aluminium stress. 5th International Symposium on Inorganic Nitrogen Assimilation; 3rd Fohs Biostress Symposium : Luso-Portugal, July 13-17, 1998

プレス発表

「アルカリ土壌で生育するイネ（稲）の開発に成功」に関して、1999年7月23日に科学技術庁記者クラブにて発表

(3) 特許出願

国内 9件 海外 4件

国内

- 1)(発明者) 西澤直子, 森 敏, 根岸孝至, (発明の名称) デオキシムギネ酸合成酵素遺伝子
- 2)(発明者) 森 敏, 西澤直子, 中西啓仁, 高橋美智子, (発明の名称) 鉄欠乏耐性イネ科作物の創製, (出願番号) 特開2001-017012, (出願日) 1999年7月5日
- 3)(発明者) 森敏, 北原武 (発明の名称) 「鉄・ムギネ酸アナログ」葉面散布剤 (特許出願番号) 特願2000-133986号 (特許出願日) 平成12年(2000年)5月2日
論文発行日: 平成12年(2000年)3月5日 (30条適用出願)
- 4)(発明者) 森 敏, 中西啓仁, 高橋美智子 (発明の名称) ニコチアナミン・アミノ基転移酵素, その遺伝子およびその利用 (出願人) 住友化学工業株式会社 (出願番号) 特開平10-290694 (出願日) 平成9年2月21日
- 5)(発明者) 森 敏, 中西啓仁, 西澤直子, 清宮正一郎, 山口博隆, (発明の名称) 鉄欠乏オオムギ根に出現する36kDaタンパク質の遺伝子, (出願番号) 特開2001-017181, (出願日) 平成11年7月9日
- 6)(発明者) 森 敏, 大木宏之, 中西啓仁, 山口博隆, (発明の名称) 植物を形質転換する方法及びその植物並びにその遺伝子, (出願番号) 特開平11-266876, (出願日) 1999年10月5日
- 7)(発明者) 森 敏, 樋口恭子, 鈴木一矢, 西澤直子, 中西啓仁, (発明の名称) ニコチアナミン合成酵素, それをコードする遺伝子, (出願番号) 特願平10-137685, (出願日) 1998年4月30日
- 8)(発明者) 森 敏, (発明の名称) 銅の利用性を制御するホメオスタシスタンパク質遺伝子, (出願番号) 特開平11-075853 (出願日) 1999年3月23日
- 9)(発明者) 森 敏, (発明の名称) S-アデノシルメチオニン合成酵素遺伝子, (出願番号) 特開平9-31318, (出願日) 1997年12月9日

海外

- 1)(発明人) Satoshi MORI, Hiromi NAKANISHI, Naoko NISHIZAWA, Michiko TAKAHASHI (発明の名称) Construction of Rice Tolerant to Iron Deficiency. (国際公開番号) WO 01/01762 A1, (国際公開日) 2001年1月11日. アメリカ, オーストラリア, カナダ, 中国に出願中 (出願日) 2000年7月4日.
- 2) Inventor(s): HIGUCHI KYOKO (JP); SUZUKI KAZUYA (JP); MORI SATOSHI (JP); NISHIZAWA NAOKO (JP); NAKANISHI HIROMI (JP), Title: Nicotianamine synthase and gene encoding the same. Patent Number: WO 9957249, Publication date: 1999-11-11. アメリカ, オーストラリア, ヨーロッパ, 中国に出願中
- 3) Inventor: Satoshi MORI, Hiroyuki OKI, Hiromi NAKANISHI, Naoko NISHIZAWA. Title: Method of transforming plant, the resultant plant and genes thereof. Patent Number: WO 99/48356, Publication date: 1999-09-30. アメリカ, カナダ, オーストラリア, ヨーロッパ, 中国に出願中
- 4) Inventor(s): TAKAHASHI MICHIO (JP); MORI SATOSHI (JP); NAKANISHI HIROMI (JP), Title: Nicotianamine aminotransferase and gene therefor. Patent Number: EP0860499, A3, Publication date: 1998-08-26, Requested Patent: CN1195700, Application Number: EP19980102891 19980219, Priority Number(s): JP19970037499 19970221, IPC Classification: C12N9/12; C12N15/63; C12N1/21; C12N5/10; C12N15/29, EC Classification: C12N9/10F, C12N15/82C8, C12N15/82C8B, Equivalents: CA2224130

(4) 受賞など

受賞

森敏はムギネ酸合成経路の確定の研究「植物の鉄欠乏ストレス耐性戦略に関する研究」で1997年4月、日本土壌肥料学会賞を受賞した。

樋口恭子はニコチアナミン合成酵素の精製と遺伝子のクローニングに成功し、「ニコチアナミン合成酵素に関する研究」で2000年4月、日本土壌肥料学会奨励賞を受賞した。

森敏は「鉄欠乏耐性イネの創製」で2001年4月、日本農学会賞および読売農学賞を受賞した。

新聞報道

われわれの「アルカリ土壌で生育するイネ（稲）の開発に成功」に関して、1999年7月23日に科学技術庁記者クラブで、科学技術振興事業団のプレス発表を行なった（研究代表者の森 敏がOHPを用いて約30分プレゼンテーションし、質疑応答をした）。この発表が平成7年から発足したCRESTの研究のなかでも全国紙（日経、朝日、読売、毎日、日本工業新聞）および共同通信を通じてほとんど全ての地方紙に掲載された嚆矢であった。

2001年5月の*Nature Biotechnology* 誌に「Enhanced tolerance of rice to low iron availability in alkaline soils using barley nicotianamine aminotransferase」というタイトルで我々の論文が掲載されて読売新聞と日本工業新聞に紹介された。また*Science* 誌上にも紹介記事が載った。

その他

森敏は以下のタイトルの招待講演を行なった。
（外国招待講演の分は国際学会発表の覧に記した）

東京大学農学部，財団法人農学会主催 テーマ「21世紀における日本の農業・農村の役割」（1999年10月，東大）
「アルカリ土壌耐性イネの作出とその背景」

日本農学会シンポジウム テーマ「ポストゲノム」（2000年4月，東大）
「アルカリ土壌での鉄欠乏耐性植物の創製」

東大農学部，地球環境財団主催 朝日新聞後援 21世紀シンポジウム テーマ「人口・食糧・環境」
- トリレンマを以下に克服するか。（2000年5月，東大）
「The Third Green Revolution にむかって」

日本農芸化学会関東支部会 テーマ「地球環境の再生へ向けて」（2000年6月，東大）
「アルカリ土壌再生の原理」

第24回鉄代謝研究会 （2000年9月，金沢）
第3次緑の革命に向かって

第20回肥料セミナー（2000年10月，東京）
アルカリ土壌立地農法は可能か？

緑化研究会 （2001年1月，金沢）
「砂漠を緑にするための画期的な資材の開発へ」

日本農芸化学会 テーマ「植物と土壌の接点：植物の戦略とその応用」（2001年3月，京都）
「第3次緑の革命」にむかって

(5) その他特記事項

教育活動として

東京ビッグサイト「日経夢テク」（2000年7月26日から8月6日まで）
にて 「荒地にイネを植えるには」というテーマでクロロシスのイネの実物展示を行なった

受験雑誌「Challenger」2000年7月号に「植物分子生理学研究室」が紹介された。