

戦略的創造研究推進事業  
発展研究 (SORST)

研究終了報告書

研究課題「ホウ素耐性生物の育成と利用」

研究期間：平成18年4月1日～  
平成21年3月31日

研究者氏名

藤原 徹

(所属、役職)

東京大学生物生産工学研究センター、准教授

## 1. 研究課題名

ホウ素耐性生物の育成と利用

## 2. 研究実施の概要

ホウ素は植物の必須元素であると同時に、高濃度に存在すると毒性を示すようになる。世界にはホウ素欠乏および過剰の土壌が分布しており、植物生育の阻害要因となっている。また、ホウ素汚染は環境問題の一つである。工業廃水や中のホウ素の存在が問題になる場合があり、また、ホウ素に富む地下水や温泉水を水源に持つ河川から水道水を取水している場合には、ホウ素濃度が高すぎると水道水として使えなくなってしまう。

本研究は、このような問題を解決するために、環境中のホウ素濃度が変動しても生育できる植物や微生物を探索したり、作出したりする技術を開発することを目的として行ったものである。また、本研究は、平成17年度末までさきがけ研究「変換と制御」に採択していただいていた研究を基盤として発展させる目的で採択していただいたものである。

全体の構想としては、植物についてはホウ素の輸送や利用についての分子機構について研究を行い、得られた知見を基にして、ホウ酸に欠乏や過剰条件での生育に重要な遺伝子を植物に導入し、ホウ酸に欠乏や過剰により強い植物を作出することとした。また、植物よりも生物多様性の幅が広いと思われる微生物を対象にして、高濃度のホウ酸に耐える微生物を同定しその原因となる遺伝子を同定したり、ホウ酸の集積能力に優れた微生物を同定することを目的としている。

本研究によって得られた成果の概略を以下に列挙する。

- 1) ホウ酸トランスポーター**BOR1** の過剰発現によりトマトにホウ酸欠乏耐性を付与することに成功した。
- 2) ホウ酸吸収に重要なホウ酸チャンネル遺伝子 **NIP5;1** の発現を若干高めることによって極めてホウ素欠乏に強いシロイヌナズナを作出することに成功した。
- 3) ホウ酸トランスポーター**BOR4** の過剰発現により、シロイヌナズナにホウ素過剰耐性を付与することに成功した。
- 4) ホウ酸過剰に極めて高い耐性を示す細菌を同定し、新種の細菌であることを明らかにした。
- 5) ホウ酸過剰に極めて高い耐性を示す細菌の耐性機構がホウ素の排出によるものである可能性を示した。
- 6) ホウ酸過剰に極めて高い耐性を示す細菌から、ホウ酸過剰耐性を付与する遺伝子を同定した。
- 7) ホウ素を蓄積する細菌を同定した。

以上の成果は植物に対するホウ素欠乏耐性や過剰耐性の付与技術を確立したものであり、一部は *Science* 誌に報告することができた。また、過剰のホウ素に対する耐性やホウ素蓄積について、多様な性質を示す微生物が存在していることを明らかにしたものである。

### 3. 研究構想

本研究の開始段階までに、明らかにしていた知見を要約すると以下の通りである。

- 1) 高ホウ素要求性のシロイヌナズナ変異株の原因遺伝子として、ホウ素輸送体 **BOR1** を同定し、**BOR1** が細胞膜に局在する排出形のホウ素輸送体であって、根に吸収されたホウ素の導管への積み込みに重要な役割を果たしていること。
- 2) **BOR1** タンパク質の蓄積は土壌（培地）中のホウ素濃度によって影響を受け、ホウ素が少ない土壌では細胞膜によく蓄積するが、ホウ素が十分にある土壌では、細胞内にある液胞に取り込まれて分解されてしまうこと。この分解は毒物でもあるホウ素が、土壌に多く含まれている際に、必要以上のホウ素を地上部に送らないようにするために分解しているものと思われる。
- 3) ホウ素の吸収に重要な役割を果たす **NIP5;1** をシロイヌナズナから同定し、**NIP5;1** がホウ素の細胞膜の透過性を高めてホウ素の吸収を促進していること。
- 4) **BOR1** を過剰発現するシロイヌナズナはホウ素欠乏条件での生育が **BOR1** を導入していないシロイヌナズナに比べて顕著に改善するが、通常のホウ素濃度やホウ素過剰条件での生育は、導入していない植物とあまり変化しないこと。
- 5) 土壌から高濃度に耐える細菌を検索すると、極めて高いホウ素濃度に耐性を示す最近が見いだされ、その一部は新種の細菌であること。

以上は生物（主に植物）におけるホウ素輸送に関与するタンパク質を見つけだし、それがいつ、どこで働いているかを明らかにすると共に、得られた知見を利用して、生物のホウ素耐性を高めようとする一連の研究の一端である。本発展研究においても、研究の全体の流れは変えることなく、ホウ素輸送機構の解明とホウ素欠乏や過剰に耐性を示す植物や生物の作出を目標とした。

具体的な目標としては

- 1) モデル植物（実験植物）であるシロイヌナズナで成功したホウ素耐性植物の作出手法を作物にも応用すること。
- 2) ホウ素過剰耐性を付与する方法を開発すること。
- 3) ホウ素欠乏耐性をさらに強化する方法を開発すること。
- 4) 微生物のホウ素過剰耐性機構についての知見を得ること。

を設定した。

具体的な研究計画としては、

- 1) トマトへの **BOR1** の導入によってホウ素欠乏耐性を付与することができるかどうかを検討すること。
- 2) シロイヌナズナに **BOR1** に似た遺伝子でかつ土壌中のホウ素濃度が高くても分解されないものを探し出し、過剰発現する植物を作出すること。
- 3) ホウ素吸収に重要な **NIP5;1** を利用して欠乏耐性をさらに強化する方法を開

発すること。

4) ホウ素過剰耐性微生物の分類を進めるとともに、耐性機構について、生理学的、分子生物学的解析を行うこと。

として、研究を進めた。

#### 4. 研究実施内容

1) ホウ酸トランスポーター**BOR1** の過剰発現によりトマトにホウ酸欠乏耐性を付与することに成功した。

\_\_ これまでにホウ素トランスポーターを用いてモデル植物であるシロイヌナズナにホウ素欠乏耐性を付与することに成功していたが、作物に同様の手法が使えるかどうかを検討することは重要である。ここでは、形質転換が可能な作物の一つであるトマトを用いて、**BOR1** の発現によってホウ素欠乏耐性を付与できるかどうかを検討することとした。

\_\_ シロイヌナズナの**BOR1** を **35S**プロモーターに連結し、トマトに導入した。数個対の形質転換候補株が得られたが、PCRによる遺伝子導入を確認したところ、3系統の形質転換体を得られ、そのうち、2系統では導入したシロイヌナズナ**BOR1** が発現していた。

得られた形質転換体をホウ素欠乏条件で水耕栽培し、ホウ素欠乏に対する応答を調べた。その結果、トマトの形質転換体のうち発現の増加が観察された独立な形質転換対2系等の生育がホウ素欠乏条件で野生型植物に比べて顕著に改善していた。

このことは、シロイヌナズナで予備的に成功し、**Plant Journal** に報告したホウ素欠乏耐性植物の作出技術が作物に対しても応用可能であることを示したものである。

2) ホウ酸吸収に重要なホウ酸チャンネル遺伝子 **NIP5;1** の発現を若干高めることによって極めてホウ素欠乏に強いシロイヌナズナを作出することに成功した。

**BOR1** の過剰発現は植物の地上部の生育と稔実性を高めることを明らかにしてきたが、**BOR1** の過剰発現をしてもホウ素欠乏条件での根の伸長促進効果はみられない。植物がホウ素欠乏耐性になるためには、ホウ素欠乏条件での根の伸長を良くして、より広い範囲の土壌からホウ素を吸収するようにすることが重要である。

さきがけ研究の時代に同定したホウ酸チャンネルである **NIP5;1** は、根で強く発現し、**NIP5;1** の欠損は根の伸長を著しく阻害する。つまり、**NIP5;1** は根のホウ素吸収と根の伸長に重要なトランスポーターである。そこで、**NIP5;1** を利用してホウ素欠乏での根の伸長を促進することをねらいとして、**NIP5;1** 遺伝子を植物で強く発現する **CaMV 35S RNA** プロモーターの下流に連結し、シロイヌナズナに導入した。得られた形質転換植物は、ホウ素欠乏での生育改善はみられず、むしろ生育は抑制される傾向にあった。おそらく **BOR1** とは異なり、

NIP5;1 の場合には植物体の様々な場所で、常に強く発現すると、必要の無い組織や時期や条件でホウ素の輸送が促進され、それが生育を抑制してしまう可能性が考えられた。

この研究の過程で、NIP5;1 遺伝子のプロモーターの 1kb 程度上流に、CaMV 35S を含むエンハンサーが挿入されたシロイヌナズナでは、根のホウ素欠乏での生育が改善されていることを見いだした。おそらくこの系統では、NIP 遺伝子の発現量が上昇しているものの、ある程度の発現の組織特異性などが保たれているために、必要な時に必要なところでのみ NIP5;1 の蓄積量が増えているのではないかと考えた。そこで、この系統のプロモーターを真似て NIP5;1 遺伝子上流にエンハンサーが挿入されたものを野生型植物に導入して根の生育改善が見られるかどうかを確認することにした。また、BOR1 を過剰発現している植物にさらに NIP5;1 を組織特異性やホウ素欠乏誘導性を維持したまま過剰発現させることによって、これまでのホウ素欠乏耐性植物よりもさらに耐性度の高い植物を作出することができるかどうかを検討した。

NIP5;1 プロモーターの 2 kb 程度上流にカリフラワーモザイクウイルス 35S エンハンサーを挿入した遺伝子を、野生型株や BOR1 の過剰発現体に導入し、ホウ素欠乏条件での生育を非形質転換体等と比較した。

その結果、NIP5;1 プロモーターの 2 kb 程度上流に CaMV 35S エンハンサーを挿入した遺伝子を持つ形質転換体は、ホウ素欠乏条件での根の生育が野生型植物より改善されていた。また、BOR1 の過剰発現植物に NIP5;1 プロモーターの 2 kb 程度上流に CaMV 35S エンハンサーを挿入した遺伝子を導入した植物においては、ホウ素欠乏での生育がさらに改善されていた (図 1)。

これらの結果は、BOR1 と NIP5;1 をうまく組み合わせて発現を強化することでホウ素欠乏耐性植物が作出できることを意味している。BOR1 の場合には 35S プロモーターを用いた過剰発現で生育改善が見られたのに対して、NIP5;1 の場合には、発現の組織特異性や環境条件特異性を維持したまま発現量を高めることが重要であると考えられる。遺伝子の性質によって、どのように植物の生育改善に結び付けられるかに違いがあるということは興味深い。

本研究成果は Plant Cell Physiology に発表した。

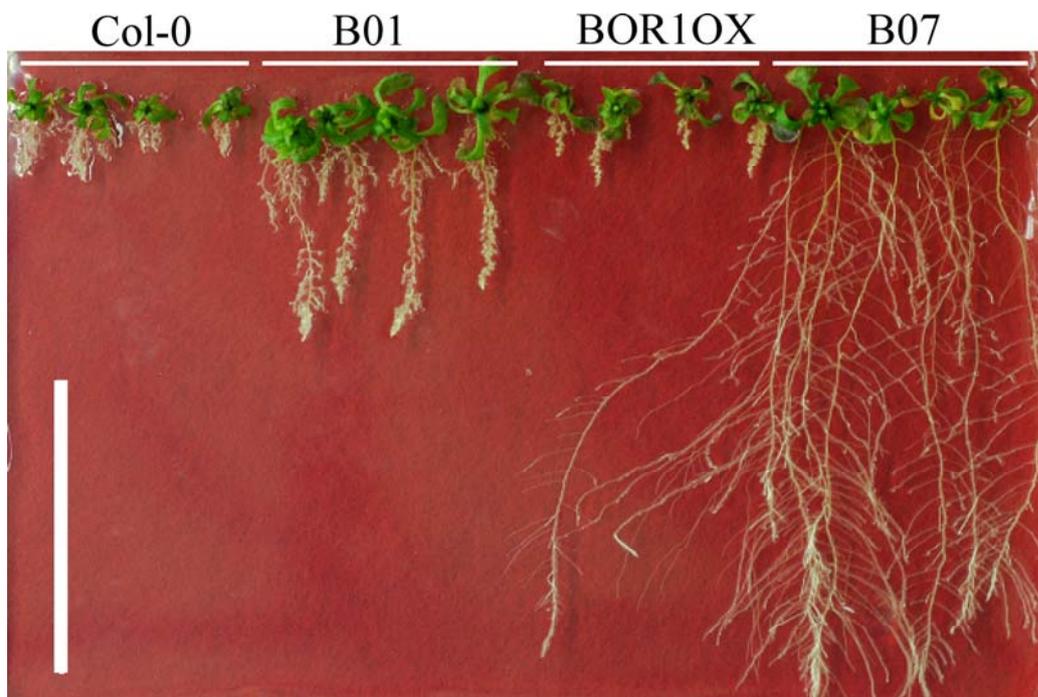


図1 NIP5;1 の発現の強化による低ホウ素耐性植物の作出

非形質転換植物 (Col-0)、BOR1 の過剰発現植物 (BOR1OX)、BOR1 と NIP5;1 をそれぞれ過剰発現する植物 2 系統 (B01 および B07) をホウ素を加えない培地で生育させたもの。非形質転換植物と BOR1 の過剰発現植物ではホウ素欠乏の影響でほとんど根がのびていないが、NIP5;1 の発現が高まった植物では根の伸長が改善されている。特に B07 系統はホウ素を培地に加えていないにも関わらず、よく根が発達している。

### 3) ホウ酸トランスポーターBOR4 の過剰発現により、シロイヌナズナにホウ素過剰耐性を付与することに成功した。

ホウ素輸送体 BOR1 は排出型のホウ素トランスポーターであり、酵母で発現させると細胞内のホウ素濃度が低下するため、培地に高濃度のホウ酸があっても生育できるようになる。同様に BOR1 を過剰発現することで、ホウ素過剰でも生育できる植物が作出できるのでは無いかと考えたが、BOR1 を過剰発現する植物は、高濃度のホウ素に対する耐性は示さなかった。BOR1 は土壤中のホウ素濃度が高い条件では分解されてしまうためであると考えられる。植物でホウ素過剰耐性を付与するためには、土壤中のホウ素濃度が高くても分解されない排出型ホウ素トランスポーターが必要であると考えられる。

シロイヌナズナには BOR1 に似た遺伝子は BOR1 を含めて 7 個存在している。それらの発現場所等の検討から、BOR1 に似た遺伝子の一つ BOR4 がホウ素過剰に重要な遺伝子ではないかと推測されたので、BOR4 を過剰発現する植物を作出してみることにした。

BOR4 に GFP を連結しそのシロイヌナズナで過剰発現させ、ホウ素過剰条件等での生育、細胞内局在、発現場所などについて検討を加えた。

BOR4-GFP を過剰発現する植物は、高濃度のホウ素を含む培地での生育が野生型株 (非形質転換株) に比べて格段に向上していた (図 2)。

野生型株      BOR4過剰発現シロイヌナズナ  
ライン5      ライン4



図2 BOR4の過剰発現によるホウ素過剰に耐性なシロイヌナズナの作出

野生型株（非形質転換植物）と BOR4-GFP の過剰発現植物 2 系統を 6mM のホウ酸を含む培地で生育させた様子。野生型株は、ホウ素の影響で根の伸びが抑制され葉が展開しにくくなっているが、形質転換系統では生育抑制は見られず、順調に生育している。

次に細胞内局在について検討を加えた。BOR4-GFP は根の表皮細胞の遠心側（土壌に近い側）に局在することが明らかになった（図3）。また、土壌中のホウ素濃度が高くても、分解を受けないことが明らかになった。BOR4 遺伝子を破壊した植物はホウ素過剰で感受性を示すことから、BOR4 はシロイヌナズナのホウ素過剰耐性に重要な遺伝子であると考えられる。

ホウ素はホウ酸として植物に吸収される。ホウ酸は中性水溶液中では電荷を持たないため、膜透過性がイオンに比べて格段に高く、高濃度のホウ酸が存在すると、受動的に植物細胞内にホウ酸が入り込む。BOR4 はこのようにして細胞内に浸入してくるホウ素を、細胞内から細胞外へ排出することによって、体制を付与しているものと考えられ、根の立体構造を考えると、BOR4 が根の細胞でも土壌に面した側の細胞膜により多く存在していることは、根から土壌へホウ素を排出するために都合が良いと考えられる。

本研究の成果は Science 誌に発表した。

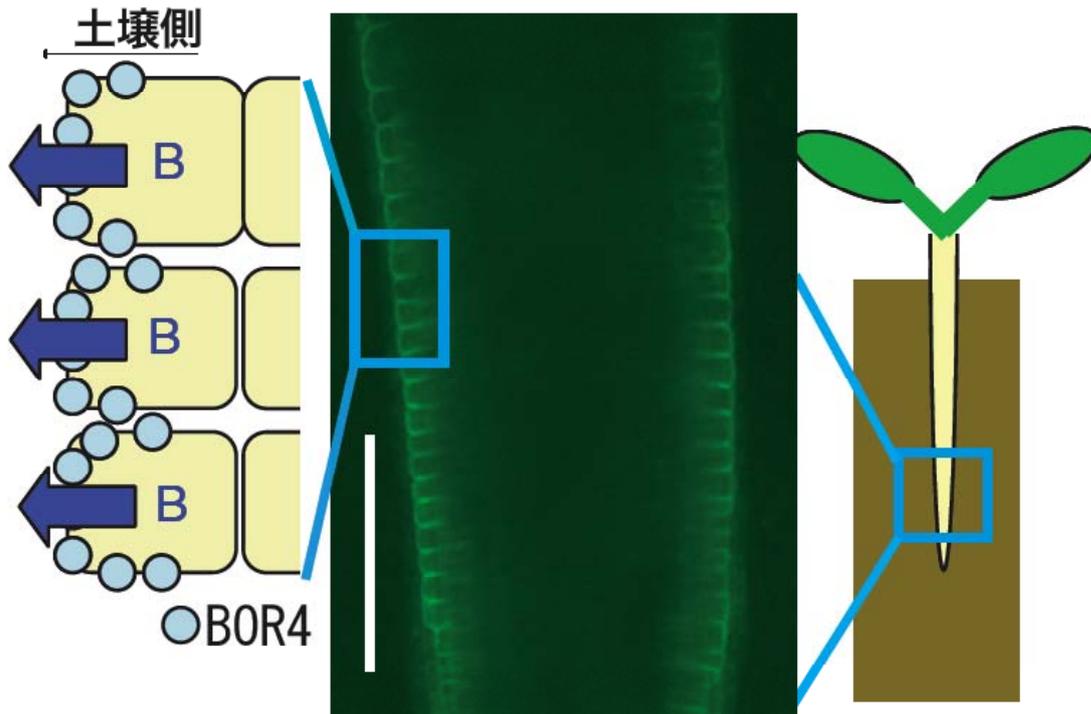


図3 BOR4-GFPの根の表皮細胞における局在

BOR4-GFPを発現する植物の根を共焦点顕微鏡で観察したもの。根の表皮細胞の土壌に面した側に局在していることがわかる。BOR4は土壌近くに局在することで、根の細胞に入り込んでくるホウ酸を効率良く土壌へと排出することができるものと思われる。

#### 4) ホウ酸過剰に極めて高い耐性を示す細菌を同定し、新種の細菌であることを明らかにした。

さきがけ研究期間内に、土壌から高い濃度のホウ酸が存在しても生育できる細菌を見だし、その一部については菌種の同定を行っていた。本研究においても、得られた菌株について、16S rDNAの配列を解析するなどして、未同定であった菌種の同定を順次進めていったところ、新種と思われる菌が複数見つかった。図4に同定された菌株の一つ、*Lysinibacillus boronitolerans*の系統樹を示す。

本成果は International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology に掲載された。

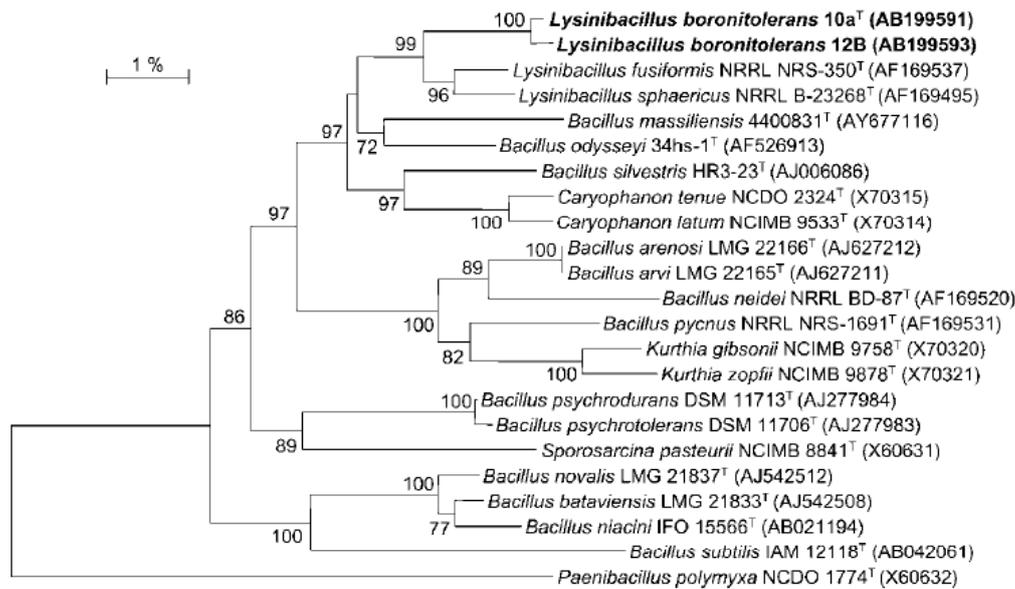


図4 *Lysinibacillus boronitolerans* の 16S rDNA 配列をもとにした系統樹

#### 5) ホウ酸過剰に極めて高い耐性を示す細菌の耐性機構がホウ素の排出によるものである可能性を示した。

ホウ素は土壌中には主にホウ酸として存在しており、ホウ酸は電荷を持たない分子であるために、膜透過性が高く、これまで述べてきたようなトランスポーターを用いた輸送制御は、一定の成功をおさめては来たものの、自ずと限界があると思われる。そこで、より幅広い多様性を持つと考えられる微生物にホウ素輸送に関する新たな生物資源を求めたところ、飽和のホウ酸濃度でも生育するものが認められた。このような微生物のホウ酸耐性機構を研究することで、ホウ酸輸送制御の全く新しいツールが得られると期待して研究を進めている。本研究では、耐性菌の一つ、*Bacillus boroniphilus* についてその耐性の生理機構を検討した。

方法としては、耐性細菌と類縁の非耐性菌である *Bacillus subtilis* を 10mM ホウ酸を含む培地に移し、経時的に細胞内のホウ素濃度を測定した。

その結果、細菌へのホウ素の取込みは 1 分程度で急速に定常濃度近くに達すること、ホウ素過剰耐性細菌では定常状態のホウ素濃度は感受性菌に比べて低いことが明らかになった (図 5)。

このことは、得られた細菌が強いホウ素排出活性を持っていることを意味しており、この強い活性を持つ排出型輸送体の実態を明らかにすることができれば、ホウ素輸送を人為的に制御するためのさらに強力なツールを得ることができると考えている。

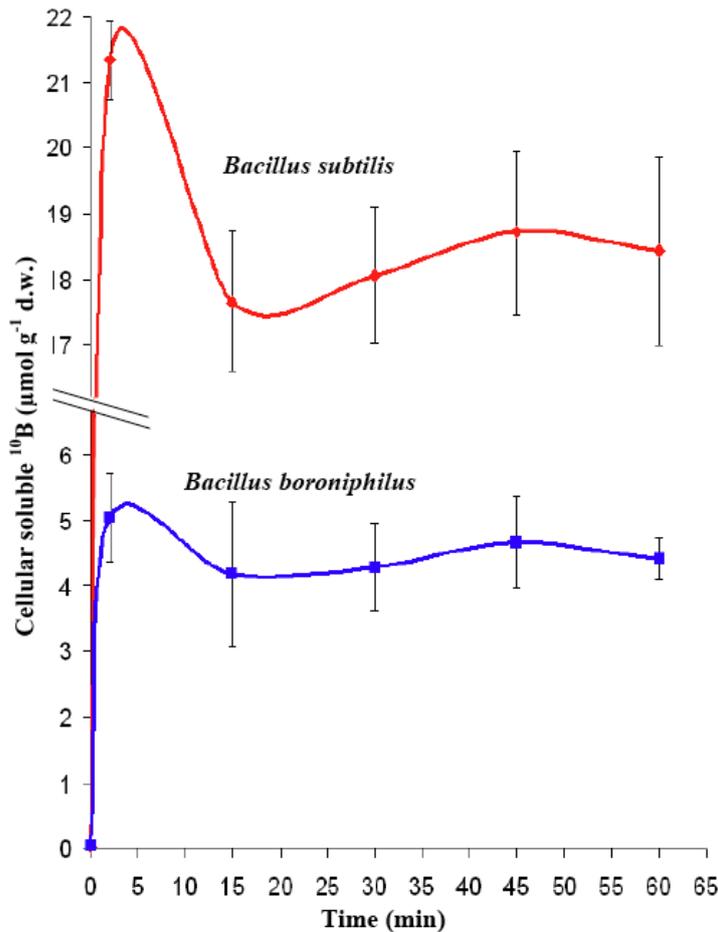


図5 *Bacillus boroniphilus* と *Bacillus subtilis* のホウ素吸収の経時変化

両者の菌株を培養したのち、ホウ素を含む培地に懸濁し、その後経時的にサンプリングした菌体のホウ素濃度の変化。いずれの菌株も短時間に定常状態に達したが、定常状態における菌体のホウ素濃度は高濃度のホウ酸に耐性を示す *Bacillus boroniphilus* の方が低かった。

## 6) ホウ酸過剰に極めて高い耐性を示す細菌から、ホウ酸過剰耐性を付与する遺伝子を同定した。

ホウ素は土壌中には主にホウ酸として存在しており、ホウ酸は電荷を持たない分子であるために、膜透過性が高く、これまで述べてきたようなトランスポーターを用いた輸送制御には自ずと限界があると思われる。そこで、より幅広い多様性を持つと考えられる微生物にホウ素輸送に関する新たな生物資源を求め、極端に高濃度のホウ酸に耐性の *Bacillus boroniphilus* を発見した。この菌株のホウ素過剰耐性の分子機構を明らかにするために、ホウ素過剰耐性を付与する遺伝子の同定を試みた。

*Bacillus boroniphilus* 耐性細菌からゲノムライブラリーを大腸菌用のプラスミドに作成した。大腸菌はもともとそれほどホウ素過剰耐性は示さないので、これを大腸菌に導入し、ホウ素過剰耐性が上昇したものを同定した。同定した菌からプラスミドを単離し、再導入し、耐性能力付与の再現性を確認した。さらに同定されたプラスミドの配列決定を行い、含まれていた ORF だけを発現プラスミドにサブクローニングし、ホウ酸過剰に対する耐性を付与する能力が維持されているかどうかを検討したところ、ホウ素過剰耐性を付与する一つの

ORF が同定できた。

この ORF は *recG* に似た遺伝子であり、*recG* を含むプラスミドを導入した大腸菌は、*recG* を含まないプラスミドを導入した株よりも顕著にホウ素過剰に耐性になっていた。一方で、この実験の過程で、大腸菌にインサートの無いコピー数の比較的高いプラスミドを導入すると、それだけで、ホウ素過剰に対する耐性が低下すること、*recG* を持つプラスミドを導入した株は、全くプラスミドを導入しない株よりもホウ素過剰耐性が低下していること、*recG* を持つプラスミドは持たないプラスミドに比べてコピー数が 1/10 程度に低下していることが明らかになった。また、同様の実験をホウ酸過剰感受性である *Bacillus subtilis* 由来の *recG* を用いて行っても、*Bacillus boroniphilus* 由来の *recG* と同程度のホウ素過剰耐性が観察されたことから、*recG* が *Bacillus boroniphilus* の高いホウ素過剰耐性の原因遺伝子とは考えにくいという結論にいたった。

おそらく *recG* をもつプラスミドのホウ酸過剰耐性は *recG* タンパク質がホウ素過剰害の低減に寄与しているというよりも、プラスミドのコピー数を低下させることによる耐性付与ではある可能性が高い。

本項目においては、予期しなかった大腸菌におけるプラスミド導入によるホウ素過剰耐性の低下、という現象を見いだしたが、もともと目的とした、*Bacillus boroniphilus* のホウ素過剰耐性遺伝子の同定には至ることができなかった。

## 7) ホウ素を蓄積する細菌を同定した。

ホウ素の流れを地球規模で考えると、現在、鉱山で採掘されたホウ素は、産業、農業等に利用され、廃棄されたものは、河川等から海洋に蓄積している。つまり、廃棄されたホウ素が再利用されることは無い。これは大規模に利用できるホウ素の選択的な除去（集積）技術が限定的であるためと考えられる。そこで、ホウ素を蓄積する能力のある細菌を検索することとした。効率の良い細菌が見つければ、ホウ素の除去技術につながる可能性がある。

下水汚泥や土壌から、ホウ素を蓄積する微生物の検索を比色法によるホウ素検出を利用して行い、得られた候補株について、ホウ素蓄積を定量した。その結果、ある程度の蓄積を示す微生物が得られた（図6）。これらの菌株の分布は *Bacillus* 属をはじめとする、複数の属にまたがっていた。

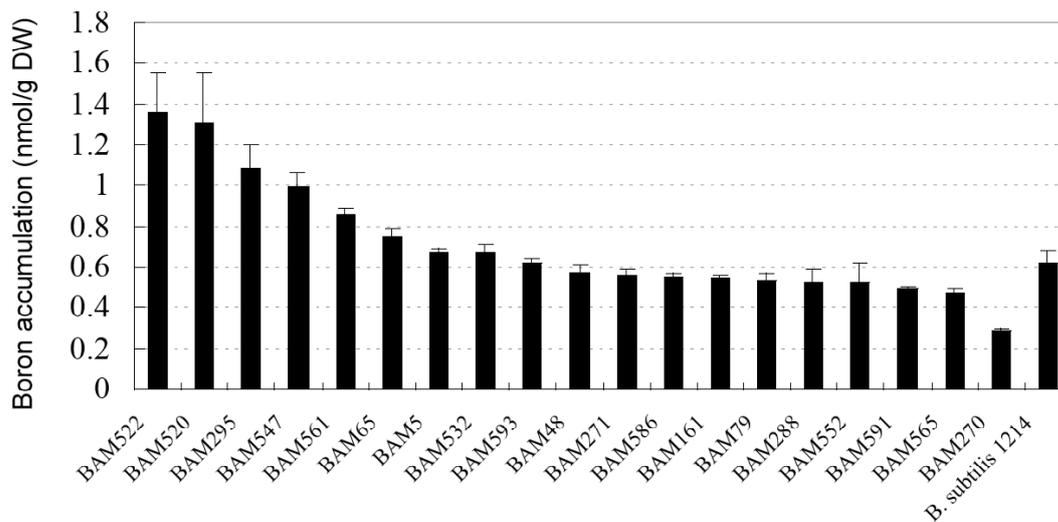


図6 ホウ素を蓄積する細菌の検索によって得られた系統のホウ素蓄積  
下水汚泥や土壌から単離したホウ酸を蓄積する細菌のホウ素濃度を測定したもの、*Bacillus subtilis* の2倍程度のホウ素を蓄積する菌株が得られた。

## (2) 得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

本研究では、さきがけ研究までの成果を基に、生物、特に植物においてホウ素欠乏やホウ素過剰耐性植物の作出方法を確立することができた。これらの成果は *Science* をはじめとする国際雑誌に掲載され、注目されている。また、これらの技術を作物に応用する道が開かれ、本発展研究の援助を受けて得られたほ場試験を行う準備を進めている。

今後、本発展研究で得られた成果が、世界のホウ素欠乏や過剰地域での農業に応用され、生産性の向上に貢献するものと期待している。

## 5. 類似研究の国内外の研究動向・状況と本研究課題の位置づけ

植物のホウ素輸送の分子機構の解明とその応用についての研究においては、私共のグループが世界をリードしている。オーストラリアの研究グループは大麦からホウ素過剰耐性を付与する遺伝子を同定したが、同定された遺伝子はホウ素トランスポーターであり、その同定は私共の研究成果に基づくものである。

私どもの研究が世界をリードする研究であり続けることができたのは、研究員などの努力が不可欠であったが、*JST* からのさきがけ研究、発展研究へと継続していただいた支援のおかげであると感している。この場を借りて御支援頂いたことに改めて感謝申し上げる次第である。

## 6. 研究実施体制

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
三輪京子	東京大学生物生産工学研究センター	特任研究員		平成19年4月～平成21年3月
笠井 光治	東京大学生物生産工学研究センター	特別研究員 (PD)		平成19年4月～平成21年3月
三輪 大樹	東京大学生物生産工学研究センター	特任研究員		平成19年4月～平成20年8月
井出 曜子	東京大学大学院農学生命科学研究科	特別研究員 (DC1)		平成19年4月～平成21年3月
河原 祐子	東京大学生物生産工学研究センター	JST 研究員	研究データの収集、解析、実験器具の洗浄	平成18年4月～平成21年3月

## 7. 研究期間中の主な活動

### (1) ワークショップ・シンポジウム等

本研究は、東京大学生物生産工学研究センターの研究グループ単独で進めてきたものである。チーム内のミーティングはほぼ毎週開催してきた。

### (2) 招聘した研究者等

該当なし。

## 8. 発展研究による主な研究成果

### (1) 論文発表 (英文論文 16件 邦文論文 7件)

○Highly boron deficiency tolerant plants generated by enhanced expression of NIP5;1, a boric acid channel. Kato Y, Miwa K, Takano J, Wada M, Fujiwara T. *Plant Cell Physiol.* 50:58–66 (2009)

NIP6;1 is a Boric Acid Channel for Preferential Transport of Boron to Growing Shoot Tissues in *Arabidopsis thaliana*. Tanaka M, Wallace I, Takano J, Roberts R.M., Fujiwara T. *Plant Cell* 20:2860-2875 (2008)

Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. Takano, J., Miwa, K., Fujiwara, T. *Trends in Plant Science* 13, 451-457(2008)

○*Variovorax terrae* sp. nov., a boron-containing bacterium isolated from soil. Miwa, H., Ahmed, I., Yoon, J., Yokota, A., Fujiwara, T. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58:286-287 (2008)

○Plants tolerant of high boron levels. Miwa, K., Takano, J., Omori, H. Seki, M.,

Shonozaki, K, Fujiwara, T. *Science* 318,1417 (2007)

○Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants. Tanaka, M. ,Fujiwara, T. *Pflug. Arch.* 456,671-677 (2007)

*An Arabidopsis thaliana* high-affinity molybdate transporter required for efficient uptake of molybdate from soil. Tomatsu, H., Takano, J., Takahashi, H., Watanabe-Takahashi A., Shibagaki, N.,Fujiwara, T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 18807–18812 (2007)

Cell-type specificity of the expression of Os BOR1, a rice efflux boron transporter gene, is regulated in response to boron availability for efficient boron uptake and xylem loading. Nakagawa, Y., Hanaoka, H., Kobayashi, M., Miyoshi, K., Miwa, K., Fujiwara, T.*Plant Cell* 19: 2624–2635 (2007)

Identification of novel *Arabidopsis thaliana* genes which are induced by high levels of boron. Kasajima, I.,Fujiwara, T. *Plant Biotechnology* 24, 355-360 (2007)

○A novel highly boron tolerant bacterium, *Bacillus boroniphilus* sp. nov., isolated from soil, that requires boron for its growth. Ahmed, I., Yokota, A.,Fujiwara, T. *Extremophiles* 11:217-224 (2007)

*Saccharomyces cerevisiae* BOR1p is a boron exporter and a key determinant of boron tolerance. Takano, J., Kobayashi, M., Noda, Y., Fujiwara, T. *FEMS Microbiology Letters* 267,230-235(2007)

Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov. sp. nov., and transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformis* comb. nov. and *Bacillus sphaericus* to *Lysinibacillus sphaericus* comb. nov. Ahmed, I., Yokota, A., Yamazoe, A., Fujiwara, T.*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57, 1117–1125(2007)

*Gracilibacillus boracitolerans* sp. nov., a novel highly boron-tolerant and moderately halotolerant bacterium isolated from soil. Ahmed, I., Yokota, A., Fujiwara, T. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57:796-802(2007)

*Chimaericella boronitolerans* sp. nov., a novel boron-tolerant and alkaliphilic bacterium isolated from soil of Hisarcik area in the Kutahya Province of Turkey. Ahmed, I., Yokota, A., Fujiwara, T.*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57, 986-992(2007)

Roles of BOR1, DUR3, and FPS1 in boron transport and tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. Nozawa, A., Takano, J., Kobayashi, M., von Wirén, N., Fujiwara, T. *FEMS Microbiology Letters* 262-2:216-222(2007)

Improvement of seed yields under boron-limiting conditions through overexpression of BOR1, a boron transporter for xylem loading, in *Arabidopsis thaliana*. Miwa, K., Takano, J., Fujiwara, T. *Plant J.* 46, 1084-1091 (2006)

The *Arabidopsis* major intrinsic protein NIP5;1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation. Takano, J., Wada, M., Ludwig, U., Schaaf, G., von Wirén, N., Fujiwara, T. *Plant Cell* 18 1498-1509 (2006)

Isolation of *Arabidopsis thaliana* cDNAs that confer yeast boric acid tolerance. Nozawa, A., Miwa, K., Kobayashi, M., Fujiwara, T. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*

70(7),1724-1730 (2006)

半乾燥地の不良土壌に多く見られるホウ酸過剰に耐性な植物の作出に成功

三輪京子、藤原徹

ブレインテクノニュース No. 127 pp12-15 (2008)

高濃度のホウ素に耐性な植物の作出に成功

三輪京子、藤原徹

細胞工学 Vol. 27 No. 4 pp. 374-375 (2008)

生物にとってのホウ素とは-必須性と毒性の理解と応用

三輪京子、藤原徹

バイオサイエンスとインダストリー vol. 65 No. 9 pp442-447(2007)

ホウ素輸送の分子メカニズム

高野順平、三輪京子、藤原徹

化学と生物 Vol. 44, No. 12 pp823-830 (2006)

植物におけるホウ素輸送の分子機構と制御

三輪京子、高野順平、藤原徹

タンパク質核酸酵素 2008 Vol. 53 No. 9 pp1173-1179

生物にとってのホウ素とは-必須性と毒性の理解と応用

三輪京子、藤原徹

バイオサイエンスとインダストリー vol. 65 No. 9(2008)

植物養分吸収系の分子改良による植物バイオマス生産

三輪京子、藤原徹

BIO INDUSTRY Apr., 2008 pp. 32-41(2008)

(2) 口頭発表

①学会

国内 65 件, 海外 12 件

②その他

国内 29 件, 海外 6 件

(3) 特許出願 (SORST 研究の成果に関わる特許 (出願人が JST 以外のものを含む))

	件数
国内出願	1
海外出願	2
計	3

#### (4) その他特記事項

プレス発表（東京大学農学部ホームページに掲載）

2008. 10. 29 NIP6;1 がホウ素の若い葉への輸送を担っている

2007. 11. 26 高濃度のホウ酸に耐性を示す植物の作出に成功

2007. 11. 16 真核生物で初めてのモリブデントランスポーターの単離と解析

2007. 10. 05 イネのホウ素トランスポーターの役割と発現制御

#### 受賞

日本学術振興会賞 平成 20 年

日本学士院学術奨励賞 平成 20 年

日本土壌肥料学会賞（内定）平成 21 年

## 9. 結び

発展研究に採択していただき、さらには予定されていた採用期間を1年間延長していたことで、さきがけ研究時代に蓄積した知見を、実際のホウ素欠乏や過剰耐性植物の作出や作出法の改善に結び付けることができたと思っている。御支援には心より感謝している。本研究においては、当初の目標をほぼ達成できたと思うが、一方では植物を材料にした研究としては研究期間が十分ではなく、得られた植物の実際の圃場での試験までにはいたることはできなかった。しかしながら、追加予算によって御支援頂いたことによって、準備段階には至ることができたことは、有り難いことだと感じている。

本研究は今後も発展させ、実際に役立つ作物を作出すると共に、ホウ素だけでなく、様々な無機成分についても基礎研究から技術開発を進めていきたいと考えている。

本研究のプロジェクトとしての運営については、私の場合には、さきがけ研究出身で、単独の研究機関から成る構成であったこともあり、特に推進上の問題を感じることはなかった。

戦略的創造研究推進事業についての意見としては、まず第一に、これまでの御支援を心より感謝している。私は、さきがけ研究「形とはたらき」「変換と制御」に採択していただくことで、現在の研究成果を挙げることができるようになったと思っている。戦略的創造研究推進事業は採択された研究者への支援が様々な意味で手厚く、優れた制度であり、その制度を支える方々のご努力に感謝したい。

その一方で、以前の戦略的創造研究推進事業とはここ数年は性格が変化してきていると感じている。私が最初にさきがけ研究に採択された際に、領域総括であられた丸山工作先生は、「みなさんを採択するに当たっては、常識に

とらわれない研究提案をした方を採択したつもりです。みなさんの研究はほとんど失敗するでしょう。でも失敗は恐れず思う存分やりなさい。」という趣旨のご挨拶をされたことを今も印象深く覚えている。当時のさきがけ研究は領域設定も広く、様々な研究領域の研究者が提案できるような設定のものばかりであったと思う。昨今の戦略的創造研究推進事業の位置づけとして、政府の定めた戦略に従って top down の研究を受け持つという性格になっていることはやむを得ない面はあるとは思うが、限定された領域設定をしすぎては、研究の発展に必要な真の競争が限定されてしまうと共に、研究に本質的に重要な自由な発想がしにくくなってしまわないのでは無いかと懸念する。本当に将来を切り開くような研究が生まれるのかどうか疑問に感じることもある。Top down 方式の運営をしつつも、以前の戦略的創造研究推進事業、特にさきがけ研究にみられた、真に新しいアイデアのある若い研究者にチャンスを与えて自由に研究をしてもらう、という精神を大切にすることが、これからの日本の科学を支え発展させていく上で不可欠なことであると思っており、戦略的創造研究推進事業においてもそういった精神を持ち続けてほしいと感じている。

本研究は、本研究に参画した研究者の皆さんの努力によってすすめられたものである。最後に最近（H20.4）の研究室の写真を掲載して、感謝の意を表したい。

