

「植物の機能と制御」

平成 13 年度採択研究代表者

西澤 直子

(東京大学大学院農学生命科学研究科 教授)

「植物の鉄栄養制御」

1. 研究実施の概要

地球上の陸域には 6 7 % の不良土壌 (石灰質アルカリ土壌, 高塩類集積アルカリ土壌, 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需要に見合う食糧増産の達成は, 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積極的に創製することにかかっている. 石灰質アルカリ土壌では鉄が水酸化第 2 鉄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. 我々はすでにムギネ酸類生合成経路中の主要酵素であるニコチアナミンアミノ基転移酵素 (NAAT) のオオムギゲノム遺伝子を導入し鉄欠乏耐性イネを作出した. 本研究では第一に, さらなる石灰質アルカリ土壌耐性の実用化品種を創製することによって, 食糧生産の増加と沙漠の緑化を目指す. 同時にそれを可能にするための基礎研究を行う. 第二に, 世界に 3 7 億人と推定される鉄欠乏貧血症 (anemia) 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する. 最終的に消費者の懸念を払拭するためにマーカー遺伝子を除去した, 安心感のある形質転換作物品種としてのイネダイズを創製する.

2. 研究実施内容

1) オオムギの鉄欠乏に応答する制御系の解明: 既に鉄欠乏誘導性のハイドロキシムギネ酸合成酵素遺伝子 (*Ids2*) のプロモーター領域において, 2 つの鉄欠乏応答性シスエレメント, IDE1, IDE2 を同定している. このシスエレメントと相互作用をするトランス因子を同定する作業を進めた. これに並行して, これまでに単離しているトランス因子候補遺伝子, *IRO1*, *IRO2* についても引き続き解析を進めた.

2) 鉄の吸収, 移行と転流の分子機構の解明: これまでに, トウモロコシで単離された「鉄・ムギネ酸」トランスporter 遺伝子 (*YSL*) の塩基配列情報を用いて, イネのゲノム上に存在する 1 8 個の「鉄・ムギネ酸」トランスporter 相同性遺伝子 (*OsYSL*) を同定した. そのうちのひとつ, *OsYSL2* は, 生物界において初めて同定された「金属・ニコチアナミン」トランスporter である. これと平行して, 既に単離し, 二価鉄輸送活性を持つことを酵母の相補実験により証明しているイネの二価鉄イオントランスporter 遺伝子, *OsIRT1*,

*OsIRT2*がイネにおいて機能していることを明らかにした。これにより、イネ科植物のうち、イネは鉄を「鉄・ムギネ酸類」と「二価鉄イオン」の両方の形態で吸収していることが明らかになった。二価鉄イオンが豊富に存在する湛水状態での生育にイネが適応した結果であると考えられる。

3) ムギネ酸類分泌の分子機構の解明：これまでに、マイクロアレイ法とノーザン解析によりオオムギのムギネ酸類分泌の概日リズムに細胞内極性小胞輸送が関与する可能性を示した。またイネにおいてもムギネ酸合成に関与する遺伝子の発現が日周変動を示すことを明らかにし、これまで明瞭ではなかったイネにおけるムギネ酸類分泌の日周変動が示唆された。

4) 鉄欠乏耐性作物とニコチアナミン米の創製：「新規大容量イネ用マーカーフリーベクター」を開発することに成功し、現在すべての新たな形質転換にはこのベクターを用いており、抗生物質耐性マーカーを除去することが可能である。高 pH でも酵素活性の強い 3 価鉄還元酵素の遺伝子(*refrel:1*)を既に進化工学的に完全合成している。イネも二価鉄イオンを吸収することが明らかになったので、イネにもこの合成 3 価鉄還元酵素の遺伝子を導入した。現在、石灰質アルカリ土壌における鉄欠乏耐性を検定している。血圧降下作用が明らかになったニコチアナミンを大量に含むニコチアナミン米については、現在イネ胚乳特異的プロモーターとオオムギニコチアナミン合成酵素遺伝子を連結して導入した形質転換イネの 22 系統の T2 種子が得られている。種子中のニコチアナミン含量を測定した結果、形質転換体のすべての系統において野生型より高いニコチアナミンが検出された。特に 3 つの系統において、野生型の約 4～5 倍の高いニコチアナミン量を検出した。一方、ニコチアナミンの大量合成系の確立を目指して、酵母にニコチアナミン合成酵素遺伝子を導入し、ニコチアナミン生産能の高い酵母を開発することに成功した。これによりニコチアナミンの工業的生産への新たな道が開けた。従来用いていた HPLC 法による測定に加えて、Capillary Liquid Chromatography Electrospray Ionization Quadrupole Time-Of-Flight Mass Spectrometry (CapLC-ESI-QTOF-MS) 法によるニコチアナミンの微量測定法を開発した。

5) 鉄欠乏耐性作物の圃場検定：17 年度、ようやく形質転換イネ 6 系統について隔離圃場試験を 4 月から 10 月にかけて行うことができた。現在その収量データを解析中であるが、形質転換イネは石灰質アルカリ土壌における鉄欠乏に強い耐性を示すことが明らかになった。

3. 研究実施体制

「東京大学」グループ

①研究分担グループ長：西澤 直子（農学生命科学研究科、教授）

②研究項目：オオムギの鉄欠乏に応答する制御系の解明

鉄の吸収、移行と転流の分子機構の解明

鉄欠乏耐性作物の創製

「東京農業大学」グループ

- ①研究分担グループ長：樋口 恭子（東京農業大学生物応用科学科、講師）
- ②研究項目：鉄欠乏耐性作物の創製と耐性検定

「東北大学」グループ

- ①研究分担グループ長：三枝 正彦（東北大学農学研究科、教授）
- ②研究項目：鉄欠乏耐性イネのフィールド検定

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

（1）論文（原著論文）発表

- Kobayashi T, Suzuki M, Inoue H, Nakanishi Itai R, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK.
Expression of iron-acquisition-related genes in iron-deficient rice is co-ordinately induced by partially conserved iron-deficiency-responsive elements.
Journal of Experimental Botany 56: 1305-1316 (2005)
- Kawagoe Y, Suzuki K, Tasaki M, Yasuda H, Akagi K, Katoh E, Nishizawa NK, Ogawa M, Takaiwa F.
The critical role of disulfide bond formation in protein sorting in the endosperm of rice. *The Plant Cell* 17:1141-1153 (2005)
- Ishimaru Y, Suzuki M, Kobayashi T, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK.
OsZIP4, a novel zinc-regulated zinc transporter in rice.
Journal of Experimental Botany 56 : 3207-3214 (2005)
- Kim S, Takahashi T, Higuchi K, Tsunoda K, Nakanishi H, Yoshimura E, Mori S, Nishizawa NK.
Increased nicotianamine biosynthesis confers enhanced tolerance of high levels of metals, in particular nickel, to plants.
Plant & Cell Physiology 46:1809-1818 (2005)
- Takagi H, Saito S, Yang L, Nagasaka S, Nishizawa NK, Takaiwa F.
Oral immunotherapy against a pollen allergy using a seed-based peptide vaccine.
Plant Biotechnology Journal 3: 521-533 (2005)
- Nakada M, Komatsu M, Ochiai T, Ohtsu K, Nakazono M, Nishizawa NK, Nitta K, Nishiyama R, Kameya T, Kanno A.
Isolation of *MaDEF* from *Muscari armeniacum* and analysis of its expression using laser microdissection.
Plant Science, Volume 170, Issue 1 : 143-150, (2006)
- Ishimaru Y, Suzuki M, Tsukamoto T, Suzuki K, Nakazono M, Kobayashi T, Wada Y, Watanabe S, Matsushashi S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK.

Rice plants take up iron as an Fe^{3+} -phytosiderophore and as Fe^{2+} .
The Plant Journal, Volume 45, Issue 3 : 335-346 (2006)

(2) 特許出願

H17 年度出願件数 : 0 件 (CREST 研究期間累積件数 : 6 件)