

植物の鉄栄養制御

東京大学大学院農学生命科学研究科 教授 西澤 直子

1 研究実施の概要

世界には、農耕地としては生産性の極めて低い不良土壌が全陸地の67%も存在し、その半分はアルカリ土壌である。不良土壌においても、画期的に高い植物生産性を上げることができれば、食糧の増産ばかりでなく、二酸化炭素の減少による地球温暖化防止や砂漠化の防止などの環境問題への貢献、バイオマスエネルギー増産などによるエネルギー問題の解決にも貢献することが期待される。

本研究課題では、石灰質アルカリ土壌における鉄欠乏に耐性の作物を分子育種することによって、食糧の増産と砂漠の緑化に貢献することを第一の目的とした。同時に、それを可能にするための基礎研究として植物の鉄栄養制御の分子機構を明らかにすることを目指した。第二に、世界に37億人と推定される鉄欠乏性貧血症を改善する機能的食品としての、鉄含有量の高いコメを創製することに挑戦した。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を作出するために、マーカー遺伝子を除去できるベクターの構築を目指した。

<石灰質アルカリ土壌耐性イネの開発>

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た鉄欠乏耐性イネ (図1) に加えて、オオムギのムギネ酸類生合成系の酵素遺伝子を複数組み合わせ導入した、12種類の形質転換イネを新たに作成した。隔離温室における石灰質アルカリ土壌でのポット試験の結果、これらの形質転換イネはいずれも鉄欠乏耐性を示した。



図1

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た鉄欠乏耐性イネ (右)。左はベクターコントロール。石灰質アルカリ土壌を用いた隔離温室でのポット試験。

これらの中から6種類を選び、東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター内の隔離圃場に、石灰質アルカリ土壌を約100トン搬入して水田を作成し、2005年4月に最初の圃場生育検定を行った。2006年は3種類の形質転換イネを対象を絞り、鉄欠乏耐性を検定した。黒ボク土壌水田においては、非形質転換イネと形質転換イネとの生育に明瞭な差は見られず、双方共に良好に生育した。一方、石灰質アルカリ土壌水田では、非形質転換イネと形質転換イネとの間に、顕著な生育の差が観察され、ムギネ酸類合成能を強化した形質転換イネの鉄欠乏耐性が、圃場レベルでも証明された。

<鉄欠乏応答性シスエレメントの同定とトランス因子の探索>

鉄欠乏に応答する遺伝子発現の制御系を明らかにするために、鉄欠乏で発現が誘導される遺伝子のプロモーター領域に存在する鉄欠乏応答性シスエレメントと、このシスエレメントと相互作用するトランス因子の同定を目指した。オオムギの *IDS2* (ムギネ酸類のアゼチジン環の水酸化酵素遺伝子) のプロモーター領域から、2つの鉄欠乏応答性シスエレメント、IDE1、IDE2 を同定した。これにより、鉄欠乏を感知して発現が誘導される遺伝子のプロモーター領域に存在する、鉄欠乏応答性シスエレメントを世界で最初に同定することに成功した。鉄に限らず、微量必須元素欠乏応答性のシスエレメントの同定としても初めての例であり、他国の研究グループに先がけたブレイクスルーとなった。また、IDE1 と相同性のある配列が、オオムギ、イネ、シロイヌナズナで報告されている多くの鉄欠乏誘導性遺伝子のプロモーターに存在することが明らかになり、鉄欠乏誘導性のシスエレメントが多くの遺伝子や植物種において保存されている可能性が示された。

マイクロアレイ解析により、さらに多くの鉄欠乏誘導性の遺伝子群をイネから同定した。これらの鉄欠乏誘導性遺伝子のプロモーター領域には、IDE1、IDE2 と相同性の高い配列が高頻度に存在することを明らかにした。この結果から、イネは鉄吸収に関わる多数の鉄欠乏誘導性遺伝子の発現を、IDE1、IDE2 が関与する共通のメカニズムによって制御していると考えられた。さらに、IDE1、IDE2 の配列を基本にしてイネ用の強力な鉄欠乏誘導性合成プロモーターを開発した。

IDE1、IDE2 と相互作用するタンパク質を同定するために、IDE1、IDE2 の配列を用いて、酵母のワンハイブリッド法によりトランス因子を単離する作業を行った。その結果、IDE1、IDE2、それぞれに結合する2つのトランス因子の候補遺伝子を得た。

鉄欠乏初期に顕著に発現が誘導される bHLH 型転写因子をイネとオオムギから単離し、IR02 と命名した。IR02 は転写アクチベーターとして機能した。IR02 の結合配列を決定したところ IDE1、IDE2 とは異なっていたが、いくつかの鉄吸収に関わる遺伝子の発現を制御しており、また複数の鉄欠乏誘導性転写因子の発現も制御していた。*OsIR02* 自身は上流に IDEs に相同性の高い配列を持つことから、鉄欠乏時において次のような遺伝子発現制御ネットワークが想定される。まず IDEs 結合性転写因子が、*OsIR02* のプロモーター領域に存在する IDEs に作用して *OsIR02* の発現を誘導し、発現量が増加した *OsIR02* が、さらにその下流の鉄欠乏誘導性転写因子や、鉄吸収に関わる遺伝子の発現を誘導するというカスケードである。

<ニコチアナミンの機能解明とその応用>

オオムギの7つのニコチアナミン合成酵素遺伝子に加えて、新たにイネから3つ、トウモロコシから3つ、またイネ科には属さないシロイヌナズナから4つのニコチアナミン合成酵素遺伝子を単離した。これらの遺伝子の発現様式を解析した。

ニコチアナミンアミノ基転移酵素を過剰発現させることにより、内生ニコチアナミンが消費され、ニコチアナミン欠損となった形質転換タバコを用いて、ニコチアナミンが鉄、亜鉛、マンガンなどの金属栄養素の体内輸送において必須であること、また細胞内の金属輸送にも関与する可能性を明らかにした。逆にニコチアナミン合成酵素遺伝子を過剰発現させることにより、ニコチアナミンの生合成量が増加した植物では、種子中の鉄や亜鉛含量が増加することを見いだした。また、これらのニコチアナミン高生産植物は重金属過剰に対して強い耐性を示し、ファイトレメディエーションに応用可能であることを明らかにした。

イネの3種類のニコチアナミン合成酵素遺伝子が、篩部伴細胞を始めとする長距離輸送に関わる細胞で発現していることを明らかにし、ニコチアナミンはイネにおいてムギネ酸類の前駆体として寄与するだけでなく、鉄の長距離輸送にも関与する可能性を示した。後述のように、イネにもシロイヌナズナにも「金属・ニコチアナミン」トランス

ポーターが存在することを考え合わせると、土壌からの鉄の吸収機構が異なるイネ科植物とそれ以外の植物においても、ニコチアナミンを介する同一の機構によって鉄の体内長距離輸送が行われていると考えられる。すなわち、ニコチアナミンは、すべての高等植物において金属イオンの体内輸送に必須の物質であることが明らかになった。

さらにニコチアナミンにはアンジオテンシン変換酵素の阻害効果があり、血圧降下作用を示すことが明らかになったので、機能性食品として、ニコチアナミンを大量に含むニコチアナミン米とニコチアナミン酵母を開発した。イネ種子中のニコチアナミン含有量が約5倍になった系統が得られた。ニコチアナミンを高産生する酵母を作出した。

＜鉄・ムギネ酸類トランスポーター、鉄・ニコチアナミントランスポーターの同定＞

イネのゲノム上に18個の「鉄・ムギネ酸類」トランスポーター相同性遺伝子 (*OsYSL*) を同定した。それらのうち、*OsYSL2* は根における土壌からの「鉄・ムギネ酸類」取り込みに関与するトランスポーターではなく、ムギネ酸類生合成前駆体であるニコチアナミンと金属との錯体「鉄・ニコチアナミン」と「マンガン・ニコチアナミン」のトランスポーターであり、鉄やマンガンの長距離輸送と種子中への蓄積に関与することを明らかにした。*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」トランスポーターである。さらに *OsYSL15* が「鉄・ムギネ酸類」トランスポーターであり、土壌からの「鉄・ムギネ酸類」吸収と種子への鉄集積に関わることを明らかにした。

＜イネ二価鉄イオントランスポーターの同定と新規鉄欠乏耐性イネの作出＞

鉄欠乏のイネの根において、*OsIRT1* が二価鉄イオンの吸収に関与していることを明らかにした。水田においては、アルカリ土壌の場合を除いて根圏に二価鉄イオンが豊富に存在する。そのような環境では、イネは二価鉄イオントランスポーターによっても鉄を吸収すると考えられる。すなわち、イネは「二価鉄イオン」と「鉄・ムギネ酸類」の2つの形態で鉄を吸収すると考えられた。この新知見に基づき、進化工学的に完全合成した、高 pH でも酵素活性の高い改変型三価鉄還元酵素遺伝子 (*refre1-372*) を導入することにより、石灰質アルカリ土壌における鉄欠乏に耐性のイネを新規に開発することに成功した。さらに *OsIRT1* はカドミウムを吸収することも明らかにし、鉄欠乏を回避することによって、イネのカドミウム吸収を抑制できる可能性を示した。

＜デオキシムギネ酸合成酵素遺伝子の単離＞

ムギネ酸類合成経路上に、唯一未解明のまま残されていた、デオキシムギネ酸を生成する酵素の遺伝子、デオキシムギネ酸合成酵素遺伝子を、イネ、オオムギ、コムギ、トウモロコシから単離した。これにより、ムギネ酸類合成経路上のすべての酵素の遺伝子を同定することに成功した。

＜超高鉄含有米の作出＞

ダイズフェリチン遺伝子と共に、ムギネ酸類の生合成に関わるオオムギの遺伝子をイネに導入し、イネの鉄吸収・転流能力を向上させることにより、超高鉄含有米を作出することを試みた。種子中の鉄含量が非形質転換イネより高い形質転換イネが得られた。

＜関連基盤技術の開発＞

数十キロ塩基対を安定して植物に導入することが可能なイネ用ベクターに、ロックフェラー大学グループが開発した DNA リコンビネーションシステムを応用することにより、「新規大容量イネ用マーカーフリーベクター」を開発した。このベクターを用いて新たに鉄欠乏耐性イネ、超高鉄含有米創製のための形質転換イネを作出した。

LC/ESI-TOF-MS による新規のニコチアナミン高感度測定法の開発に成功し、微量試料中のニコチアナミン含量測定が可能となった。同時に、この手法を用いてデオキシムギネ酸の高感度測定も可能となった。

元素の移行を非破壊的にリアルタイムで計測できるPETIS (Positron Emitting Tracer Imaging System) の手法を確立したことにより、生体内の鉄の吸収と移行の動態を明らかにすることに成功した。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

人類生存の基盤である食糧を確保するために、どのようにして穀物収量を増加させるのかは、人類が直面している重大な課題である。多くの先人の努力により、これまで世界の穀物生産量は増加してきた。しかし、その一方で、爆発的な人口増加のために、一人当たりの穀物生産量は、1985年をピークに減少の局面に入っている。さらに、多くの優良農耕地が都市化によって消滅し、加えて環境破壊に伴う土壌の荒廃、砂漠化などにより世界の農耕地は減少の一途をたどり続け、過去50年間で一人当たりの耕地面積は半減しており、今後もさらに減少を続けることが確実である。農耕地は減少を続ける一方で、しかし、世界には不良土壌とよばれる、農耕地としては生産性の極めて低い土壌が、全陸地の67%も存在する。したがって、将来このような不良土壌においても、画期的に高い植物生産性を上げることができれば、食糧の増産ばかりでなく、二酸化炭素の減少による地球温暖化防止や砂漠化の防止などの環境問題への貢献、バイオマスエネルギー増産などによるエネルギー問題の解決にも貢献することが期待される。鉄は土壌中には豊富に存在する元素であるが、好気的な条件では三価となっており、難溶性の水酸化第二鉄として存在する。特に pH の高いアルカリ土壌では土壌溶液中にはほとんど溶けていないため、植物は鉄を吸収できずに鉄欠乏となる。

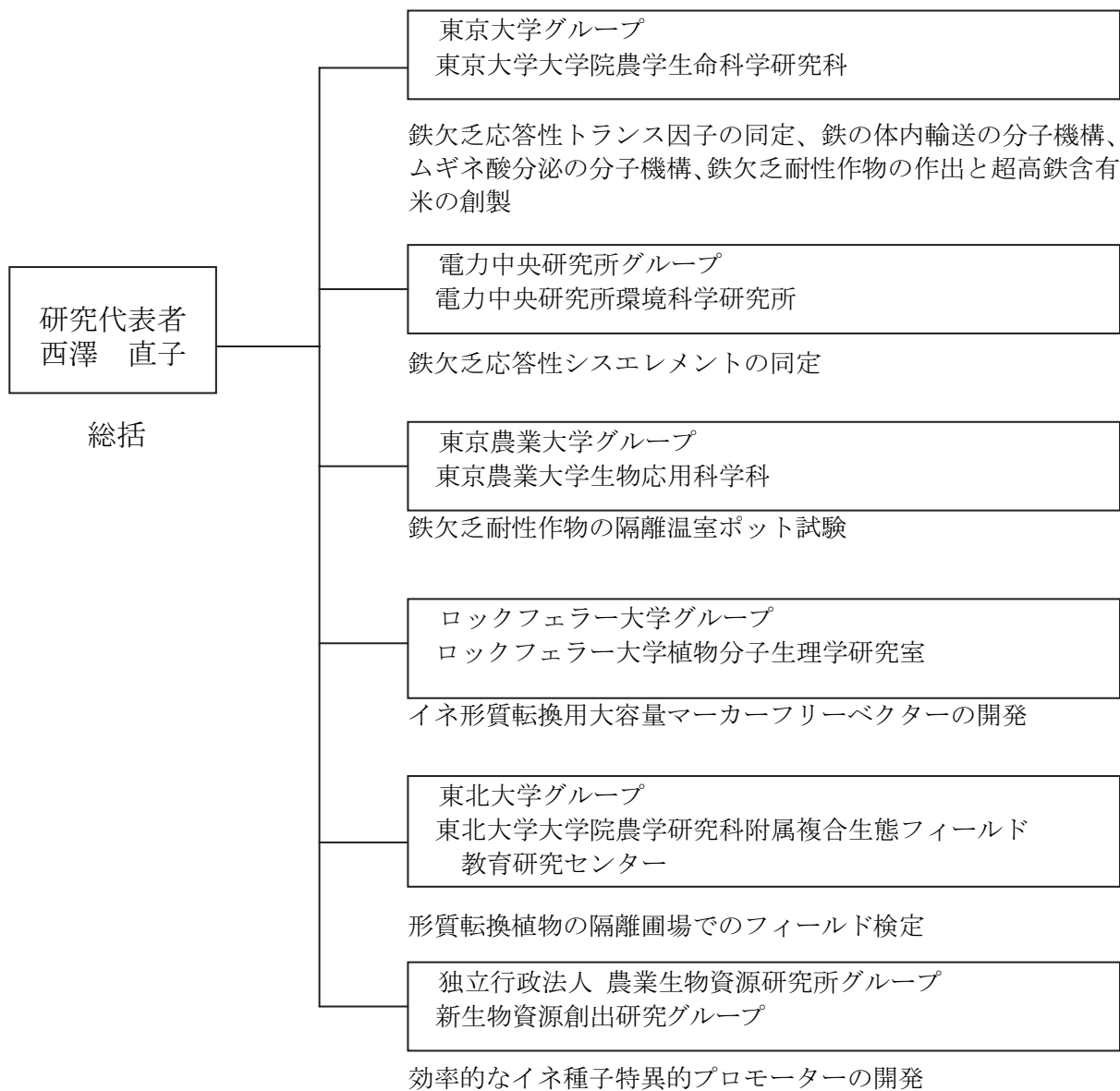
本研究課題では、全陸地の約30%を占める石灰質アルカリ土壌における鉄欠乏に耐性の作物を分子育種することによって、食糧の増産と砂漠の緑化に貢献することを第一の目的とした。同時に、それを可能にするための基礎研究として、以下の3項目を中心に植物の鉄栄養制御の分子機構を明らかにすることを目指した。1. 鉄欠乏に応答する遺伝子発現制御系の解明、2. 鉄の吸収、移行と転流の分子機構の解明、3. ムギネ酸類分泌機構の解明である。これらの基礎研究については、東京大学大学院農学生命科学研究科の西澤グループが中心となって推進し、鉄欠乏応答性シスエレメントの決定は電力中央研究所の吉原グループとの共同研究により進めた。新たに作出した鉄欠乏耐性作物の隔離温室におけるポット試験については、東京農業大学の樋口グループと共同で行った。鉄欠乏耐性イネの将来の実用化への道程において不可欠となる「第1種使用のための遺伝子組換え水稻隔離圃場試験」は、東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センターの隔離圃場において、三枝グループとの共同で実施した。

第二に、世界に37億人と推定される鉄欠乏性貧血症を改善する機能性食品としての高鉄含有米を創製することに挑戦した。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を作出するために、マーカー遺伝子を除去できるベクターの構築も目指した。イネ種子中の鉄含量を増加させるために必須の、効率的なイネ種子特異的プロモーターの開発は、農業生物資源研究所の高岩グループが担当した。DNAリコンビネーションシステムを応用して、数十キロ塩基対を安定して植物に導入することが可能であり、かつ形質転換後にマーカー遺伝子を除去することのできる「新規大容量イネ用マーカーフリーベクター」をロックフェラー大学グループとの共同研究により開発した。

研究の進行に伴う新展開から新たに生まれた目標としては、ニコチアナミンがヒトの血圧調整系であるレニン・アンジオテンシン系を阻害することが明らかとなったことにより、血圧降下作用を持つ機能性食品として、ニコチアナミンを大量に含むコメ、ダイズ、酵母の作出を目指した。

さらに、これらの研究を進展させるための基盤技術として、LC/ESI-TOF-MSによる微量試料からのニコチアナミンとデオキシムギネ酸の高感度測定法を開発することを目指した。また鉄の吸収、移行を解析するにあたり、元素の移行を非破壊的にリアルタイムで計測できるPETIS (Positron Emitting Tracer Imaging System) の手法を日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所、浜松ホトニクスとの共同研究により確立した。

(2) 実施体制



3 研究実施内容及び成果

- 3.1 鉄欠乏に応答する制御系、ニコチアナミンの機能解明、鉄の吸収と移行の分子機構、ムギネ酸類分泌機構の解明、新規鉄欠乏耐性イネ、超高鉄含有米の作出、イネ用マーカフリーベクターの開発等の基盤技術開発
(東京大学大学 西澤直子グループを中心に、電力中央研究所 吉原利一グループ、農業生物資源研究所 高岩文雄グループ、ロックフェラー大学 Nam-Hai Chua グループの4グループが連携して研究を推進した)

(1) 研究実施内容及び成果

<鉄欠乏に応答する制御系の解明>

鉄欠乏に応答する遺伝子発現の制御系を明らかにするために、鉄欠乏で発現が誘導される遺伝子のプロモーター領域に存在する鉄欠乏応答性シスエレメントと、このシスエレメントに相互作用するトランス因子を同定することを目指した。まずオオムギの *IDS2* 遺伝子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を同定した。

オオムギ *IDS2* 遺伝子は、ムギネ酸類のアゼチジン環の3位を水酸化するジオキシゲナーゼをコードしており、その発現は鉄欠乏により根で強く誘導される。*IDS2* 遺伝子のプロモーター領域をレポーター遺伝子であるβ-グルクロニダーゼ遺伝子 (*GUS*) に連結し、タバコに導入してT₁世代の形質転換体を用いて鉄欠乏応答性を検出した。1.7 kbの *IDS2* プロモーターはタバコの根で、鉄欠乏に応答して強い発現を誘導した。葉および鉄十分条件の根では発現はわずかであった。鉄以外の微量元素の欠乏では発現は誘導されなかった。このことは、オオムギで鉄欠乏誘導性・根特異的発現を付与する因子が、鉄吸収機構が異なるタバコ等の双子葉植物をも含めた高等植物間で広く保存されていることを示唆していた。

続いて *IDS2* プロモーターの欠失解析により、翻訳開始点を+1として数えたとき-272から-91までの配列(-272/-91)がタバコの根における鉄欠乏誘導性発現のために必要かつ十分であることが判明した。さらにこの配列(-272/-91)内の詳細な欠失解析および変異解析により、*IDS2* プロモーターに鉄欠乏誘導性を付与する2つのシスエレメント、すなわち -153/-136 領域の IDE1 (Iron deficiency responsive element 1) および -262/-236 領域の IDE2 (Iron deficiency responsive element 2) を明らかにした。これにより、鉄欠乏を感知して発現が誘導される遺伝子のプロモーター領域に存在する鉄欠乏応答性シスエレメントを世界で初めて同定することに成功した。鉄に限らず、微量必須元素欠乏応答性のシスエレメントの同定としても初めての例であり、他国の研究グループに先がけたブレークスルーとなった。



図2 鉄欠乏応答性シスエレメントIDE1 (Iron deficiency responsive element)、IDE2

IDE1 と IDE2 は、協同的に鉄欠乏応答性発現を誘導する (図 2)。すなわち、カリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーターの転写開始点を+1 として数えて-46/+8 領域を最小プロモーターとして連結した場合、IDE1 と IDE2 の共存が特異的発現のために必須であり、IDE1 のみ、または IDE2 のみでは発現誘導はほとんど検出されない。

IDE1 配列と IDE2 配列は弱い相同性を持っていた。また、検索の結果、IDE1 と相同性のある配列がオオムギ、イネ、シロイヌナズナで報告されている多くの鉄欠乏誘導性遺伝子のプロモーターに存在することが明らかになった (図 3)。このことは、鉄欠乏応答性のシスエレメントが多くの遺伝子や植物種において保存されている可能性を示している。

		IDE1 + (-153) [ATCAAGCATGCTTCTTGC]TGCC (-132)	
HvNAAT-A	(-195)	TGCATGCGTGCTTCTTGC	(-178)
	(-307)	GAGAAGCATGGTTCATGC	(-290)
HvNAAT-B	(-181)	CGCGTGCGTGCTTCTTGC	(-164)
	(-387)	AAGCATCATGCTTCCTGC	(-370)
	(-467)	GCGATGCATGCTTTGTGA	(-450)
HvNAS1	(-190)	GCCAGGCGGGTTTCATGC	(-207)
	(-310)	CCAACGCAATCTTCATGG	(-293)
	(-7)	ATCAA--ATGCTTCTTGG	(-22)
HvIDS3	(-197)	ATCAAGATAGATTATTCC	(-214)
	(-707)	ATGCAACATTTTCTTTC	(-724)
OsNAAT1	(-290)	AGCATGCATGGATCATGC	(-273)
	(-242)	ATAAGGCGCGCTTCACGC	(-259)
OsNAS2	(-250)	ATGAGGCTTGTTTCATGC	(-267)
	(-216)	TCCATGCATGCATAATGC	(-199)
OsIRT1	(-1100)	CTCTAGGATACTTATTCC	(-1083)
AtFRO2	(-174)	TAGTTGCATGCTCCATGC	(-191)
	(-811)	AGGCAGCATGGTCCTTGG	(-794)
	(-762)	ATCATACATGCTGTAAAC	(-745)
AtIRT1	(-1455)	CCATGGCATGCCCTCTAA	(-1472)
AtNAS1	(-421)	TATAAGCATGCATCTAAC	(-438)
AtNAS2	(-1043)	ATCAATAATGCCCTTCTTGC	(-1060)
AtNAS4	(-792)	ATCAATCATATTTCTTGG	(-775)
		IDE2 (-262) [TTGAACGGAAGTTTCACGCTGTCACT] (-236)	

図 3 鉄欠乏誘導性プロモーターに存在する IDE1 類似配列。Hv はオオムギ、Os はイネ、At はシロイヌナズナの遺伝子。

IDE1 と IDE2 をさまざまに配置、あるいは重複してエンハンサー様配列に連結してイネに導入し、発現を解析した。鉄欠乏により根および葉で顕著な発現誘導が検出された。IDE1 と IDE2 を 1 コピーずつ持つプロモーター断片が、イネにおいても強力な鉄欠乏誘導性を付与するのに十分であることを確認した。

マイクロアレイ解析によりイネの鉄欠乏根で発現が誘導される遺伝子群を明らかにし、これらの上流領域における IDE1、IDE2 の類似配列を検索した。イネマイクロアレイスライド上の 8987 個の cDNA クローンのうち、57 個の遺伝子がイネの鉄欠乏根で鉄十分根に対して 2 倍以上の発現を示した。これらの多くはムギネ酸類を介した鉄吸収機構に関与しており、メチオニンからのムギネ酸類生合成経路上の酵素遺伝子のほか、メチオニンサイクルの全ステップの酵素についての候補遺伝子が含まれていた。ノーザン解析により、ムギネ酸類の生合成に関与する遺伝子群の発現がいずれも鉄欠乏により根で誘導され、その大部分が葉でも発現誘導されることを確認した。

さらに、イネの鉄吸収に関連する鉄欠乏誘導性遺伝子のプロモーター領域には、鉄欠乏により発現が誘導されない遺伝子群と比較して、IDE1 および IDE2 の類似配列が高い割合で存在することが明らかになった。これらの結果から、イネは鉄吸収に関わる多数の鉄欠乏誘導性遺伝子の発現を共通のメカニズムによって制御しており、この制御には IDE が関与することが示唆された。

IDE1、IDE2 と相互作用するタンパク質を同定するために、IDE1、IDE2 の配列を用いて、酵母のワンハイブリッド法によりトランス因子を単離する作業を行い、ゲルシフトアッセイによって配列特異的に結合することを確認した。その結果、IDE1、IDE2、それぞれに結合する 2 つのトランス因子の候補タンパク質を得ている。

マイクロアレイ解析により、鉄欠乏初期に顕著に発現が誘導される bHLH 型転写因子をイネとオオムギから単離し、IRO2 と命名した。IRO2 は根、地上部ともに鉄欠乏により強く発現が誘導されたが、亜鉛、銅、マンガン欠乏では誘導されず、鉄欠乏に特異的であった。OsIRO2 の DNA 結合配列を Cyclic Amplification and Selecting Targets (CASTing) 実験により決定した。その結果、OsIRO2 は G-box (CACGTG) を含む 5' -ACCACGTGGTTT-3' という配列に結合しやすいことがわかった。さらにゲルシフトアッセイにより、G-box が OsIRO2 の結合におけるコア配列であり、その周辺の配列は結合活性をより高めることが明らかになった (図 4)。IRO2 は転写アクチベーターとして機能する。

35S プロモーターによる *OsIRO2* 過剰発現イネと RNAi 法による発現抑制イネを作出して解析したところ、いくつかの鉄吸収に関わる遺伝子の発現が *OsIRO2* の発現上昇に伴い増加し、また *OsIRO2* の発現抑制に伴い減少することが確認された。IRO2 の結合配列は、IDE1、IDE2 とは異なっていたが、いくつかの鉄吸収に関わる遺伝子の発現を制御しており、また複数の鉄欠乏誘導性転写因子の発現も制御することが明らかとなった。*OsIRO2* 自身は上流に IDEs に相同性の高い配列を持つことから、鉄欠乏時において、次のような遺伝子発現制御ネットワークが想定される。まず IDEs 結合性転写因子が、*OsIRO2* のプロモーター領域に存在する IDEs に作用して OsIRO2 の発現を誘導し、発現量が増加した OsIRO2 がさらにその下流の鉄欠乏誘導性転写因子や、鉄吸収に関わる遺伝子の発現を誘導するというカスケードである。

IRO2 によって制御される遺伝子にはムギネ酸類合成に関わる遺伝子も含まれていた。鉄欠乏時に分泌されるムギネ酸類の量は、ベクターコントロールに比べて 35S イネで 1.68 倍、RNAi イネで 0.46 倍であった。OsIRO2 は鉄吸収に関わる遺伝子の発現を制御する主要な転写因子のひとつであると考えられる。

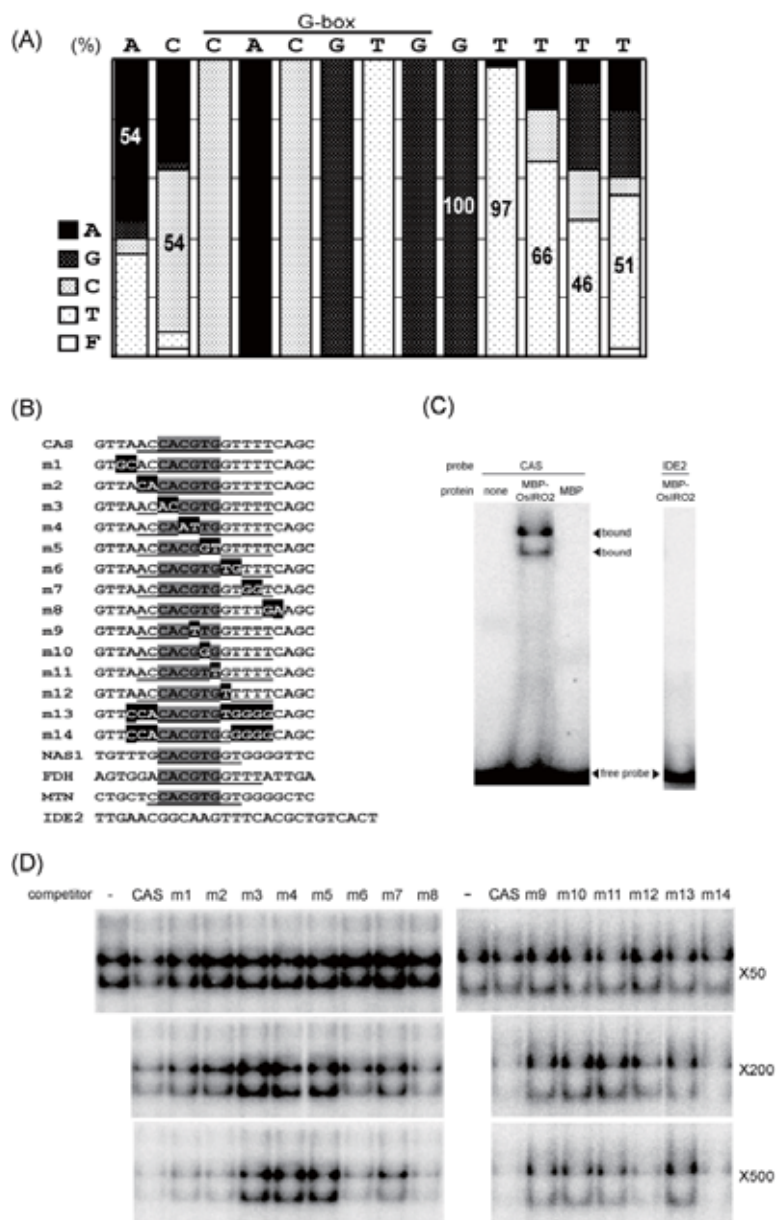


図4 OsIR02 の結合配列。

- (A) CASTing による OsIR02 結合配列の決定。G-Box を含む 5' -ACCACGTGGTTT-3' に結合しやすい。
- (B) (C) (D) MBP-OsIR02 を用いたゲルシフトアッセイ。
- (B) コンペティターとして使ったオリゴヌクレオチドの配列。変異の導入は A を C、C を A、T を G、G を T に変換した。
- (C) CASTing により得られた配列と IDE2 の配列を MBP-OsIR02、MBP と反応させた。
- (D) コンペティターとして (B) の配列を使ったゲルシフトアッセイ。

<デオキシムギネ酸合成酵素遺伝子の単離>

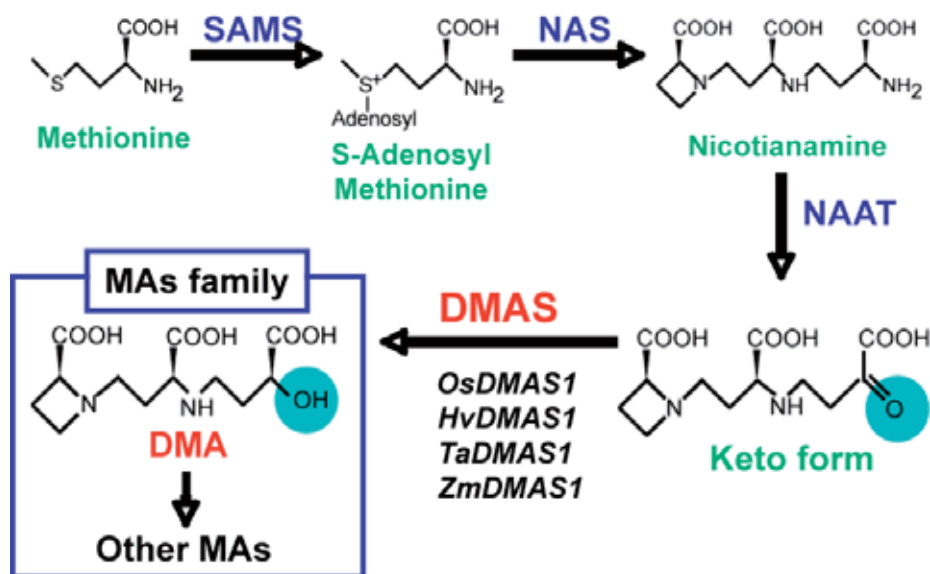


図5 ムギネ酸類生合成経路とデオキシムギネ酸合成酵素 (DMAS)

これまでにムギネ酸類の全生合成経路を解明し、それぞれのステップを触媒する酵素の遺伝子を単離した。しかし、唯一、デオキシムギネ酸を生成する酵素の遺伝子のみが未解明のまま残され、ムギネ酸類合成経路上のミッシングリングとなっていた(図5)。そこでデオキシムギネ酸合成酵素遺伝子の単離を目指した。デオキシムギネ酸生合成の最終ステップは、ニコチアナミンの末端アミノ基がニコチアナミンアミノ基転移酵素により転移され、生成したケト体を、NADPHを電子供与体を用いて還元する反応である(図6)。この反応から、目的とする酵素は Aldo-keto reductase superfamily に属すると想定した。また、これまで単離した生合成経路の酵素遺伝子はすべて鉄欠乏によって強く発現が誘導されることから、この酵素遺伝子も鉄欠乏によって発現誘導されると推定した。

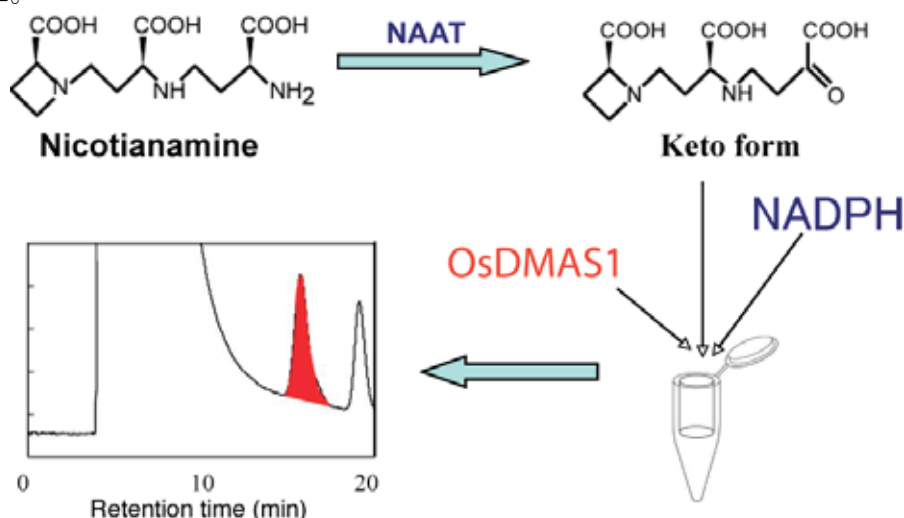


図6 デオキシムギネ酸合成酵素の *in vitro* 活性測定法。ニコチアナミンをニコチアナミンアミノ基転移酵素によってケト体に変換し、そこに NADPH と候補タンパク質を加え反応させる。HPLC 法により反応産物のデオキシムギネ酸を測定し、活性を検定する。

イネのマイクロアレイ解析により得られた鉄欠乏誘導性遺伝子群のなかから、Aldo-keto reductase superfamily に属すると推定される還元酵素遺伝子を選びだし、デオキシムギネ酸合成酵素活性を持つかどうかを調べた (図6)。その結果、デオキシムギネ酸合成酵素遺伝子、*DMAS1* を同定することに成功した。イネの配列をもとに、オオムギ、コムギ、トウモロコシからもデオキシムギネ酸合成酵素遺伝子を単離した。いずれの遺伝子も、そのコードするタンパク質が酵素活性を持つことを *in vitro* アッセイ系で確認した。いずれの遺伝子も鉄欠乏の根で発現が誘導された (図7)。イネ、オオムギ、コムギ、トウモロコシからデオキシムギネ酸合成酵素遺伝子が初めて単離され、ムギネ酸類合成経路上のすべての酵素の遺伝子が明らかになった。

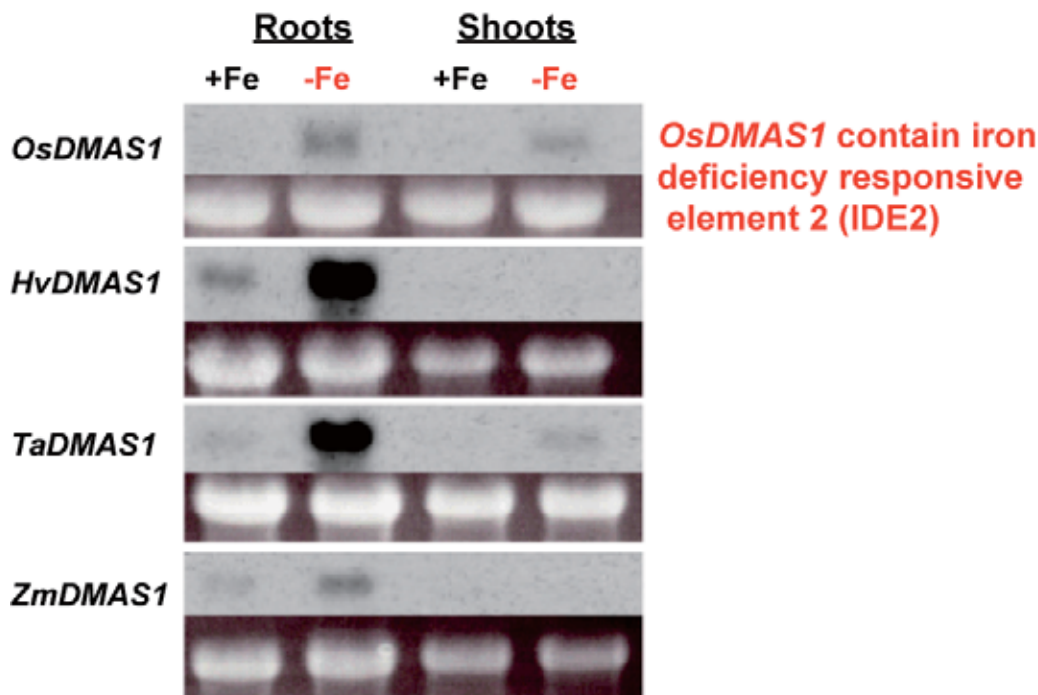


図7 イネ、オオムギ、コムギ、トウモロコシのデオキシムギネ酸合成酵素遺伝子いずれも鉄欠乏の根で発現が誘導される。*OsDMAS1* の上流には IDE2 が存在する。

<ニコチアナミンの機能解明とその応用>

ニコチアナミンは、イネ科植物におけるムギネ酸類の生合成中間体として重要な化合物である (図5)。一方、ニコチアナミンは金属イオンとの結合能を持ち、イネ科以外の高等植物にも広く存在するところから、金属イオンの代謝、体内移行、体内分配に必須の化合物と想定されていたが、その生理機能の分子レベルでの解明には至っていなかった。

すでに単離していたオオムギの7つのニコチアナミン合成酵素遺伝子に加えて、新たにイネから3つ、トウモロコシから3つ、またイネ科には属さないシロイヌナズナから4つのニコチアナミン合成酵素遺伝子を単離した。これらのニコチアナミン合成酵素遺伝子ファミリーの栄養成長、生殖成長の各時期における発現様式を明らかにした。その結果、これらの遺伝子は生長過程においてそれぞれ異なる発現制御を受け、発現部位と発現時期はそれぞれ異なることが明らかになった。さらに金属栄養条件によっても異なる制御をうけていた。

イネのニコチアナミン合成酵素遺伝子のうち、*OsNAS1*、*OsNAS2* は栄養十分条件では

維管束部分に発現しており、鉄欠乏によって強く発現が誘導されると根全体に発現が拡大した。鉄欠乏によりクロロシスを呈した葉では全ての細胞に発現が観察され、とくに篩部に強い発現が見られた。一方、*OsNAS3* は、鉄欠乏条件になっても根での発現は低くかったが、葉では恒常的に維管束細胞で発現しており鉄欠乏によって発現が抑制された。同様にイネ科植物のトウモロコシにおいても、葉で恒常的に発現し、鉄欠乏によって発現が抑制されるニコチアナミン合成酵素遺伝子、*ZmNAS3* が存在することを明らかにした。*ZmNAS1*, *ZmNAS2* が細胞内小胞に局在するのに対し、*ZmNAS3* は細胞質に局在した。イネ科植物のニコチアナミン合成酵素遺伝子は、その発現パターンとアミノ酸配列から大きく2つのグループに分けられることが示された。すなわち、イネ科植物において根圏にムギネ酸類を分泌するために前駆体として合成されるニコチアナミンとは別に、ニコチアナミンそのものが独自の機能を持つことを強く示唆していた。イネの3種類のニコチアナミン合成酵素遺伝子が、篩部伴細胞を始めとする長距離輸送に関わる細胞で発現していること、特に、*OsNAS3* は恒常的に篩部で発現していることから、ニコチアナミンはイネにおいてムギネ酸類の前駆体として寄与するだけではなく、鉄の長距離輸送にも関与する可能性が示された。

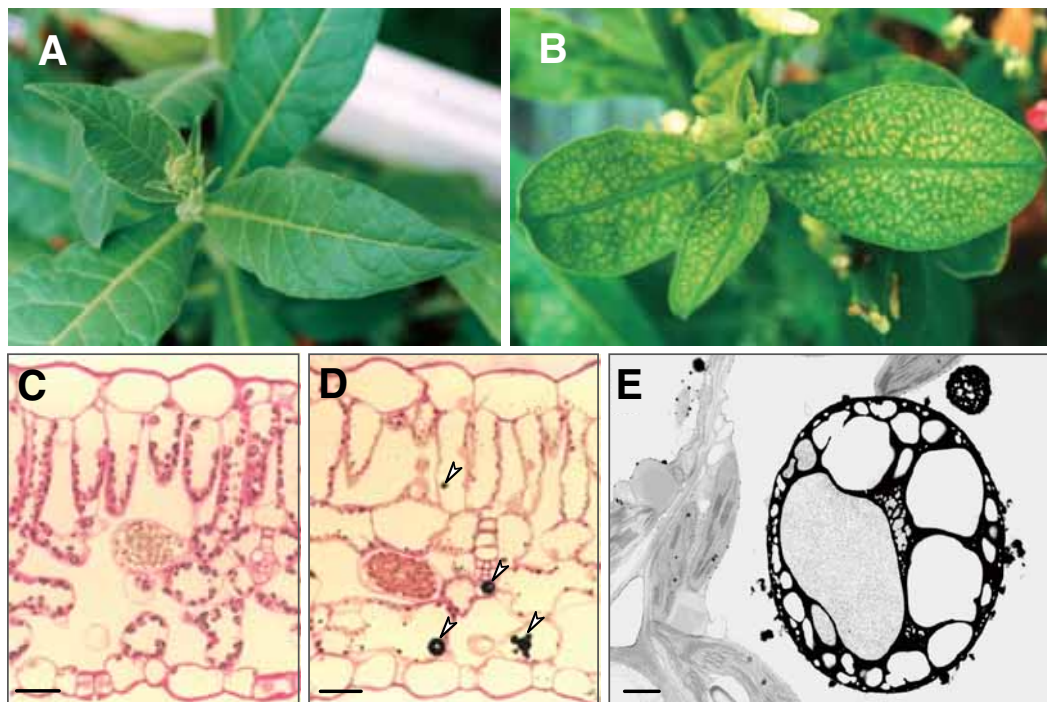


図8 ニコチアナミンアミノ基転移酵素を過剰発現させることにより内生ニコチアナミン欠損となった形質転換タバコ (B) は葉脈間クロロシスを示す。葉脈間に鉄が移行していないことが金属分布分析によって明らかになった。葉の構造自体には変化はないが、形質転換タバコの葉の液胞内には、電子密度の高い粒状の構造が観察された (D, E)。ニコチアナミンの投与によって、表現型が回復してもこの構造は消滅しないことから生成されたケト体の重合物と考えられる。(A, C) 非形質転換タバコ。

ニコチアナミンアミノ基転移酵素を過剰発現させることにより、内生ニコチアナミンが消費されニコチアナミン欠損となった形質転換タバコを用いて (図8)、イネ科以外の植物ではニコチアナミンが鉄、亜鉛、マンガンなどの金属栄養素の体内輸送において必須であること、また細胞内の金属輸送にも関与する可能性を明らかにした。内生ニコチアナミンが欠損した形質転換タバコは葉脈間クロロシスを示す。鉄、亜鉛、マンガン

の含量が低下し、とくに葉脈間に鉄が移行していないことが金属分布分析によって明らかとなった。また花がさまざまな形態異常を示し、花粉の形成が十分でないために不稔となる（図9）。これらの異常は外部からのニコチアナミンの投与、あるいはニコチアナミン合成酵素遺伝子を過剰発現する形質転換タバコに接ぎ木することにより回復した。ニコチアナミンが、金属栄養素の体内輸送に関与するだけでなく、その働きに金属を必要とする各種タンパク質への細胞内金属輸送にも関与すること、特に亜鉛を必要とする転写因子群の機能制御を通して遺伝子発現の制御に関わっている可能性を示したきわめて独創的な成果である。

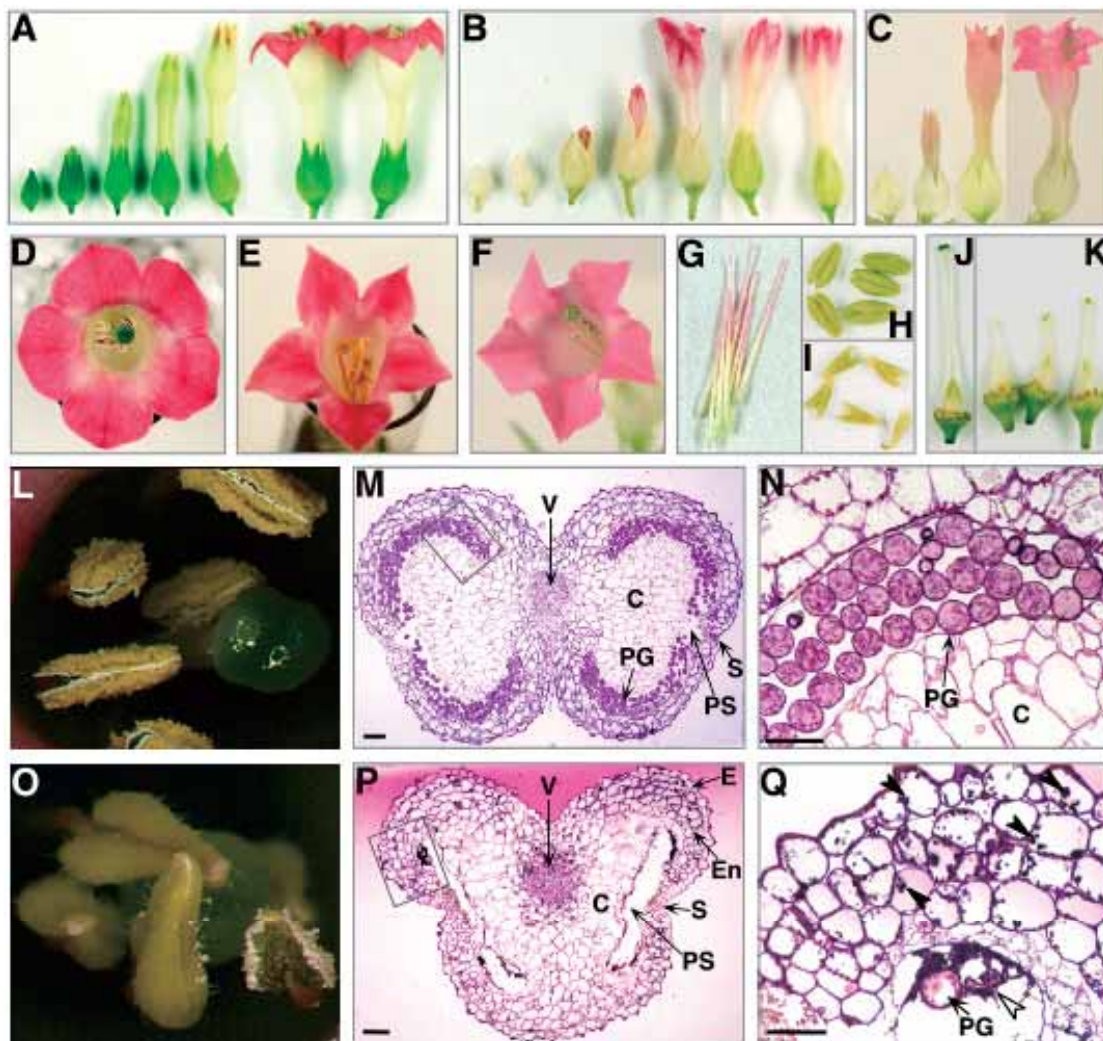


図9 内生ニコチアナミンが欠損した形質転換タバコは花がさまざまな形態異常を示し、花粉の形成が十分でないために不稔となる。これらの異常は外部からのニコチアナミンの投与あるいは接ぎ木によって回復する。(A, D, H, J, L-N) 非形質転換タバコ。(B, C, E-G, I, K, O-Q) 形質転換タバコ。

35Sプロモーターによりオオムギのニコチアナミン合成酵素を過剰発現させたシロイヌナズナとタバコを作成した。導入したニコチアナミン合成酵素遺伝子の発現量に応じて植物体内のニコチアナミン含量が増加し、最大の系統では約10倍となった。ニコチアナミン高生産植物では、種子中の鉄や亜鉛含量が増加していた。さらにこれらの形質転換植物は培地の重金属過剰に対して強い耐性を示し、特にニッケル過剰耐性が顕著で

あった（図10）。ニコチアナミン高生産形質転換タバコを、北海道雨竜郡のニッケル過剰土壌地帯から採取した土壌でポット栽培したところ、非形質転換タバコは典型的なニッケル過剰症を示して生育が抑制されたのに対し、ニコチアナミン高生産形質転換タバコは健全な生育を示し、順調に開花、結実した（図11）。この結果はニコチアナミン合成酵素遺伝子がファイトレメディエーションに応用可能であることを示している。

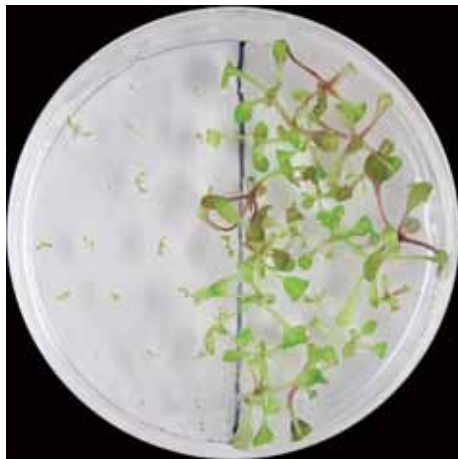


図10 ニッケル過剰培地におけるシロイヌナズナの生育。
右側の高ニコチアナミン形質転換体はニッケル過剰害に耐性を示しているが、左側の非形質転換体は生育していない。



図11 蛇紋岩由来のニッケル過剰土壌（2000 ppm）でポット栽培したタバコ。左側の非形質転換体は典型的なニッケル過剰症（葉の拡大図）を示し生育が抑制された。右側の高ニコチアナミン生産タバコは順調に生育し、開花、結実した。

一方、ニコチアナミンがアンジオテンシン変換酵素の阻害効果を持つことが明らかになったので、血圧降下作用を持つ機能性食品としての、ニコチアナミンを大量に含むニコチアナミン米の開発を目指した。高岩グループによって開発されたイネ種子特異的プロモーターの下流にオオムギニコチアナミン合成酵素遺伝子を連結して、後述のマーカーフリーベクターを用いてイネを形質転換した。イネ種子中のニコチアナミン含量が約5倍となったT3あるいはT4種子を得ている（図12）。

同様にダイズ種子特異的プロモーターを用いて、オオムギニコチアナミン合成酵素遺伝子をダイズに導入し、高ニコチアナミンダイズの作出を目指した。アグロバクテリウム法によるダイズの形質転換は困難を極めたが、3年間の試行錯誤の結果、再生体を得られるまでに形質転換技術を確立した。現在、得られた再生体を解析中である。

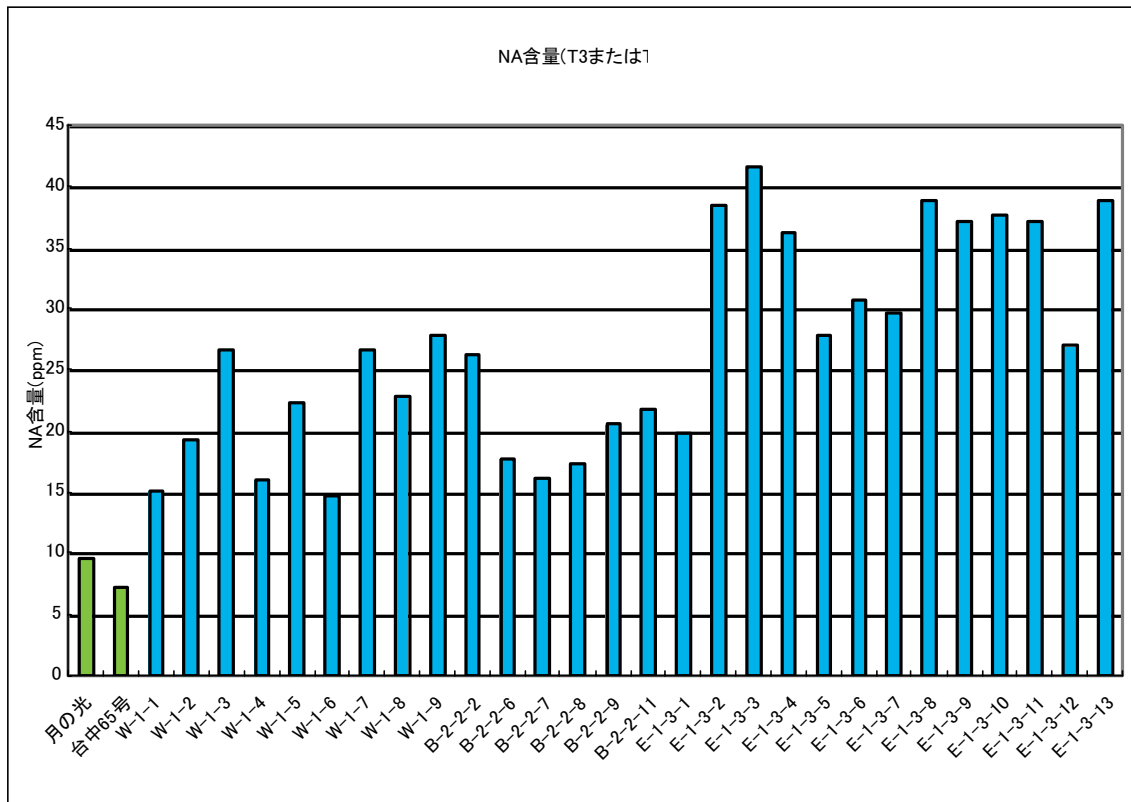


図1 2 月の光、台中65号と形質転換イネ T3, T4 種子中のニコチアナミン含量
野生型に比較して約5倍近いニコチアナミンを種子中に含む形質転換イネが得られた。

シロイヌナズナのニコチアナミン合成酵素遺伝子を酵母に導入することにより、800ug/g wet weight の高いニコチアナミンを生産する酵母株を得た。導入する酵母として、通常の100倍のS-アデノシルメチオニンを蓄積するSCY4株を用いた。ニコチアナミンは、3分子のS-アデノシルメチオニンからニコチアナミン合成酵素によって生成されるので、基質の濃度が高いことが高生産に有利に働くと推定したからである。ニコチアナミン高生産酵母の開発は食品としての用途に加えて、発酵法によるニコチアナミンの大量生産への道を切り拓くものである。

<鉄の吸収と移行の分子機構>

イネのゲノム上に18個の「鉄・ムギネ酸類」トランスポーター相同性遺伝子(*OsYSL*)を同定した。それらのうち、*OsYSL2*の根における発現は非常に弱く、鉄欠乏の葉において強い発現誘導を示すことから、*OsYSL2*は、根における土壌からの「鉄・ムギネ酸類」取り込みに関与するトランスポーターではなく、鉄の体内移行に関与するトランスポーターである可能性が示された。発現の組織局在を解析したところ(図13)、根、葉鞘、葉のいずれの器官においても維管束、特に篩部伴細胞に発現がみられ、*OsYSL2*が長距離輸送に関与するトランスポーターであることが裏付けられた。また、開花受精後ならびに登熟期の種子で強い発現がみられ、*OsYSL2*が種子中への鉄の蓄積に関与することが示された。

アフリカツメガエル卵母細胞を用いた基質解析の結果、*OsYSL2*は「鉄・ニコチナミン」と「マンガン・ニコチアナミン」を輸送し、「鉄・デオキシムギネ酸」を輸送しないことが明らかになった。すなわち、*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」トランスポーターである。

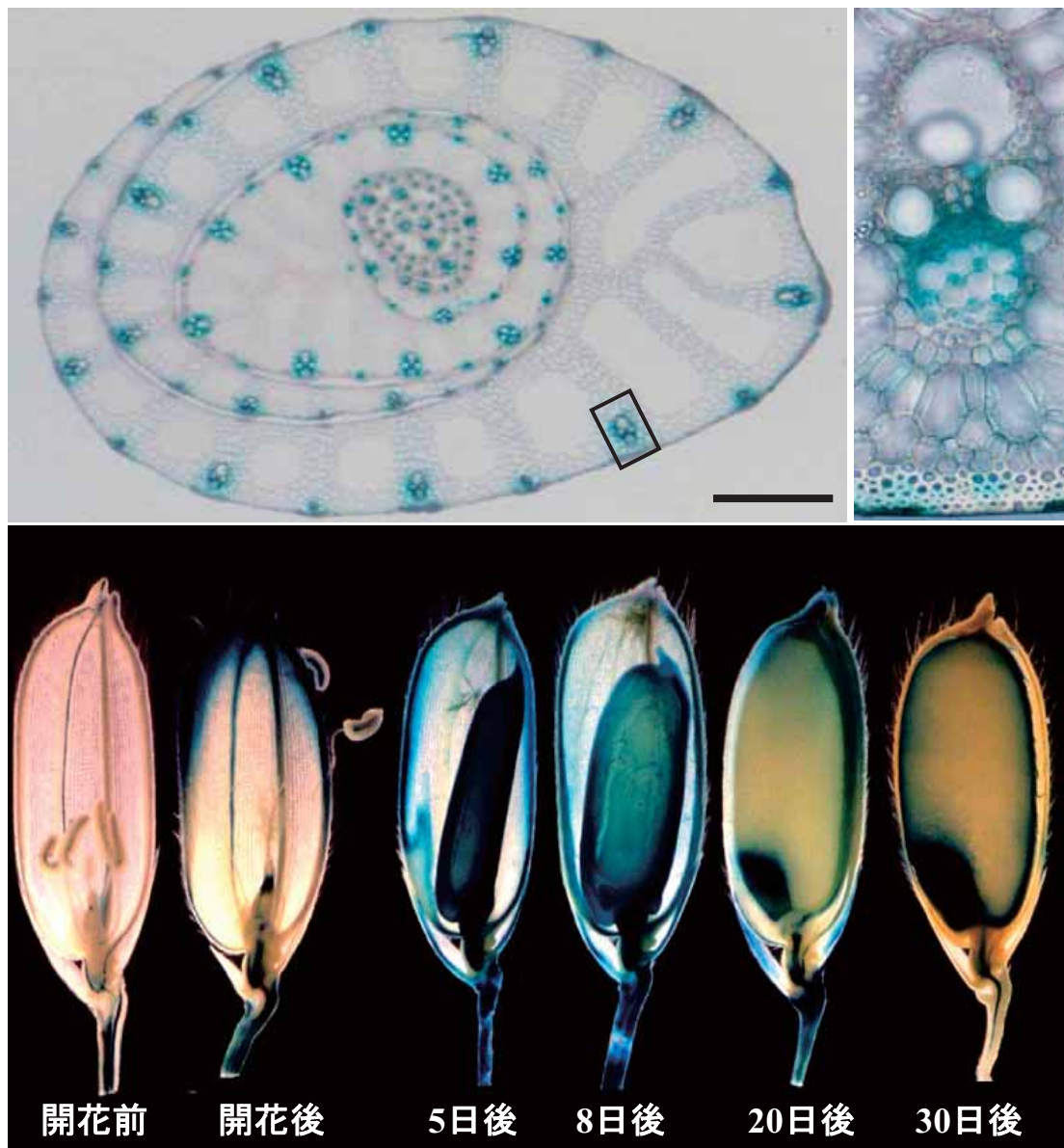


図1-3 プロモーター GUS アッセイによる *OsYSL2* の発現部位解析。
維管束の篩部柔組織と伴細胞に発現がみられる。また開花受精後、ならびに登熟期の
種子で強い発現がみられる。

前述のようにイネ科以外の植物では、ニコチアナミンが鉄、亜鉛、マンガンなどの金属栄養素の体内輸送において必須であることを明らかにした。イネにおいても「金属・ニコチアナミン」のトランスポーターが存在し、それが維管束、特に篩部伴細胞発現していることの発見は、土壌からの鉄の吸収機構が異なるイネ科植物とそれ以外の植物においても、ニコチアナミンを介する同一の機構によって鉄の体内長距離輸送が行われていることを示唆している。すなわち、ニコチアナミンはすべての高等植物において、金属イオンの体内輸送に必須の物質であることが明らかになった。*OsNAS* と *OsYSL2* の発現を制御することによって、イネ種子中への金属輸送を制御し、種子可食部のミネラル含量を増加させることが可能になる。

さらに *OsYSL15* は「鉄・ムギネ酸類」トランスポーターであり、土壌中からの鉄の吸収と種子への鉄集積に関わることを明らかにした。アフリカツメガエル卵母細胞と酵

母の鉄吸収欠損株を用いた輸送基質解析の結果、*OsYSL15* は「鉄・デオキシムギネ酸」を輸送するが、「鉄・ニコチナミン」は輸送しないことが明らかになり、*OsYSL15* はイネの「鉄・ムギネ酸類」トランスポーターであることが証明された。*OsYSL15* は鉄欠乏のイネの根で強く発現しており（図 1 4）、土壌からの「鉄・ムギネ酸類」吸収に関与すると考えられた。また、*OsYSL15* は開花前や開花受精後の登熟中の種子にも発現しており、種子中への鉄の輸送には「鉄・ニコチアナミン」だけでなく、「鉄・デオキシムギネ酸」も関与していることが示唆された。

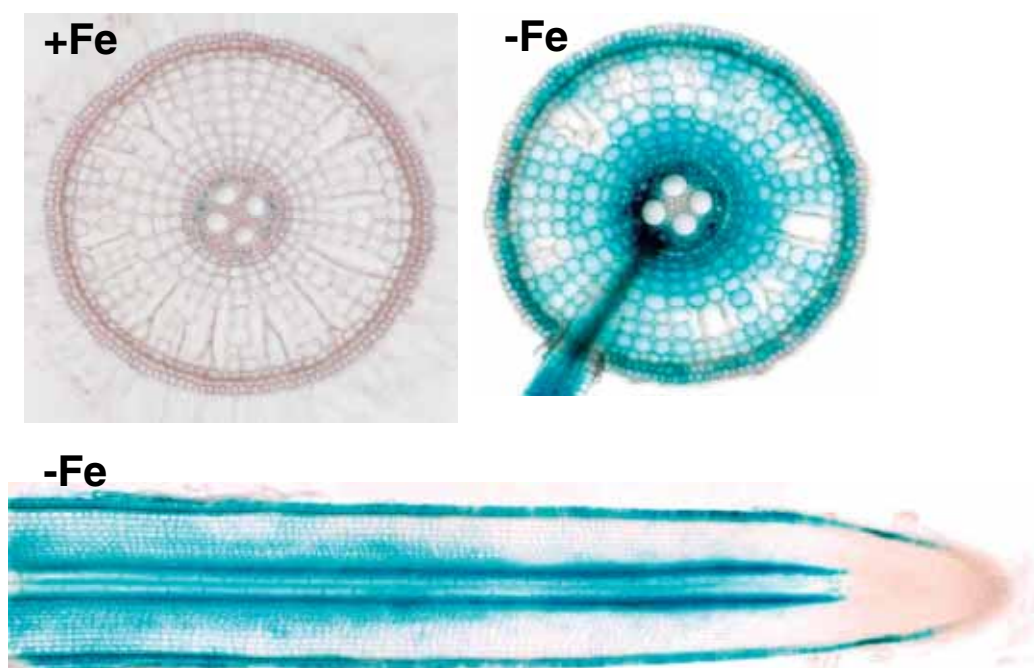


図 1 4 プロモーター GUS アッセイによる *OsYSL15* の発現部位解析。

「鉄・ムギネ酸類」トランスポーターである *OsYSL15* は鉄欠乏の根の細胞で発現し、土壌中から「鉄・ムギネ酸類」を吸収する。

鉄欠乏によって強く発現が誘導されるオオムギのトランスポーター遺伝子 (*ID17*) を単離した。*ID17* は TAPs ファミリーに類似のハーフタイプ ABC トランスポーターであり、液胞膜に局在した。輸送基質ならびに機能は未知であるが、鉄栄養制御に深く関与しているトランスポーターであると考えられる。

イネからシロイヌナズナの二価鉄トランスポーター (IRT) に高い相同性を示す *OsIRT1*、*OsIRT2* を単離し、酵母の相補実験により *OsIRT1* と *OsIRT2* は二価鉄イオンを吸収するトランスポーターであることを証明した。*OsIRT1* は細胞膜に存在し、根で発現していることから、鉄欠乏のイネの根において *OsIRT1* が二価鉄イオンの吸収に関与していることが示された。湛水状態の水田においては、アルカリ土壌の場合を除いて根圏に二価鉄イオンが豊富に存在する。その場合、イネはイネ科以外の植物と同様に二価鉄イオントランスポーターによっても鉄を吸収すると考えられる。すなわち、イネは「二価鉄イオン」と「鉄・ムギネ酸類」の 2 つの形態で鉄を吸収すると考えられた（図 1 5）。ポジトロン核種 ^{52}Fe を用いたトレーサー実験によりこれを証明した。通常湛水状態で生育するイネにとって、「二価鉄イオン」を吸収する能力を備えていることは大変有利であると考えられる。一方、*OsIRT1* と *OsIRT2* はカドミウムも吸収することが明らかになった。イネが鉄欠乏になって *OsIRT1*、*OsIRT2* の発現が上昇すると、カドミウム吸収も上昇する。従ってイネの鉄欠乏を回避すれば、カドミウム吸収の抑制が可能と考えられる。

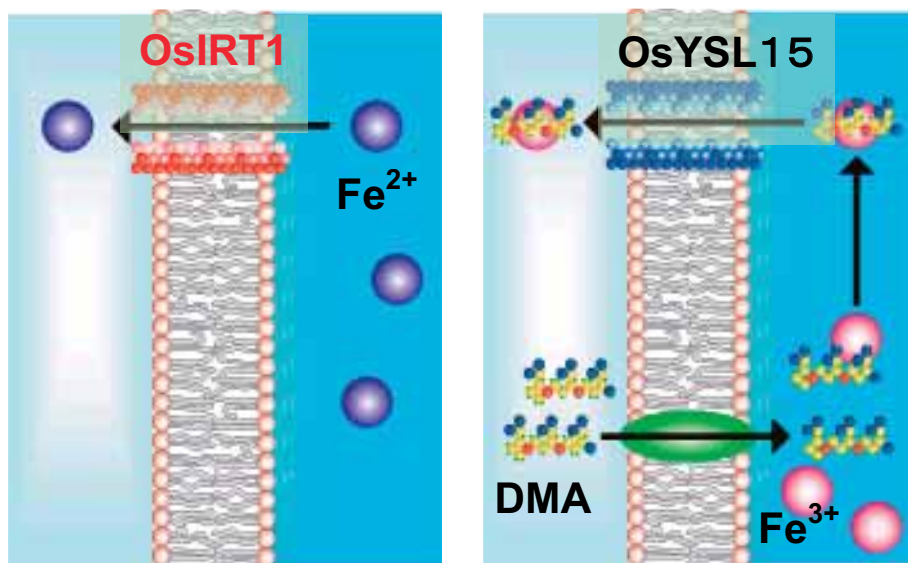


図 1 5 イネは鉄を「鉄・デオキシムギネ酸」と二価鉄イオンの形で吸収する。

<ムギネ酸類分泌機構>

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、ムギネ酸類合成に関与する遺伝子のうち、ニコチアナミン合成酵素遺伝子 (*OsNAS1*, *OsNAS2*) と、ニコチアナミンアミノ基転移酵素遺伝子 (*OsNAAT1*) と、デオキシムギネ酸合成酵素遺伝子 (*OsDMAS1*) の発現が日周変動を示すことを経時的なノーザン解析により明らかにした。また、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された。

オオムギにおいては、生合成されたムギネ酸類が根圏に分泌されるまでの間、ムギネ酸顆粒と名付けた細胞内小胞に貯えられると推定している。すなわち、ムギネ酸類合成に関与する酵素はこの小胞内に存在すると考えられる。イネのニコチアナミン合成酵素遺伝子 *OsNAS2* と *GFP* の融合遺伝子を *OsNAS2* のプロモーターによりイネで発現させたところ、鉄欠乏によって発現が誘導された *OsNAS2* の *GFP* 蛍光は、イネの根の細胞内に顆粒状に観察された (図 1 6)。また鉄欠乏イネの根を高圧凍結法により固定し、電子顕微鏡を用いて観察したところ、数は少ないがオオムギと同様にムギネ酸顆粒が存在することが明らかになった (図 1 7)。これによりイネにおいてもムギネ酸類生合成は、ムギネ酸顆粒と名付けた細胞内小胞において行われることが示唆された。

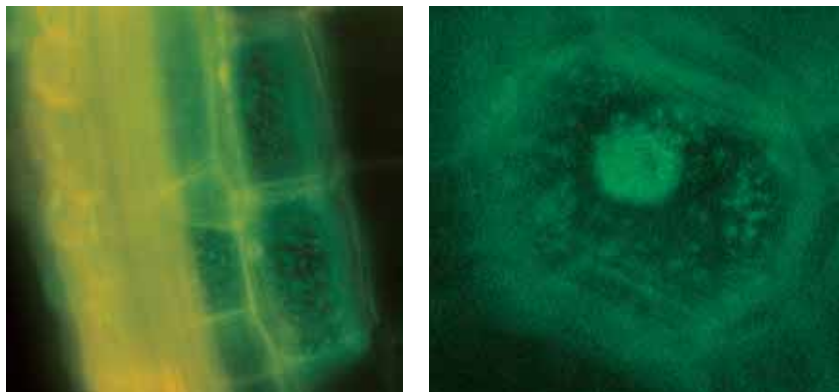


図 1 6 *OsNAS2*-GFP の蛍光は鉄欠乏イネ根の細胞内に顆粒状に観察される。

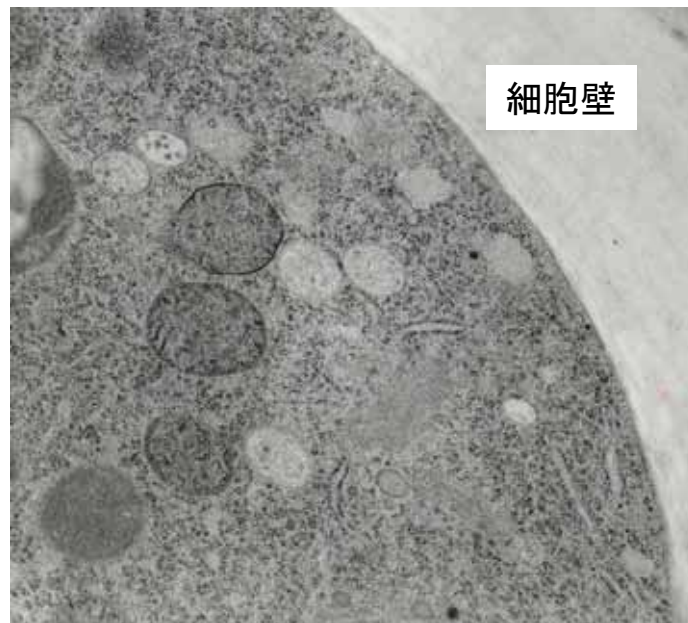


図 1 7 鉄欠乏イネの根の表皮細胞におけるムギネ酸顆粒。

また、ムギネ酸類分泌トランスポーターをコードすると推定される候補遺伝子を得ており、その機能を確認するために 35S プロモーターによる過剰発現イネと、RNAi 法による発現抑制イネを作出し現在解析中である。

＜発芽時の鉄栄養関連遺伝子の発現＞

種子発芽の過程は、大量のエネルギーを消費しダイナミックに代謝が変換する。鉄の要求度が高まる種子発芽の段階では、鉄栄養関連遺伝子の発現が上昇するのではないかと想定し、マイクロアレイ解析を行った。その結果、発芽時にはムギネ酸類合成に関わる酵素遺伝子や、鉄の吸収に関わるトランスポーター遺伝子の発現が上昇することが明らかになった。これらの遺伝子の発現部位を詳細に検討するために、プロモーター GUS アッセイにより、3 種のニコチアナミン合成酵素 (*OsNAS1-3*)、ニコチアナミンアミノ基転移酵素、デオキシムギネ酸合成酵素遺伝子の発現部位を解析した。また金属・ニコチアナミントランスポーター (*OsYSL2*)、鉄・ムギネ酸類トランスポーター (*OsYSL15*)、二価鉄イオントランスポーター (*OsIRT1*) の各遺伝子の発現も解析した (図 1 8)。その結果、イネ種子発芽時の鉄の移行にもニコチアナミンやムギネ酸類が関与していることが示された。

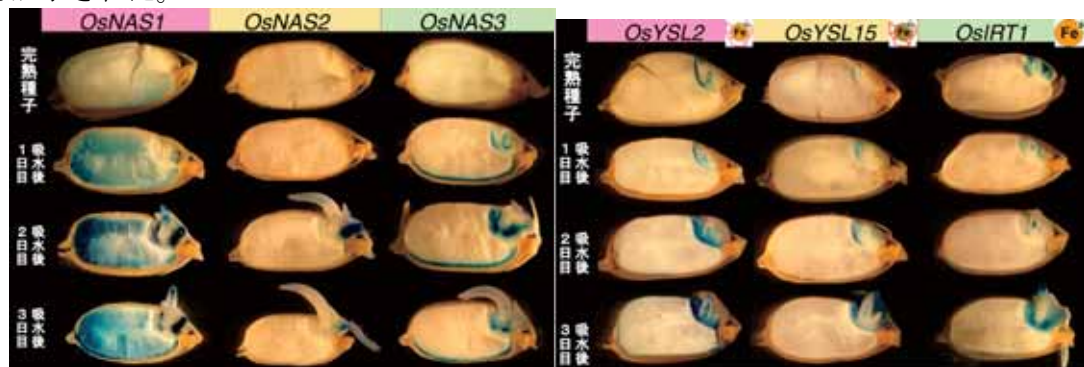


図 1 8 イネ種子発芽時における鉄栄養関連遺伝子の発現とその発現部位。

＜新規鉄欠乏耐性イネの作出＞

ニコチアナミンアミノ基転移酵素遺伝子を2つ含むオオムギのゲノム断片を導入した鉄欠乏耐性イネに加えて、新たにムギネ酸類生合成経路上、あるいは基質のメチオニンを供給するメチオニンサイクルの酵素遺伝子を組み合わせて、各種の形質転換イネを作成した。隔離温室内のポット試験でアルカリ土壤に耐性を示した形質転換イネのうちから5種類のイネを選び、下記の合計6種類のイネを隔離圃場試験の候補とした。

1. ゲノムニコチアナミンアミノ基転移酵素遺伝子
2. ゲノムニコチアナミン合成酵素遺伝子
3. ゲノムムギネ酸合成酵素（IDS3）遺伝子
4. ゲノムニコチアナミン合成酵素遺伝子とゲノムニコチアナミンアミノ基転移酵素遺伝子
5. IDS3 プロモーターによるアデニンリボース・リン酸転移酵素遺伝子
6. IDS3 プロモーターによる、ニコチアナミン合成酵素遺伝子、ニコチアナミンアミノ基転移酵素遺伝子、アデニンリボース・リン酸転移酵素遺伝子

これら6種類の形質転換イネについて、野外隔離圃場試験の認可を得るために要求された実験を行い、生物多様性影響評価書を作成して、農林水産省に試験を申請した。

上記のムギネ酸類の合成分泌能を強化した形質転換イネに加えて、さらに本課題の展開に伴って得られた知見に基づいて、新たな鉄欠乏耐性イネも作出した。前述のように、イネはイネ科以外の植物と同様に、二価鉄イオントランスポーターによって「二価鉄イオン」の形で鉄を吸収することができることを明らかにした。しかし、イネの場合は鉄欠乏によって二価鉄イオントランスポーターの活性は上昇するが、根の表面の三価鉄還元酵素活性は非常に低く、さらには鉄欠乏によってその活性が上昇せず、逆に減少することを見いだした。そこで、進化工学的に完全合成した、高 pH でも酵素活性の高い改変型三価鉄還元酵素遺伝子（*refre1-372*）を、二価鉄イオントランスポーターのプロモーターに連結してイネに導入することにより、石灰質アルカリ土壤における鉄欠乏に耐性のイネを新規に開発することに成功した（図19）。



図19 改変型三価鉄還元酵素遺伝子を導入した形質転換イネ（右）は石灰質アルカリ土壤における鉄欠乏に耐性を示す。非形質転換イネを通常の土壤（左）、また石灰質アルカリ土壤（中）で栽培した。

＜超高鉄含有米の作出＞

ダイズフェリチン遺伝子（*SoyferH2*）と共に、ムギネ酸類の生合成に関わるオオムギ

の遺伝子をイネに導入することにより、イネの鉄吸収・転流能力を向上させて、鉄含有量の高い超高鉄含有米を創製することを試みた（図20）。*SoyferH2*は、グルテリンとグロブリンの二種のイネ胚乳特異的発現プロモーターを用いて発現させた。さらに、ニコチアナミン合成酵素、ニコチアナミンアミノ基転移酵素、ムギネ酸合成酵素の各ゲノム遺伝子も同時に加えた。形質転換には将来の実用化を念頭におき、選抜マーカーを外すことが可能な大容量マーカーフリーベクターを用いた。101ラインの形質転換体を得て、その中から約50ラインについて鉄含有量の高いラインを選抜中である。

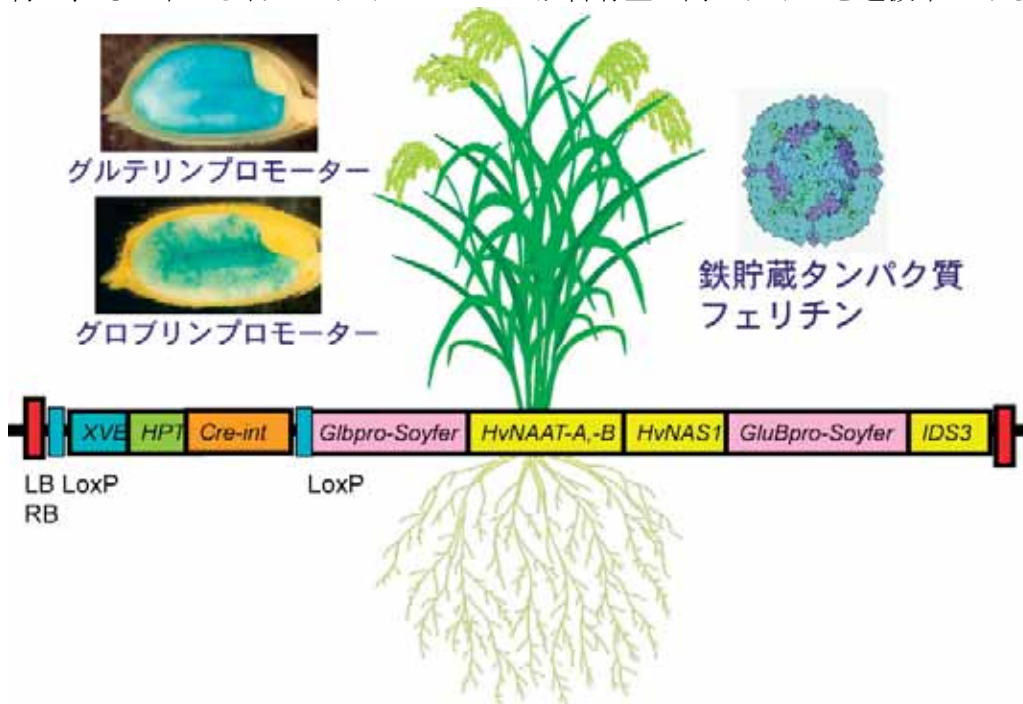


図20 超高鉄含有米作出のためのコンストラクト。マーカーフリーベクターを使用。

<イネ形質転換用大容量マーカーフリーベクターの開発>

通常植物の形質転換には遺伝子が導入されたことのマーカーとして、抗生物質耐性遺伝子などを使用する。しかし、形質転換植物に抗生物質耐性遺伝子が組み込まれていることに消費者は強い不安を覚え、それが形質転換植物への嫌悪に繋がっている。そこで、完成した形質転換植物から、抗生物質耐性遺伝子などのマーカー遺伝子を取り除くことのできる植物形質転換用ベクターの開発を試みた。ロックフェラー大学グループが開発したDNAリコンビネーションシステムを、数十キロ塩基対を安定して植物に導入することが可能なイネ用ベクターに応用することにより、「新規大容量イネ用マーカーフリーベクター」の開発に成功した。現在実用化を目指す新たな形質転換イネ、ダイズはすべてこのマーカーフリーベクターを用いて形質転換している。

<LC/ESI-TOF-MS による新規のニコチアナミン高感度測定法の開発>

ニコチアナミン量を測定するためには、植物体から抽出した後、HPLCによる測定が用いられている。現在、我々がHPLCによるニコチアナミンの定量に用いているのは、オルソフタルアルデヒド法であり、これは第1級アミンとして検出する場合、ニンヒドリン法に比べて1桁から2桁感度がよい。しかし、植物体中のニコチアナミン量は非常に低く、HPLC法によってニコチアナミン量を測定するためには大量の試料が必要となり、形質転換植物の種子中のニコチアナミンや、ある特定部位のみのニコチアナミン量を測定する際には、量の確保が大きな制約となっていた。そのため微量試料中のニコチ

アナミンを高感度に検出できる定量法の確立が渴望されていた。そこで液体クロマトグラフ/エレクトロスプレーイオン化・飛行時間型質量分析装置 (LC/ESI-TOF-MS) を用いたニコチアナミンの高感度定量分析系の構築を目指した。内部標準を採用することにより、精度の高い定量分析系を確立することに成功した (図 2 1)。さらにこの手法を用いてデオキシミグネ酸の高感度測定にも成功している。微量試料中の、ニコチアナミンとデオキシミグネ酸を高感度で定量することが可能になったことは、今後の研究の展開に大いに威力を発揮すると期待される。

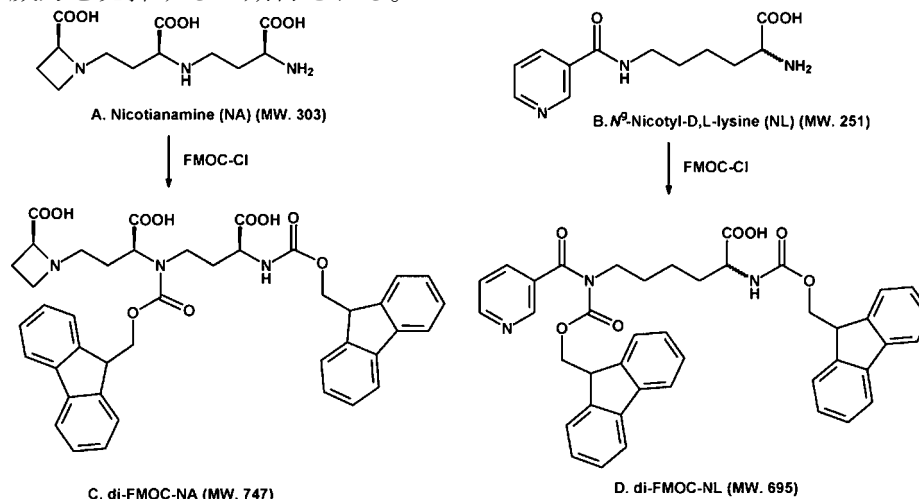


図 2 1 *N*²-nicotyl-D,L-lysineを内部標準に用いてニコチアナミンを定量した。

以上の関連基盤技術に加えて、日本原子力研究開発機構と浜松ホトニクスとの共同研究により、元素の移行を非破壊的にリアルタイムで計測できるPETIS (Positron Emitting Tracer Imaging System) の手法を確立した。これにより各種形質転換植物を始めとする、生体内の⁵²Fe、⁶²Zn、⁵²Mn、[¹¹C]メチオニン、¹³NH₄やH₂¹⁵Oの吸収と移行の動態を世界で初めて明らかにすることに成功した。

3. 2 鉄欠乏耐性形質転換イネの隔離圃場における生育検定 (東北大学三枝グループと東京大学西澤グループの共同研究)

(1) 研究実施内容及び成果

隔離温室におけるポット試験の結果、石灰質アルカリ土壌における鉄欠乏に耐性を示した6種類の形質転換イネについて、生物多様性影響評価書作成のための実験を実施した後、第1種使用規程承認申請書と生物多様性影響評価書を農林水産省に提出し、審議を受けた。承認後「アルカリ土壌耐性遺伝子組換え水稻隔離圃場試験実施 (第1種使用)」に関する公開説明会を東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センターにおいて開催し、その後農林水産省の認可を得て隔離圃場における検定を開始した。

申請が受領され、承認されるまでに時間を要したため、プロジェクト終了までに2年間の圃場検定のみが可能であった。隔離圃場内に、100トンの石灰質アルカリ土壌を石川県から搬入して、水田 (10m×10m×50cm) を造成してイネを栽培した。同時に黒ボク土壌水田でも同様に形質転換イネを栽培して比較した。

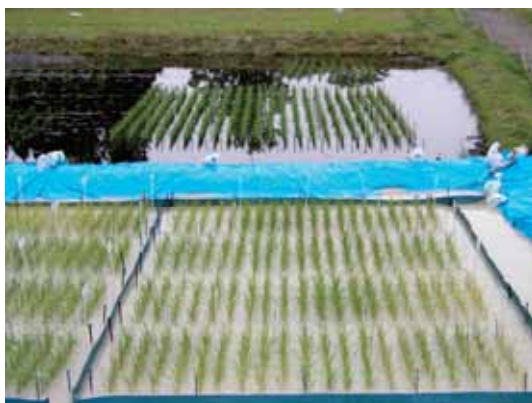
2005年は、6種類の形質転換イネについて圃場試験をした。石灰質アルカリ土壌水田においては、非形質転換イネは鉄欠乏クロロシスを呈して枯死するものもあり、生

育に顕著な差が見られた。黒ボク土壌水田では、いずれのイネもその生育に大きな差は見られなかった。2006年は3種類の形質転換イネを対象を絞り、実験設計にも改良を加えた。また初年度黒ボク土壌で栽培した形質転換イネの中に、種子の鉄含量が有意に高い系統が存在した。ムギネ酸類合成能を強化するだけでも種子の鉄含有量が増加する可能性を示唆していたので、その差を本格的に検定できる圃場実験設計も組み込んだ。5月18日に苗を移植し、10月23日に収穫した。その間定期的に生育検定と土壌の酸化還元電位測定をを実施した。石灰質アルカリ土壌水田においては非形質転換イネと形質転換イネに顕著な生育の差がみられた（図22～27）。



図22 2006年5月18日に苗を移植。波板で囲って、隣接する黒ボク土壌からの土壌混入を防いだ。窒素、リン酸、カリを含む被覆肥料を施肥してから、苗床の土壌を持ち込まないように根を丁寧に洗った苗を移植した。研究室の全員が参加して作業を行った。

2006年
6月12日



2006年
6月17日

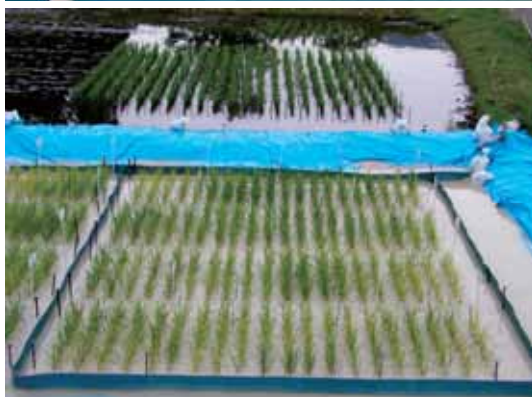


図23 途中経過。

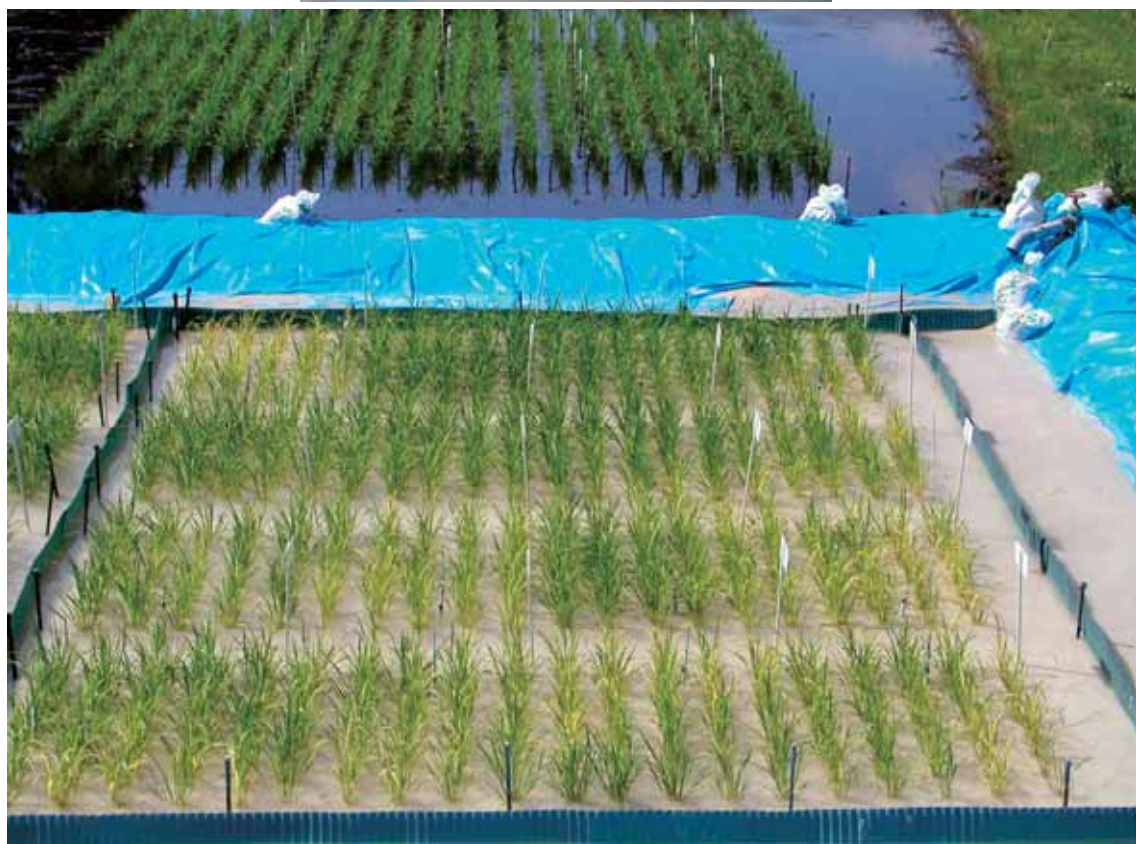


図24 2006年6月24日。手前のアルカリ土壌水田では非形質転換イネはクロロシスとなるが、形質転換イネは耐性であった。奥の黒ボク土壌水田では、双方の生育に顕著な差は見られない。

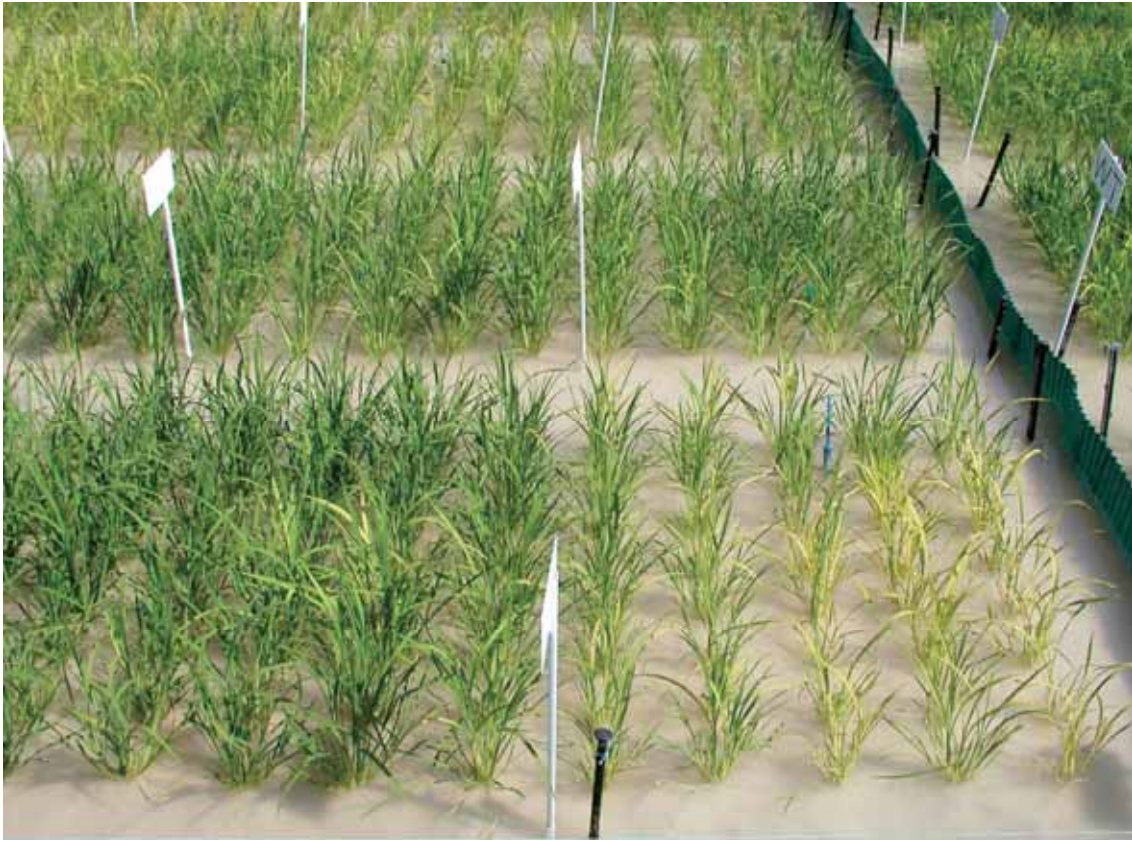


図25 2006年6月24日（図24の一部）。形質転換イネと非形質転換イネの生育の比較。左側のゲノムIDS3導入イネは、アルカリ土壤に耐性であるが、右側の非形質転換体は鉄欠乏クロロシスにより黄白化した。形質転換イネとの境界部分の生育がやや良いのは、となりの形質転換イネから分泌されたムギネ酸類の効果を示唆している。



図26 2006年10月23日、雨中の収穫作業。防鳥ネットをはずし収穫開始。前日にひと株ごとに縛ってラベルを付けておいた。アルカリ土壤水田の全景。



図 2 7 収穫作業。ひと株ごとに刈り取り、区画ごとに纏め、はさかけして乾燥させた。

(2) 研究成果の今後期待される効果 (3. 1 の項と併せて記載)

1. 鉄欠乏で発現が誘導される遺伝子群の中から「鉄欠乏応答性シスエレメント」を同定し、これと相互作用する「トランス因子」候補を得た。これらの世界に先駆けた発見は、今後の新たな「鉄欠乏耐性植物」の作出や、可食部の「鉄含量を高めた作物」の作出に向けて新規な遺伝子ツールを提供するものである。

2. 2 年間にわたる東北大学の野外隔離圃場での検定の結果、ムギネ酸類合成能を強化した形質転換イネが、石灰質アルカリ土壌における鉄欠乏に耐性であることが、改めて圃場レベルで証明された。新しく同定したデオキシムギネ酸合成酵素遺伝子(*DMASI*)を導入するなど、さらなる改良を試みている。

3. 進化工学的に改変した酵母由来の三価鉄還元酵素遺伝子を導入した形質転換イネは、隔離温室のポット試験で、明確な石灰質アルカリ土壌における鉄欠乏耐性を示した。この新規形質転換品種も、実際の圃場レベルでの石灰質アルカリ土壌での鉄欠乏耐性が大いに期待される。

4. また、エタノールなどバイオ燃料の資源、あるいは植物性プラスチックの素材として注目されている、トウモロコシやサトウキビは、イネと同じくイネ科植物である。これらの作物はムギネ酸類分泌量が少なく鉄欠乏に弱い。従って、鉄欠乏耐性イネ作出と同様の戦略を用いて、トウモロコシやサトウキビのムギネ酸類合成能を強化することが可能である。特に、アメリカのコーンベルト地帯でのトウモロコシ、沖縄の珊瑚礁起源の石灰質土壌でのサトウキビ栽培等、世界の不良土壌におけるバイオマスエネルギー資源作物の生産力を増強できる可能性が出てきた。その意味において本研究の成果は地球温暖化防止にも貢献することができる。

5. ニコチアナミン合成酵素を過剰発現させることにより、大量のニコチアナミンを生産する植物が重金属(Ni、Cd、Zn、Mn)過剰に耐性であることを明らかにした。最近、鉾山跡地などに生育する重金属超集積植物では、ニコチアナミン合成酵素遺伝子の発現が高く、ニコチアナミン含有量も高いことが、ドイツのグループにより報告された。植物を使った重金属汚染土壌の浄化(ファイトレメディエーション)において、ニコチアナミン合成酵素遺伝子を強化した植物を作出することが今後重要な戦略になりうる。

6. ニコチアナミンアミノ基転移酵素を過剰発現させることにより内生ニコチアナミンが消費され欠損となった形質転換タバコを用いて、ニコチアナミンが鉄、亜鉛、マンガンなどの金属栄養素の体内輸送において必須であることを明らかにした。さらに、これを発展させて、ニコチアナミンが生殖器官の形成と成熟、胚発生、種子の成熟に必須の物質であることを明らかにした。これらの成果は、ニコチアナミンがその働きに金属を必要とする各種タンパク質への細胞内金属輸送にも関与すること、特に亜鉛を必要とする転写因子群の機能制御を通して遺伝子発現の制御に関わっている可能性を示しており、今後の展開が期待できる。

7. 現在コーデックス委員会が決めたイネの種子中のカドミウム含量の上限は0.4 ppmである。これを守るために、農林水産省では様々な栽培学的な技法が検討されている。しかし、もっとも望ましいのは本来的にカドミウムを種子に移行させない品種を開発することである。我々は、イネのカドミウム吸収に、イネの二価鉄イオントランスポーター、*OsIRT1*、*OsIRT2* が関与していることを明らかにした。イネが鉄欠乏になって *OsIRT1*、*OsIRT2* の発現が上昇すると、カドミウム吸収も上昇する。従って、鉄だけを吸収してカドミウムを吸収しないように、進化工学的に *OsIRT1*、*OsIRT2* を遺伝子改変してイネに導入することも可能であろう。このイネは、カドミウムを吸収しないので、種子中のカドミウム含量が低く抑えられ、低カドミウム米育種の母本となりうる。

逆に、*OsIRT1*、*OsIRT2* を常時過剰発現させることにより、カドミウムを大量に吸収するファイトレメディエーション用イネを作出できるかもしれない。現在、農林水産省では既に在来品種「密陽」などを用いて、栽培イネ自身によるカドミウム汚染水田のカドミウム浄化法が検討されている。これら在来種に勝るようなカドミウムを種子に濃縮するイネの分子育種が可能かもしれない。

8. イネの鉄欠乏を回避する技術(すなわち水田に常時安定した二価鉄イオンが存在する技術)を確立すれば、カドミウムの根からの吸収抑制が可能と考えられる。このためには新しい鉄系資材の開発が必要である。なぜなら従来の鉄系資材は空気に触れる(水田を乾田化する)と直ちに沈殿して、不溶化してしまうので、イネに内在的な鉄欠乏を誘発し、その結果 *OsIRT1*、*OsIRT2* が誘導されてカドミウム吸収を促進するのである。現在、企業との共同研究により有効な可溶性二価鉄系資材を開発している。

9. 生命活動に必須な元素としてヒトが食物から摂取する鉄は、動物性食品にせよ、植物性食品にせよ、海産物を除けば究極的には植物が土壌中から取り込んだ鉄に由来する。土壌中からの鉄の吸収と移行は、農業生産を支える植物の生育にとって必須であるばかりではなく、これを食糧とするヒトの健康にとっても食品としての栄養価を左右する重要な事項である。本研究では鉄の体内移行や種子への蓄積に果たすニコチアナミンやムギネ酸類の機能を明らかにし、また鉄の吸収と体内移行に関与する各種のトランスポーターを同定した。これらのトランスポーター遺伝子やニコチアナミン合成酵素遺伝子を始めとするムギネ酸類合成系の遺伝子発現を制御することにより、種子中の鉄などのミネラル含量を制御することが可能になった。

鉄の含有量の高い米は、スイス、アメリカなどの各国で開発が目指されており、既に高フェリチン米が開発されている。しかし、さらに鉄含有量の高いコメを作るためには、鉄の「容器」であるフェリチンだけではなく、鉄の根からの吸収と種子への移行量そのものを強化する必要がある。この考えに基づき種子中のフェリチン発現に加え、ムギネ酸類合成能を強化したイネを作成し、現在育成中である。このイネの種子は鉄含量が飛躍的に増加していることが期待される。このイネを世界人口の約37億人、特にコメを主食とするアジアの女性や子供（10億人）に多い鉄欠乏性貧血症を解消するために役立てたい。

10. ニコチアナミンのアンジオテンシン変換酵素の阻害効果が明らかになり、高血圧を抑制するための機能性食品として、高ニコチアナミン米、高ニコチアナミンダイズ、高ニコチアナミン産生酵母を開発した。これらが、近い将来、高機能性食品として実用化されることを期待している。

11. 完成した形質転換植物から、抗生物質耐性遺伝子などのマーカー遺伝子を取り除くことのできる「新規大容量イネ用マーカーフリーベクター」の開発に成功した。これはパブリックアクセプタンスを得ながら形質転換植物を実用化すべきであるという、現在の開発研究の流れにとって、大きなインパクトを持つ成果であると考えている。現在当研究室では実用化を目指す形質転換イネ、ダイズはすべてこのマーカーフリーベクターを用いて形質転換している。

12. LC/ESI-TOF-MS によるニコチアナミン高感度測定法を開発した。この手法を用いて、生体内の微少部位に局在するニコチアナミンやデオキシムギネ酸の定量が可能となったことにより、これらの化合物の生体内での動態や機能の解明が飛躍的に進展するであろう。

将来、我々が発見した遺伝子群（シス・トランス因子、ムギネ酸類合成系路上の遺伝子群、ムギネ酸類・鉄トランスポーター群、二価鉄イオントランスポーター群など）を用いて開発された種々の鉄欠乏耐性イネ、高鉄含有米、血圧降下米が実用化されることにより、世界各地の石灰質アルカリ土地地帯でのコメ生産量が増加し、重金属汚染土壌を浄化し、鉄栄養によるヒトの健康増進に寄与できる時代が来ることを期待している。

4 研究参加者

① 西澤 直子 グループ

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
西澤 直子	東京大学大学院農学生命科学研究科	教 授	研究全般	H13.12 ～ H19.3
森 敏	〃	名誉教授	鉄の吸収と体内移行	H13.12 ～ H19.3
吉村 悦郎	〃	教授	鉄錯体の化学	H13.12 ～ H19.3
中園 幹生	〃	助教授	維管束の物質解析	H15.4 ～ H19.3
中西 啓仁	〃	助手	トランス因子の単離	H13.12 ～ H19.3
高橋 美智子	〃	〃	形質転換イネの作成	H13.12 ～ H19.3
中西 玲子	〃	大学院生 CREST 研究員	トランス因子の単離	H13.12 ～ H14.10 H14.11 ～ H19.3
小林 高範	〃	大学院生 研究補助員 CREST 研究員	シスエレメント解析	H13.12 ～ H14.1 H14.2 ～ H14.10 H14.11 ～ H19.3
長坂 征治	〃	大学院生 研究補助員 CREST 研究員	ムギネ酸分泌分子機構	H13.12 ～ H14.1 H14.2 ～ H15.3 H15.4 ～ H19.3
林 あや	〃	研究補助員	チーム事務	H15.9 ～ H19.3

② 樋口 恭子 グループ

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
樋口 恭子	東京農業大学生物応用科学科	講 師	超高鉄含有米	H13.12 ～ H19.3
吉羽 雅昭	〃	教 授	超高鉄含有米	H13.12 ～ H19.3

③ 吉原 利一 グループ

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
吉原 利一	電力中央研究所生物科学部	主任研究員	超高鉄含有米	H13.12 ～ H16.3

④ 三枝 正彦 グループ

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
三枝 正彦	東北大学大学院農学研究科	教授	形質転換植物の圃場試験	H13.12 ～ H19.3
森川クラウド オ健治	〃	研究補助員 CREST 研究員	形質転換植物の圃場試験	H14.7 ～ H15.3 H15.4 ～ H19.3

⑤ 高岩 文雄 グループ

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
高岩 文雄	農業生物資源研究所 新生物資源創出 研究 グループ	遺伝子操作室長	イネ種子特異的プロモーター	H14.4 ～ H16.3

⑥ Num-Hai Chua グループ

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
Num-Hai Chua	ロックフェラー大学 植物分子生物学研究室	教授	マーカーフリーベクター	H13.12 ～ H15.3

5 招聘した研究者等

氏 名 (所属、役職)	招聘の目的	用務先	滞在期間
Nicolaus von Wiren(Institute of plant Nutrition, Hohenheim University,教授)	鉄栄養に関する研究打ち合せ	東京大学	H15.2.26～H15.3.2
Larry BartonThe(University of New Mexico,教授)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.10～4.17
Jean Francois Briat (CNRS/INRA,教授)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.10～4.17
Silvia R.Cianzio (Iowa State University,研究員)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.9～4.18
Yona Chen(Hebrew University of Jerusalem,教授)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.10～4.16
Wolf B. Frommer (Carnegie Institution of Washington, 教授)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.9～4.17
Michael A. Grusak(USDA/ARS Children's Nutrition Research Center,教授)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.10～4.16
Mary Lou Guerinot (Dartmouth College,教授)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.9～4.18
Robert C. Hider (King's College,教授)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.10～4.16
Von D. Jolley (Brigham Young University,教授)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.9～4.17
Roberto Pinton(University of Udine,教授)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.8～4.18
Roemheld Volker (University of Hohenheim,教授)	X II ISINIP に出席・発表	〃	H16.4.9～4.20

Nicolaus Von Wiren (University of Hohenheim, 教授)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Elsbeth L. Walker (University of Massachusetts, 教授)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Ferenc Fodor(Eovos University,助手)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Rustu Karaman (Gaziosmanpasa University,助手)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Irene Murgia (Universita di Milano,助手)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Sun A Kim(Dartmouth College,助手)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Varsanot Tal (Weizmann Institute of Science, 助手)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Gabriel Schaaf(University of Hohenheim,助手)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Marta Vasconcelos (USDA/ARS Children's Nutrition Research Center,助手)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Viviane Lanquar(Institut des Sciences du Vegetal CNRS Gif sur Yvette,助手)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Gordon Johnson(University of New Mexico,助手)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16
Graziano Zocchi(Universita di Milano,助手)	X II ISINIP に出席・発表	"	H16.4.10～4.16

6 成果発表等

(1) 論文(原著論文)発表(国内誌 0 件、国際誌 81 件)

(1) Yoshihara T, Goto F, Masuda T

Utilization of the apoplasmic space in tobacco for accumulation of cadmium.
CRIEPI report (2001)

(2) Watanabe S, Ishioka NS, Osa A, Koizumi M, Sekine T, Kiyomiya S, Nakanishi H, Mori S

Production of positron emitters of metallic elements to study plant uptake and distribution.
Radiochimica Acta 89: 853-858 (2001)

(3) 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)

- (4) Morikawa CK, Saigusa M
Effect of three types of fertilizers on acidification of Andisol and growth of Komatsuna (*Brassica campestris*).
Tohoku Journal (2001)
- (5) Suzuki K, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S
Analysis of upstream region of nicotianamine synthase gene from *Arabidopsis thaliana*: Presence of putative ERE-like sequence.
Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 65: 2794-2797 (2001)
- (6) Kobayashi T, Nakanishi H, Takahashi M, Kawasaki S, Nishizawa NK, 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 (2001)
- (7) Kiyomiya S, Nakanishi H, Tsuji A, Uchida H, Nishiyama S, Tsukada H, Ishioka NS, Watanabe S, Osa A, Mizuniwa C, Matsubashi S, Hashimoto S, Sekine T, Mori S
Light activates $H_2^{15}O$ flow in rice - Detailed monitoring using a positron-emitting tracer imaging system (PETIS) .
Physiologia Plantarum 113: 359-367 (2001)
- (8) Kiyomiya S, Nakanishi H, Uchida H, Tsuji A, Nishiyama S, Futatsubashi M, Tsukada H, Ishioka NS, Watanabe S, Osa A, Matsubashi 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 (2001)
- (9) 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.
The Plant Journal 25: 159-167 (2001)
- (10) Higuchi K, Tani M, Nakanishi H, Yoshihara T, Goto F, Nishizawa NK, Mori S
The expression of a barley HvNAS1 nicotianamine synthase gene promoter-gus fusion gene in transgenic tobacco is induced by Fe-deficiency in roots.
Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 65: 1692-1696 (2001)
- (11) Higuchi K, Takahashi M, Nakanishi H, Kawasaki S, Nishizawa NK, Mori S
Analysis of transgenic rice containing barley nicotianamine synthase gene.
Soil Science and Plant Nutrition 47: 315-322 (2001)
- (12) Bughio N, Nakanishi H, Kiyomiya S, Matsubashi 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 213: 708-715 (2001)
- (13) Hayashi Y, Yamada K, Shimada T, Matsushima R, Nishizawa NK, Nishimura M, Hara-Nishimura I
A proteinase-storing body that prepares for cell death or stresses in the epidermal cells of *Arabidopsis*.
Plant & Cell Physiology 42: 894-899 (2001)

- (14) Hisada A, Yoshida T, Kubota S, Nishizawa NK, Furuya M
Technical advance: An automated device for cryofixation of specimens of electron microscopy using liquid helium.
Plant & Cell Physiology 42:885-893 (2001)
- (15) Yamaguchi H, Nishizawa NK, Nakanishi H, Mori S
IDI7, a new iron-regulated ABC transporter from barley roots, localizes to the tonoplast.
Journal of Experimental Botany 53: 727-735 (2002)
- (16) Nagasaka S, Nishizawa NK, Negishi T, Satake K, Mori S, Yoshimura E
Novel iron-storage particles may play a role in aluminum tolerance of *Cyanidium caldarium*.
Planta 215: 399-404 (2002)
- (17) Negishi T, Nakanishi H, Yazaki J, Kishimoto N, Fujii F, Shimbo K, Yamamoto K, Sakata K, Sasaki T, Kikuchi S, Mori S, Nishizawa NK
cDNA microarray analysis of gene expression during Fe-deficiency stress in barley suggests that polar transport of vesicles is implicated in phytosiderophore secretion in Fe-deficient barley roots.
The Plant Journal 30: 83-94 (2002)
- (18) Nakanishi H, Kiyomiya S, Tsukamoto T, Tsukada H, Uchida H, Mori S
Water (H_2^{15}O) flow in rice is regulated by the concentration of nutrients as monitored by Positron Multi-Probe System (PMPS).
Soil Science and Plant Nutrition 48: 759-762 (2002)
- (19) Bughio N, Yamaguchi H, Nishizawa NK, Nakanishi H, Mori S
Cloning an iron regulated metal transporter from rice.
Journal of Experimental Botany 53: 1677-1682 (2002)
- (20) Morikawa CK, Saigusa M
Silicon amelioration of Al toxicity in barley (*Hordeum vulgare* L.) growing in two Andosols.
Plant and Soil 240: 161-168 (2002)
- (21) Teraoka T, Kaneko M, Mori S, Yoshimura E
Aluminium rapidly inhibits cellulose synthesis in roots of barley and wheat seedlings.
Journal of Plant Physiology 159: 17-23 (2002)
- (22) Lois LM, Lima CD, Chua NH
Small ubiquitin-like modifier modulates abscisic acid signaling in Arabidopsis.
The Plant Cell;15: 1347-1359 (2003)
- (23) Hu YX, Xie O, Chua NH
The Arabidopsis auxin-inducible gene ARGOS controls lateral organ size.
The Plant Cell 15: 1951-1961 (2003)
- (24) Hare PD, Moller SG, Huang LF, Chua NH
LAF3 a novel factor required for normal phytochrome A signaling.
Plant Physiology 133: 1592-1604 (2003)
- (25) Moller SG, Kim YS, Kunkel T, Chua NH
PP7 is a positive regulator of blue light signaling in Arabidopsis.
The Plant Cell 15: 1111-1119 (2003)
- (26) Wu Y, Sanchez JP, Lopez-Molina L, Himmelbach A, Grill E, Chua NH
The *abi1-1* mutation blocks ABA signaling downstream of cADPR action.
The Plant Journal 34: 307-315 (2003)

- (27) Yuan P, Jedd G, Kumaran D, Swaminathan S, Shio H, Hewitt D, Chua NH, Swaminathan K
A HEX-1 crystal lattice required for Woronin body function in *Neurospora crassa*.
Nature Structural & Molecular Biology 10: 264-270 (2003)
- (28) Duque P, Chua NH
IMB1, a bromodomain protein induced during seed imbibition, regulates ABA- and phyA-mediated responses of germination in *Arabidopsis*.
The Plant Journal 35: 787-799 (2003)
- (29) Seo HS, Yang JY, Ishikawa M, Bolle C, Ballesteros ML, Chua NH
LAF1 ubiquitination by COP1 controls photomorphogenesis and is stimulated by SPA1.
Nature 423: 995-999 (2003)
- (30) Guo HS, Fei JF, Xie Q, Chua NH
A chemical-regulated inducible RNAi system in plants.
The Plant Journal 34: 383-392 (2003)
- (31) Sung JQ, Niu QW, Tarkowski P, Zheng BL, Tarkowska D, Sandberg G, Chua NH, Zuo JR
The *Arabidopsis* AtIPT8/PGA22 gene encodes an isopentenyl transferase that is involved in de novo cytokinin biosynthesis.
Plant Physiology 131: 167-176 (2003)
- (32) Lopez-Molina L, Mongrand S, Kinoshita N, Chua NH
AFP is a novel negative regulator of ABA signaling that promotes ABI5 protein degradation.
Genes & Development 17: 410-418 (2003)
- (33) Yoshihara T, Kobayashi T, Goto F, Masuda T, Higuchi K, Nakanishi H, Nishizawa NK
Regulation of Fe-deficiency responsive gene, *Ids2* of barley in tobacco.
Plant Biotechnology 20: 33-41 (2003)
- (34) Takahashi M
Overcoming Fe deficiency by a transgenic approach in rice.
Plant Cell Tissue and Organ Culture 72: 211-220 (2003)
- (35) Shibuia K, Yamamoto R, Morikawa CK, Saigusa M
Effect of glyphosate herbicide on growth of glyphosate-resistant transgenic dent corn and on weeding of *Abutilon avicennae* Gaert.
Bulletin of Integrated Field Science Center, 19, 7-11 (2003)
- (36) Morikawa CK, Saigusa M
Effect of continuous application of Low-Acidulent fertilizer on Acidification of an Andisol and Plant Growth.
Communications in Soil Science and Plant Analysis 34: 607-618 (2003)
- (37) Masuda T, Mikami B, Goto F, Yoshihara T, Utsumi S
Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of plant ferritin from glycine max.
Biochimica et Biophysica Acta 1645: 113-115 (2003).
- (38) Yoshihara T, Masuda T, Jiang T, Goto F, Mori S, Nishizawa NK
Analysis of some divalent metal contents in tobacco expressing the exogenous soybean ferritin gene.
Journal of Plant Nutrition 26: 2253-2265 (2003)
- (39) Nagasaka S, Nishizawa NK, Watanabe T, Mori S, Yoshimura E
Evidence for iron storage role of electron-dense bodies in *Cyanidium caldarium*.
Bio Metals 16: 465-470 (2003)

- (40) Takahashi M, Terada Y, Nakai I, Nakanishi H, Yoshimura H, Mori S, Nishizawa NK
The role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development.
The Plant Cell 15: 1263-1280 (2003)
- (41) Mizuno D, Higuchi K, Sakamoto T, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Three nicotianamine synthase genes isolated from maize are differentially regulated by iron nutritional status.
Plant Physiology 132: 1989-1997 (2003)
- (42) Chiba A, Ishida H, Nishizawa NK, Makino A, Mae T
Exclusion of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from chloroplasts by the body in naturally-senescent leaves of wheat.
Plant & Cell Physiology 44: 914-921 (2003)
- (43) Kobayashi T, Yoshihara T, Jiang T, Goto F, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Combined deficiency of iron and other divalent cations mitigates the symptoms of iron deficiency in tobacco plants.
Physiologia Plantarum 119: 400-408 (2003)
- (44) Inoue H, Higuchi K, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Three rice nicotianamine synthase genes, *OsNAS1*, *OsNAS2* and *OsNAS3* are expressed in cells involved in long-distance transport of iron and differentially regulated by iron.
The Plant Journal 36: 366-381 (2003)
- (45) Kobayashi T, Nakayama Y, Nakanishi Itai R, Nakanishi H, Yoshihara T, Mori S, Nishizawa NK
Identification of novel cis-acting elements, IDE1 and IDE2, of the barley IDS2 gene promoter conferring iron-deficiency-inducible, root-specific expression in heterogeneous tobacco plants.
The Plant Journal 36: 780-793 (2003)
- (46) Tsuji H, Tsutsumi N, Sasaki T, Hirai T, Nakazono M
Organ-specific expressions and chromosomal locations of two mitochondrial aldehyde dehydrogenase genes from rice (*Oryza sativa* L.), *ALDH2a* and *ALDH2b*.
Gene, 305: 195-204 (2003)
- (47) Tsuji H, Meguro N, Suzuki Y, Tsutsumi N, Hirai A, Nakazono M
Induction of mitochondrial aldehyde dehydrogenase by submergence facilitates oxidation of acetaldehyde during re-aeration in rice.
FEBS Letter 546: 369-373 (2003)
- (48) Nakazono M, F Qiu, LA Borsuk, PS Schnable
Laser capture microdissection, a tool for the global analysis of gene expression in specific plant cell types: Identification of genes differentially expressed in epidermal cells or vascular tissues of maize.
The Plant Cell 15: 583-596 (2003)
- (49) Seo HS, Watanabe E, Tokutomi S, Nagatani A, Chua NH
Photoreceptor ubiquitination by COP1 E3 ligase desensitizes phytochrome A signaling.
Genes & Development 18: 617-622 (2004)
- (50) Arimura S, Yamamoto J, Aida GP, Nakazono M, Tsutsumi N
Frequent fusion and fission of plant mitochondria with unequal nucleoid distribution.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 101: 7805-7808 (2004)

- (51) Arimura S, Aida GP, Fujimoto M, Nakazono M, Tsutsumi N
Arabidopsis dynamin-like protein 2a (ADL2a), like ADL2b, is involved in plant mitochondrial division.
Plant & Cell Physiology 45: 236-242 (2004)
- (52) Schnable PS, Hochholdinger F, Nakazono M
 Global expression profiling applied to plant development.
Current Opinion in Plant Biology 7: 50-56 (2004)
- (53) Li Y, Ohtsu K, Nemoto K, Tsutsumi N, Hirai A, Nakazono M
 The rice *pyruvate decarboxylase 3* gene, which lacks introns, is transcribed in mature pollen.
Journal of Experimental Botany 55: 145-146 (2004)
- (54) Blamey FPC, Nishizawa NK, Yoshimura E
 Timing, Magnitude and location of initial soluble aluminum injuries to mungbean roots.
Soil Science and Plant Nutrition 50: 67-76 (2004)
- (55) Nagasaka S, Nishizawa NK, Mori S, Yoshimura E
 Metal metabolism in the red alga *Cyanidium caldarium* and its relationship to metal tolerance.
BioMetals 17: 177-181 (2004)
- (56) Morikawa CK, Saigusa M
 Mineral composition and accumulation of Si in tissues of blueberry (*Vaccinium corymbosus* cv. Bluecrop) cuttings.
Plant and Soil 258: 1-8 (2004)
- (57) Terauchi K, Asakura T, Nishizawa NK, Matsumoto I, Abe K
 Characterization of the genes for two soybean aspartic proteinases and analysis of their different tissue-dependent expression.
Planta 218: 947-957 (2004)
- (58) Koike S, Inoue H, Mizuno D, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
 OsYSL2 is a rice metal-nicotianamine transporter that is regulated by iron and expressed in the phloem.
The Plant Journal 39: 415-424 (2004)
- (59) Singh K, Sharma HC, Singh CS, Singh Y, Nishizawa NK, Mori S
 Effect of polyolefin resin coated slow release iron fertilizer and its methods of application on rice production in calcareous soil.
Soil Science and Plant Nutrition 50: 1037-1042 (2004)
- (60) Morikawa CK, Saigusa M, Nakanishi H, Nishizawa NK, Hasegawa K, Mori S
 Co-situs application of controlled-release fertilizers to alleviate iron chlorosis of paddy rice grown in calcareous soil.
Soil Science and Plant Nutrition 50: 1013-1021 (2004)
- (61) Tsukamoto T, Uchida H, Nakanishi H, Nishiyama S, Tsukada H, Matsubashi S, Nishizawa NK, Mori S
 H_2^{15}O translocation in rice was enhanced by 10 μM 5-amino levulinic acid as monitored by positron emitting tracer imaging system (PETIS).
Soil Science and Plant Nutrition 50: 1085-1088 (2004)

- (62) Oki H, Kim S, Nakanishi H, Takahashi M, Yamaguchi H, Mori S, Nishizawa NK
Directed evolution of yeast ferric reductase to produce plants with tolerance to iron deficiency in alkaline soils.
Soil Science and Plant Nutrition 50: 1159-1165 (2004)
- (63) Nozoye T, Nakanishi Itai R, Nagasaka S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Diurnal changes in the expression of genes that participate in phytosiderophore synthesis in rice.
Soil Science and Plant Nutrition 50: 1125-1131 (2004)
- (64) Kobayashi T, Nakayama Y, Takahashi M, Inoue H, Nakanishi H, Yoshihara T, Mori S, Nishizawa NK
Construction of artificial promoters highly responsive to iron deficiency.
Soil Science and Plant Nutrition 50: 1167-1175 (2004)
- (65) Inoue H, Mizuno D, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
A rice FRD3-like (*OsFRDL1*) gene is expressed in the cells involved in long-distance transport.
Soil Science and Plant Nutrition 50: 1133-1140 (2004)
- (66) 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)
- (67) 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)
- (68) 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)
- (69) 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)
- (70) 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)
- (71) Blamey FPC, Nishizawa NK, Yoshimura E
Digital Microcopy: A Useful Technique for Measuring Root Elongation in Solution.
Soil Science and Plant Nutrition 51: 705-708 (2005)
- (72) 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)

- (73) 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 170: 143-150 (2006)
- (74) Ishimaru Y, Suzuki M, Tsukamoto T, Suzuki K, Nakazono M, Kobayashi T, Wada Y, Watanabe S, Matsuhashi 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 45: 335-346 (2006)
- (75) Ogo Y, Nakanishi Itai R, Nakanishi H, Inoue H, Kobayashi T, Suzuki M, Takahashi M, Mori S, Nishizawa NK
Isolation and characterization of IRO2, a novel iron-regulated bHLH transcription factor in graminaceous plants.
Journal of Experimental Botany 57: 2867-2878 (2006)
- (76) Bashir K, Nagasaka S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Cloning and characterization of deoxymugineic acid synthase genes from graminaceous plants.
Journal of Biological Chemistry 281: 32395-32402 (2006)
- (77) Nakanishi H, Ogawa I, Ishimaru Y, Mori S, Nishizawa NK
Iron deficiency enhances cadmium uptake and translocation mediated by the Fe^{2+} transporters OsIRT1 and OsIRT2 in rice.
Soil Science and Plant Nutrition 52: 464-469 (2006)
- (78) Tsuji H, Aya K, Ueguchi MT, Shimada Y, Nakazono M, Watanabe R, Nishizawa NK, Gomi K, Shimada A, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M
GAMYB controls different sets of genes and is differentially regulated by microRNA in aleurone cells and anthers.
The Plant Journal 47: 427-444 (2006)
- (79) Suzuki M, Takahashi M, Tsukamoto T, Watanabe S, Matsuhashi S, Yazaki J, Kishimoto N, Kikuchi S, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Biosynthesis and Secretion of Mugineic Acid Family Phytosiderophores in Zinc-deficient barley.
The Plant Journal 48: 85-97 (2006)
- (80) Moirakawa CK, Saigusa M, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S
Overcoming Fe deficiency in guava (*Psidium guajava* L.) by *co-situs* application of controlled release fertilizers.
Soil Science and Plant Nutrition 52: 754-759 (2006)
- (81) Tsukamoto T, Nakanishi H, Kiyomiya S, Watanabe S, Matsuhashi S, Nishizawa NK, Mori S
 ^{52}Mn translocation in barley monitored using a positron-emitting tracer imaging system.
Soil Science and Plant Nutrition 52: 717-725 (2006)
- (82) Wada Y, Kobayashi T, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Metabolic engineering of *saccharomyces cerevisiae* producing nicotianamine: potential for industrial biosynthesis of a novel antihypertensive substrate.
Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 70: 1408-1415 (2006)
- (83) Wada Y, Yamaguchi I, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Highly sensitive quantitative analysis of nicotianamine using LC/ESI-TOF-MS with an internal standard.
Bioscience, Biotechnology and Biochemistry : in press (2007)

(84) Nozoye T, Inoue H, Takahashi M, Ishimaru Y, Nakanishi H, , Mori S, Nishizawa NK
The expression of iron homeostasis-related genes during rice germination.
Plant Molecular Biology: in press (2007)

(2) 総説等

(1) 森敏

アルカリ土壌立地農法は可能か
季刊「肥料」 88: 33-43 (2001)

(2) 森敏

第3次緑の革命に向かって
学術月報 54: 471-477 (2001)

(3) 森敏、中西友子、林浩昭、大山卓爾、内田博、松橋信平、関根俊明

植物の生理活動研究の手段としての PET
Radioisotopes 50: 408-418 (2001)

(4) 森敏、清宮正一郎、中西啓仁、内田博、石岡典子、渡辺智、伊藤岳人、水庭千鶴子、松橋信平、関根俊明

Ⅱ 植物用 PET (PETIS) の開発と応用；初めて画像化された物質の植物体内移行
放射線と産業 92: 22-27 (2001)

(5) 高橋美智子、西澤直子、森敏

鉄欠乏耐性イネの誕生
Bioベンチャー 1: 93-96 (2001)

(6) Kalyan Singh, Satoshi Mori and Ross M. Welch (eds.)

Perspectives on the Micronutrient Nutrition of Crops.
Science Publishers(India) 295 (2001)

(7) Mori S, Nakanishi H, Takahashi M, Higuchi K, Nishizawa NK

In Plant Nutrition- Food security and sustainability of agro-ecosystems. (Eds by W.J.Horst et al):
14-15 Kluwer Academic Publishers, Netherlands (2001)

(8) Mori S, Nakanishi H, Nishizawa NK, Singh K, Sudhakar PC

Molecular Physiological approach of plant borne phytosiderophore based iron deficiency stress
mechanism (Strategy-II) for sustained rice productivity under high pH calcareous soils. Recent
Research.

Development in Phytochemistry 5: 95-107. ed by S.G. Pandalai,
Published by RESEARCH SIGNPOST (2001)

(9) Mori S

The role of mugineic acid in iron acquisition: progress in cloning the genes for transgenic rice.
Plant Nutrient Acquisition (eds. N. Ae, J. Arihara, K. Okada, A. Srinivasan) Springer-Verlag Tokyo :
120-139 (2001)

(10) Nishizawa NK, Mori S

Direct uptake of macro organic molecules.
Plant Nutrient Acquisition (eds. N. Ae, J. Arihara, K. Okada, A. Srinivasan) Springer-Verlag Tokyo:
421-444 (2001)

- (11) 森敏・板生清 対談 「植物の生長科学」
NATURE INTERFACE(ネイチャーインターフェイス) 7: 13-17 (2002)
- (12) 山口博隆、森敏
鉄欠乏誘導性遺伝子の解析と鉄トランスポーター研究の現状
農業および園芸 77: 517-552 (2002)
- (13) 森敏、西澤直子
植物の鉄栄養の遺伝的制御
植物の生長制御 37: 110-116 (2002)
- (14) 岡野利明、渡部良朋、庄子和博、吉原利一、寺添斉、本多正樹、岩田仲弘
バイオマス利用に関する課題探索結果報告書
電中研報告書 U03901: 23 (2003)
- (15) 増田太郎、後藤文之、吉原利一
新規フェリチン遺伝子を用いた形質転換植物における鉄貯蔵能の向上
電中研報告書 U02041: 13 (2003)
- (16) 吉原利一、後藤文之、角川京子
植物による環境修復 (3) ヘビノネゴザの組織培養法の確立と培養植物体のカドミウム耐性・蓄積能力について
電中研報告書 U03016: 22 (2003)
- (17) 西澤直子
鉄の吸収と膜輸送
植物の膜輸送システム 植物細胞工学シリーズ 18: 77-81 (2003)
- (18) 吉原利一、後藤文之、増田太郎、宮坂均、泉谷進、奥畑博史
RAPD 法を用いた植林地と自然林におけるマングローブの遺伝的多様性の比較
電中研報告書 U03027: 24 (2004)
- (19) Nishizawa NK
The uptake and translocation of minerals in rice plants. *In* Rice is life: scientific perspectives for the 21st century (eds by K.Toriyama et al): 90-93, IRRI serials (2005).
- (20) Kobayashi T, Nishizawa NK, Mori S
Molecular analysis of iron-deficient Gramineous plants. *In* Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms (eds by L. L. Barton and J. Abadía): 395-435, Springer Inc. (2005)
- (21) 鈴木基史、西澤直子
植物の亜鉛トランスポーター
化学と生物 44: 233-240 (2006)
- (22) 西澤直子
鉄と植物
学士会会報 861: 60-66 (2006)

(3) 学会発表

①招待講演 (国内会議 3 件、国際会議 3 件)

(1) 西澤直子

植物細胞における小胞体由来構造の解析

日本顕微鏡学会第 61 回学術講演会 (つくば国際会議場) 2005.6.1

(2) 西澤直子

植物の養分吸収と循環系

明日を担う植物科学 シンポジウム—植物科学：分子動態から群落生産まで— (東京大学・弥生講堂) 2005.10.14

国際(3) Naoko K. Nishizawa

Rice metal-nicotianamine and iron-phytosiderophore transporters involved in the uptake, translocation and accumulation of minerals in grains.

5th International Rice Genetics Symposium(フィリピン・マニラ)2005.11.19-23

(4) 西澤直子

不良土壌耐性遺伝子をヒトの健康に役立てる

イネゲノム解読記念シンポジウム (つくば国際会議場) 2006.3.22

国際(5) Naoko K. Nishizawa

Mineral Nutrients and Organelle.

The 53rd NIBB Conference“**Dynamic Organelles in Plants**”特定領域研究「植物の環境適応戦略としてのオルガネラ分化」(岡崎コンファレンスセンター) 2006.6.17

国際(6) Naoko K. Nishizawa

OsYSL family transporters involved in the uptake and translocation of iron in rice plants.

ISINIP2006(INRA Campus) 2006.7.4

②口頭発表 (国内会議 43 件、国際会議 13 件)

国際(1) ○Toshihiro Yoshihara, Fumiyuki Goto, Takanori Kobayashi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa

Evaluation of Divalent Cation-inducible Fe-deficiency in Tobacco Using a Molecular Marker, the *Ids2/GUS* Reporter Gene System.

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂) 2004.4.12-15

国際(2) ○Yuko Nakayama, Takanori Kobayashi, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Toshihiro Yoshihara, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa

Construction of Artificial Promoters Highly Responsive to Iron Deficiency.

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂) 2004.4.12-15

国際(3) ○Naoko K. Nishizawa

Identification of Iron Deficiency Responsive Elements, IDE1 and IDE2, in Plants.

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂) 2004.4.12-15

国際(4) ○Claudio Kendi Morikawa, ○Masahiko Saigusa, Hiromi Nakanishi, Naoko K. Nishizawa, Satoshi Mori

Co-situs Application of Control Release Fertilizers as a New Method to Alleviate Iron Deficiency of Paddy Rice Grown on Calcareous Soil.

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂)
2004.4.12-15

国際(5) ○Hiromi Nakanishi, Takashi Tsukamoto, Satoshi Watanabe, Noriko S. Ishioka, Shu Fujimaki, Shinpei Matsuhashi, Tamikazu Kume, Naoko K. Nishizawa, Satoshi Mori

Real Time Imaging of Metal Ion Translocation in Plants Visualized by PETIS(Positron Emitting Tracer Imaging System).

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂)
2004.4.12-15

国際(6) ○Takahashi M, Inoue H, Ushio Y, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa K. Nishizawa
Role of Nicotianamine and Deoxymugineic Acid in Plant Reproductive Development and Embryogenesis.

American Society of Plant Biologist (オーラント・アメリカ) 2004.7.25

(7) ○和田泰明、石丸泰寛、中西啓仁、板井玲子、高橋美智子、森敏、西澤直子
血圧降下作用を持った機能性食品の開発に向けて (ニコチアナミン高蓄積米の創製)
日本土壌肥料学会 2004 年福岡大会 (九州大学) 2004.9.15

(8) ○野副朋子、板井玲子、長坂征治、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネにおけるデオキシムギネ酸合成系遺伝子発現の日周変動
日本土壌肥料学会 2004 年福岡大会 (九州大学) 2004.9.16

(9) ○板井玲子、中西啓仁、井上晴彦、小郷裕子、小林高範、高橋美智子、森敏、西澤直子
鉄欠乏誘導性 bZIP 型トランスファクターの単離・解析
日本土壌肥料学会 2004 年福岡大会 (九州大学) 2004.9.16

(10) ○塚本崇志、中西啓仁、内田博、渡辺智、石岡典子、藤巻秀、阪本浩一、松橋信平、荒川和夫、西澤直子、森敏
PETIS によるイネ科植物の鉄動態の解析
日本土壌肥料学会 2004 年福岡大会 (九州大学) 2004.9.16

(11) ○長坂征治、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
鉄欠乏誘導性オオムギ根タンパク質の細胞内局在
日本土壌肥料学会 2004 年福岡大会 (九州大学) 2004.9.16

(12) ○石丸泰寛、鈴木基史、塚本崇志、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネの OsIRT1 ホモログ (OsIRT) 遺伝子群の解析
日本土壌肥料学会 2004 年福岡大会 (九州大学) 2004.9.16

(13) ○森川クラウジオ健治、三枝正彦、中西啓仁、西澤直子、森敏
様々な鉄含有資材の接触施用によるアルカリ水田における水稻鉄欠乏症の改善-ポット試験を中心に-
日本土壌肥料学会 2004 年福岡大会 (九州大学) 2004.9.14

(14) ○小林高範、中山優子、吉原利一、板井玲子、高橋美智子、井上晴彦、中西啓仁、森敏、西澤直子

鉄欠乏誘導性シスエレメント IDE1、IDE2 の同定とイネへの適用

日本土壤肥料学会 2004 年福岡大会（九州大学）2004.9.16

(15) ○小池慎太郎、井上晴彦、高橋美智子、中園幹生、水野大地、中西啓仁、森敏、西澤直子

イネにおける OsYSL ファミリーの機能解析

日本土壤肥料学会 2004 年福岡大会（九州大学）2004.9.16

(16) ○小郷裕子、板井玲子、中西啓仁、井上晴彦、小林高範、高橋美智子、森敏、西澤直子

イネ科植物の鉄吸収に関わる新規 bHLH 型転写因子の解析

日本土壤肥料学会 2004 年福岡大会（九州大学）2004.9.16

(17) ○高橋美智子、井上晴彦、角田恭子、潮洋平、中西啓仁、森敏、西澤直子

生殖成長および胚発生過程におけるニコチアナミンとムギネ酸の役割

日本土壤肥料学会 2004 年福岡大会（九州大学）2004.9.16

(18) ○角田恭子、潮洋平、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

シロイヌナズナにおけるニコチアナミン合成酵素の発現解析

日本土壤肥料学会 2004 年福岡大会（九州大学）2004.9.16

(19) ○井上晴彦・鈴木基史・高橋美智子・中西啓仁・森敏・西澤直子

イネニコチアナミンアミノ基転移酵素遺伝子(*OsNAAT1*)の発現様式

日本土壤肥料学会 2004 年福岡大会（九州大学）2004.9.16

(20) ○鈴木基史、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

亜鉛欠乏によるムギネ酸類合成経路遺伝子の発現

日本土壤肥料学会 2004 年福岡大会（九州大学）2004.9.16

(21) ○金秀蓮、高橋美智子、樋口恭子、中西啓仁、吉村悦郎、森敏、西澤直子

ニコチアナミン合成酵素遺伝子を過剰発現する形質転換植物の特性

日本土壤肥料学会 2004 年福岡大会（九州大学）2004.9.16

(22) ○Khurram Bashir, Takashi Negishi, Seiji Nagasaka, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa

Characterization of Deoxymugineic acid synthase in barley genome.

日本土壤肥料学会 2004 年福岡大会（九州大学）2004.9.16

(23) 西澤直子

植物における必須金属栄養素の吸収、移行と分配の分子構造

農芸化学会 2005 年度大会・シンポジウム(札幌コンベンションセンター) 2005.3.30

(24) ○高橋美智子、角田恭子、井上晴彦、潮洋平、中西啓仁、森敏、西澤直子

生殖成長期におけるニコチアナミン合成酵素およびニコチアナミンアミノ基転移酵素遺伝子の発現

農芸化学会 2005 年度大会（札幌コンベンションセンター）2005.3.29

国際(25) ○T.Kobayashi, Y.Nakayama, T.Yoshihara, M.Suzuki, H.Inoue et al
Regulation of iron-acquisition-related graminaceous genes by novel iron-deficiency-responsive-acting elements, IDE1 and IDE2.
BIOIRON2005(Prague)2005.5.23

(26) ○塚本崇志、鈴木基史、中西啓仁、西澤直子、森敏、河地有木、渡辺智、松橋信平
PETIS によるイネにおける亜鉛の動態の計測
第 42 回 アイソトープ・放射線研究発表会（日本青年館）2005.7.6-8

(27) ○佐藤大祐、森真理、北村治滋、塚本崇志、鈴木伸郎、藤巻秀、松橋信平、田中俊憲、西澤直子、森正之
PETIS を用いた硝酸イオントランスポーター遺伝子高発現イネの硝酸吸収能の解析
第 42 回 アイソトープ・放射線研究発表会（日本青年館）2005.7.6-8

(28) ○石丸泰寛、鈴木基史、塚本崇志、金秀蓮、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネにおける 3 価鉄還元酵素遺伝子の解析
日本土壌肥料学会 2005 年度島根大会（島根大学）2005.9.6

(29) ○野副朋子、井上晴彦、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネ種子発芽時における鉄獲得関与遺伝子群の発現様式
日本土壌肥料学会 2005 年度島根大会（島根大学）2005.9.6

(30) ○小郷裕子、Alba Lucia Chavez、石谷学、森敏、西澤直子
CIAT でのアルカリ土壌におけるイネの生育検定
日本土壌肥料学会 2005 年度島根大会（島根大学）2005.9.6

(31) ○鈴木基史、塚本崇志、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
亜鉛吸収におけるムギネ酸の寄与-PETIS を用いたトレーサー実験
日本土壌肥料学会 2005 年度島根大会（島根大学）2005.9.6

(32) ○森川クラウジオ健治、三枝正彦、中西啓仁、西澤直子、森敏
育苗箱全量施肥による石灰質アルカリ水田での水稻生育の改善
日本土壌肥料学会 2005 年度島根大会（島根大学）2005.9.6

(33) ○高橋美智子（日本土壌肥料学会奨励賞記念講演）
高等植物におけるニコチアミンの機能に関する研究
日本土壌肥料学会 2005 年度島根大会（島根大学）2005.9.6

(34) ○笹本博彦（愛知製鋼㈱）、西澤直子、森敏
鉄イオンを安定供給する新素材について
第 29 回日本鉄ハイドロメタル学会学術集会(かごしま県民交流センター)2005.9.10

国際(35) Inoue H, Koike S, Aoyama T, Takahashi M, Mori S, Nishizawa NK
Rice metal-nicotianamine and iron-phytosiderophore transporters involved in the uptake and translocation of metal nutrients.
XV IPNC 2005(北京)2005.9.15

国際(36) Mori S
Application of the genes of Fe metabolism in plants to food, environment and human health.
XV IPNC 2005(北京)2005.9.16

- 国際(37) Morikawa CK, Saigusa M, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S
Successful yield-improvement of paddy rice in calcareous soils by new fertilization methods.
XV IPNC 2005(北京)2005.9.16
- (38) 増田寛志、石丸泰寛、小林高範、高橋美智子、中西啓仁、吉原利一、高岩文雄、森敏、西澤直子
鉄吸収機構を強化した高鉄含有米の創製（第1報）
土壤肥料学会 2005 年度関東支部大会（群馬大会）（前橋テルサ） 2005.11.26
- (39) ○塚本崇志、中西啓仁、内田博、小楠智美、西山新吾、渡辺智、松橋信平、西澤直子 他
登熟期のイネの穂における ^{52}Fe と ^{62}Zn の移行の動画
第47回日本植物生理学会年会（筑波大学） 2006.3.19
- (40) ○石丸泰寛、金秀蓮、塚本崇志、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
改変型3価鉄還元酵素遺伝子導入による鉄欠乏耐性イネの作成
第47回日本植物生理学会年会（筑波大学） 2006.3.21
- (41) ○野副朋子、井上晴彦、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネ種子発芽時における鉄関連遺伝子の発現様式
第47回日本植物生理学会年会（筑波大学） 2006.3.21
- (42) ○小林高範、中山優子、井上晴彦、高橋美智子、板井玲子、中西啓仁、吉原利一、森敏 他
オオムギ鉄欠乏誘導性*IDS3*プロモーターの解析
第47回日本植物生理学会年会（筑波大学） 2006.3.21
- (43) ○鈴木基史、塚本崇志、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネ科植物の亜鉛輸送・吸収におけるムギネ酸類の寄与—PETISを用いたトレーサー実験—
第47回日本植物生理学会年会（筑波大学） 2006.3.21
- (44) ○Khurram Bashir, Haruhiko Inoue, Seiji Nagasaka, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko Nishizawa
イネ科植物のデオキシムギネ酸合成酵素の解析
第47回日本植物生理学会年会（筑波大学） 2006.3.21
- (45) ○青山貴紘、井上晴彦、石丸泰寛、和田泰明、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネにおけるOsYSL18の機能解析
第47回日本植物生理学会年会（筑波大学） 2006.3.21
- (46) ○平井碧、樋口恭子、鈴木智子、吉羽雅昭、但野利秋
イネ科植物の鉄要求量と体内鉄利用効率の比較
第47回日本植物生理学会年会（筑波大学） 2006.3.21
- 国際(47) 中西啓仁
Positron imaging applications in plant researches.
2006 Taiwan Atomic Energy Forum（行政院原子能委員會核能研究所活動中心台湾） 2006.4.28

国際(48) ○Yasuhiro ISHIMARU, Suyeon KIM, Takashi TSUKAMOTO, Takanori KOBAYASHI, Satoshi WATANABE, Shinpei, MATSUHASHI, Michiko TAKAHASHI, Hiromi NAKANISHI, Satoshi MORI, Naoko NISHIZAWA

Directed evolution of yeast ferric chelate reductase confers enhanced tolerance of rice to iron deficiency in calcareous soil.

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.5

国際(49) ○Toshihiro YOSHIHARA, Fumiyuki GOTO

Can transgenic plants be a magic bullet to solve the human iron-deficiency?

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.6

(50) 西澤直子

健康な生活を目指した鉄栄養制御遺伝子の活用

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム(筑波大学) 2006.7.31

(51) 石丸泰寛

イネの鉄・亜鉛トランスポーターに関する研究

岡山大学資源生物科学研究所公開セミナー(植物ストレス応答分子解析グループ)(岡山大学資源生物科学研究所) 2006.8.1

(52) 小林高範(第24回(2006年度)日本土壌肥料学会奨励賞講演)

植物の鉄欠乏応答性シスエレメントに関する研究

日本土壌肥料学会 2006年度秋田大会(秋田県立大学) 2006.9.5

(53) 西澤直子(シンポジウム)

人間の健康に資する植物栄養学—鉄、亜鉛、ヨウ素の富化、硝酸イオン、カドミウムの低減—「鉄、亜鉛をたくさん含有する作物を育種する」

日本土壌肥料学会 2006年度秋田大会(秋田県立大学) 2006.9.5

(54) 西澤直子(シンポジウム)

シンポジウム「膜輸送と鉄」

植物の鉄輸送

第30回日本鉄バリエーション学会学術集会(東京大学・弥生講堂) 2006.9.16

(55) ○小林高範、吉原利一、高橋美智子、中西啓仁、森敏、板井玲子、西澤直子

植物の鉄欠乏応答性シスエレメント IDE1、IDE2 の同定

第30回日本鉄バリエーション学会学術集会(東京大学・弥生講堂) 2006.9.17

(56) 西澤直子(座長)、松岡信(シンポジウム)

人類生存に役に立つ植物研究とは?

シンポジウム 鉄栄養制御による石灰質アルカリ土壌耐性イネの分子育種

日本分子生物学会 2006 フォーラム 分子生物学の未来(名古屋国際会議場) 2006.12.8

③ポスター発表（国内会議 66 件、国際会議 64 件）

国際(1) ○Seiji Nagasaka, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Morphological and Immunocytochemical Analysis on Synthesis and Secretion of MAs in *Hordeum vulgare*.

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants（東京大学・弥生講堂）
2004.4.12-15

国際(2) ○Takashi Tsukamoto, Hiroshi Uchida, Hiromi Nakanishi, Shingo Nishiyama, Hideo Tsukada, Naoko K. Nishizawa, Satoshi Mori

[¹⁵O]-water Translocation in Rice Was Enhanced by 10 μM 5-Aminolevulinic Acid.

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants（東京大学・弥生講堂）
2004.4.12-15

国際(3) Takashi Tsukamoto, Hiromi Nakanishi, Shoichiro Kiyomiya, Satoshi Watanabe, Hiroshi Uchida, Noriko S Ishioka, Shu Fujimaki, Koichi Sakamoto, Shinpei Matsuhashi, Toshiaki Sekine, Tamikazu Kume, Kazuo Arakawa, Naoko K. Nishizawa, Satoshi Mori

Visualization of ⁵²Fe Translocation in Barley and Maize Plants Monitored by Positron Emitting Tracer Imaging System(PETIS).

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants（東京大学・弥生講堂）
2004.4.12-15

国際(4) ○Nakanishi Itai Reiko, Hiromi Nakanishi, Haruhiko Inoue, Yuko Ogo, Takanori Kobayashi, Michiko Takahashi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa

Isolation of the Fe-deficiency Inducible Gene Encoding a Basic Leucine Zipper Protein.

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants（東京大学・弥生講堂）
2004.4.12-15

国際(5) ○Yuko Ogo, Nakanishi Itai Reiko, Hiromi Nakanishi, Haruhiko Inoue, Takanori Kobayashi, Michiko Takahashi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa

The Expression Analysis of the Putative Transcription Factor Related to Iron Acquisition in Gramineous Plants.

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants（東京大学・弥生講堂）
2004.4.12-15

国際(6) ○Yasuhiro Ishimaru, Motofumi Suzuki, Takashi Tsukamoto, Shinpei Matsuhashi, Satoshi Watanabe, Toshiaki Sekine, Yasuaki Wada, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa

Dual Iron-uptake Systems in Rice.

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants（東京大学・弥生講堂）
2004.4.12-15

国際(7) ○Khurram Bashir, Takashi Negishi, Seiji Nagasaka, Michiko Takahashi, Hiromi Nakasani, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa

Characterization of Deoxymugineic Acid Synthase.

XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants（東京大学・弥生講堂）
2004.4.12-15

国際(8) ○Tomoko Nozoe, Nakanishi Itai Reiko, Seiji Nagasaka, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
The Diurnal Changes in the Expression of Genes participated in Phytosiderophore Synthesis in Rice.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂)
2004.4.12-15

国際(9) ○Motofumi Suzuki, Michiko Takahashi, Takashi Tsukamoto, Haruhiko Inoue, Junshi Yazaki, Satoshi Watanabe, Noriko S. Ishioka, Shinpei Matsushashi, Tamikazu Kume, Naoki Kishimoto, Shoushi Kikuchi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
The Increase in MAs Secretion by Zn Deficiency Occurs Independently from Fe Deficiency
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂)
2004.4.12-15

国際(10) ○Michiko Takahashi, Haruhiko Inoue, Yohei Ushio, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Role of Nicotianamine and Deoxymugineic Acid in Plant Reproductive Development.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂)
2004.4.12-15

国際(11) ○Kyoko Tsunoda, Yohei Ushio, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
The Expression of Nicotianamine Synthase Genes in *Arabidopsis* in Response to Metal Stresses.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂)
2004.4.12-15

国際(12) ○Yuko Nakayama, Takanori Kobayashi, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Toshihiro Yoshihara, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Construction of Artificial Promoters Highly Responsive to Iron Deficiency.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂)
2004.4.12-15

国際(13) ○Takanori Kobayashi, Toshihiro Yoshihara, Yuko Nakayama, Nakanishi Itai Reiko, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Identification of Novel *Cis*-acting Elements, IDE1 and IDE2, Conferring Iron-deficiency-inducible Gene Expression.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂)
2004.4.12-15

国際(14) ○Toshihiro Yoshihara, Fumiyuki Goto, Takanori Kobayashi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Evaluation of Divalent Cation-inducible Fe-deficiency in Tobacco Using a Molecular Marker, the *Ids2/GUS* Reporter Gene System.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂)
2004.4.12-15

国際(15) ○Haruhiko Inoue, Daichi Mizuno, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
A rice *FRD3-like(OsFRDL)* Gene Is Expressed in Companion Cells.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂)
2004.4.12-15

- 国際(16) ○Haruhiko Inoue, Motofumi Suzuki, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Rice Nicotianamine Aminotransferase Gene (*NAAT1*) Is Expressed in Cells Involved in Long-distance Transport of Iron.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂) 2004.4.12-15
- 国際(17) ○Shintaro Koike, Daichi Mizuno, Haruhiko Inoue, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Characterization of *OsYSL* genes.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂) 2004.4.12-15
- 国際(18) ○Hasegawa K, Tsuboi M, Suzuki M, Nishizawa NK, Mori S
Induction of Anthocyan Synthesis in the Wild Plants in Calcareous Soils-An Observation in the Field Experiments of Iron Fertilizers-
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂) 2004.4.12-15
- 国際(19) ○Claudio Kendi Morikawa, Masahiko Saigusa, Hiromi Nakanishi, Naoko K. Nishizawa, Satoshi Mori
Effectiveness of *co-situs* Application of Different Forms of Iron Containing Materials to Alleviate Iron Deficiency of Paddy Rice Grown on a Calcareous Soil.
X II International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂) 2004.4.12-15
- 国際(20) ○Suyeon Kim, Hiroyuki Oki, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Genetic Engineering of Tolerant Tobacco to Low Iron Availability in Alkaline Soils.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂) 2004.4.12-15
- 国際(21) ○Yasuaki Wada, Hiromi Nakanishi, Yasuhiro Ishimaru, Michiko Takahashi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Application of Nicotianamine for Hypotensive Foods.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂) 2004.4.12-15
- 国際(22) ○Hiroyuki Watanabe, Takeshi Kitahara, Naoko K. Nishizawa, Satoshi Mori
A New Efficient Synthesis of (-)-Nicotianamine and Study on the Structure-activity Relationships.
XII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants (東京大学・弥生講堂) 2004.4.12-15
- (23) 中山優子、○小林高範、高橋美智子、井上晴彦、中西啓仁、吉原利一、森敏、西澤直子
強力な鉄欠乏誘導性合成プロモーターの創製
日本土壌肥科学会 2004 年度関東支部大会 (帝京科学大学理工学部) 2004.6.27

(24) ○塚本崇志、中西啓仁、西澤直子、森敏、内田博、渡辺智、石岡典子、藤巻秀、阪本浩一、松橋信平、荒川和夫、久米民和
PETIS法により明らかになった経根吸収鉄 (^{52}Fe) のイネ科植物体内における上方移行の経路

第 13 回 TIARA 研究発表会（高崎シティーギャラリー）2004.6.29

国際(25) ○Nishizawa NK, Koike S, Inoue H, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S
A rice metal-nicotianamine transporter involved in the long-distance transport of iron and manganese.

13th International Workshop on Plant Membrane Biology(モンペリエ・フランス)2004.7.4-12

(26) ○和田泰明、石丸泰寛、中西啓仁、高橋美智子、森敏、西澤直子
血圧効果作用のある機能性食品の開発に向けてーニコチアナミン高蓄積米の創製ー
「植物の機能と制御」第 2 回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(27) ○野副朋子、板井玲子、長坂征治、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネにおけるデオキシムギネ酸合成系遺伝子発現の日周変動
「植物の機能と制御」第 2 回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(28) ○板井玲子、中西啓仁、井上晴彦、小郷裕子、小林高範、高橋美智子、森敏、西澤直子
鉄欠乏誘導性 bZIP 型トランスファクターの単離・解析
「植物の機能と制御」第 2 回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(29) ○塚本崇志、中西啓仁、内田博、渡辺智、石岡典子、藤巻秀、阪本浩一、松橋信平、西澤直子、森敏
PETIS 法によるイネ科植物の鉄動態の解析
「植物の機能と制御」第 2 回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(30) ○長坂征治、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
鉄欠乏誘導性オオムギ根タンパク質の細胞内局在
「植物の機能と制御」第 2 回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(31) ○石丸泰寛、鈴木基史、塚本崇志、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネの 2 価鉄トランスポーター遺伝子 *OsIRT1* ホモログ (*OsIRT*) ファミリーの解析
「植物の機能と制御」第 2 回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(32) ○森川クラウジオ健治、三枝正彦、中西啓仁、西澤直子、長谷川和久、森敏
微量要素入り被覆肥料の接触施肥によるアルカリ水田における水稻鉄欠乏症の改善
「植物の機能と制御」第 2 回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(33) ○小林高範、中山優子、井上晴彦、鈴木基史、高橋美智子、板井玲子、中西啓仁、吉原利一、森敏、西澤直子
イネにおける鉄欠乏誘導性シスエレメントの機能解析
「植物の機能と制御」第 2 回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(34) ○小林高範、吉原利一、中山優子、板井玲子、中西啓仁、森敏、西澤直子
鉄欠乏誘導性シスエレメント IDE1、IDE2 の同定
「植物の機能と制御」第 2 回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(35) ○小池慎太郎、井上晴彦、高橋美智子、中園幹生、水野大地、中西啓仁、森敏、西澤直子

イネにおける OsYSL ファミリーの機能解析

「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(36) ○小郷裕子、板井玲子、中西啓仁、井上晴彦、小林高範、高橋美智子、森敏、西澤直子

イネ科植物の鉄吸収にかかわる新規 bHLH 型転写因子の解析

「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(37) ○高橋美智子、井上晴彦、角田恭子、潮洋平、中西啓仁、森敏、西澤直子
生殖成長および胚発生過程におけるニコチアナミンとムギネ酸の役割

「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(38) ○角田恭子、潮洋平、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
シロイヌナズナにおけるニコチアナミン合成酵素の発現解析

「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(39) ○井上晴彦、樋口恭子、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

ニコチアナミン合成酵素遺伝子 (*OsNAS*)は鉄の長距離輸送に関与する細胞で発現している

「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(40) ○鈴木基史、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

イネ科植物における亜鉛欠乏下でのムギネ酸分泌

「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(41) 中西啓仁、板井玲子、Jian-ru Zu, Nam-Hai Chua, 森敏、西澤直子

イネ用マーカーフリーベクターの開発

「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(42) ○金秀蓮、高橋美智子、大木宏之、中西啓仁、森敏、西澤直子

アルカリ土壌耐性タバコの創製

「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

(43) ○Khurram Bashir, Takashi Negishi, Seiji Nagasaka, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa

Characterization of Genes for Deoxymugineic Acid Synthase from Barley.

「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム(コクヨホール)2004.10.26

国際(44) ○Wada Y, Ishimaru Y, Nakanishi H, Takahashi M, Mori S, Nishizawa NK

Engineering Hypotensive Rice Containing Higher Amount of Nicotianamine for Functional Foods.

World Rice Research Conference 2004 世界イネ研究会議(つくばセンター)2004.11.5-7

国際(45) ○Suzuki M, Takahashi M, Nagamura Y, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK

22k microarray analysis on zinc deficiency in rice.

World Rice Research Conference 2004 世界イネ研究会議(つくばセンター)2004.11.5-7

国際(46) ○Reiko Nakanishi Itai, Hiromi Nakanishi, Haruhiko Inoue, Yuko Ogo, Takanori Kobayashi, Michiko Takahashi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa

Isolation of the Fe-deficiency Inducible Gene Encoding a Basic Leucine Zipper Protein.

World Rice Research Conference 2004 世界イネ研究会議(つくばセンター)2004.11.5-7

国際(47) ○Yasuhiro Ishimaru, Motofumi Suzuki, Takashi Tsukamoto, Satoshi Watanabe, Noriko S. Ishioka, Shu Fujimaki, Shinpei Matsushashi, Kazuo Arakawa, Yasuaki Wada, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Dual iron-uptake systems in rice.

World Rice Research Conference 2004 世界イネ研究会議(つくばセンター)2004.11.5-7

国際(48) Yuko Nakayama, ○Takanori Kobayashi, Michiko Takahashi, Haruhiko Inoue, Hiromi Nakanishi, Toshihiro Yoshihara, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
Construction of Artificial Promoters Highly Responsive to Iron Deficiency.

World Rice Research Conference 2004 世界イネ研究会議(つくばセンター)2004.11.5-7

国際(49) ○小池慎太郎、井上晴彦、高橋美智子、中園幹生、水野大地、中西啓仁、森敏、西澤直子

OsYSLs, Metal-Phytosiderophore Transporter Family in Rice.

World Rice Research Conference 2004 世界イネ研究会議(つくばセンター)2004.11.5-7

国際(50) ○Yuko Ogo, Reiko Nakanishi Itai, Hiromi Nakanishi, Haruhiko Inoue, Takanori Kobayashi, Michiko Takahashi, Satoshi Mori, Naoko Kishi Nishizawa

The expression analysis of the putative transcription factor related to iron acquisition in graminaceous plants.

World Rice Research Conference 2004 世界イネ研究会議(つくばセンター)2004.11.5-7

国際(51) ○Haruhiko Inoue, Motofumi Suzuki, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori and Naoko K. Nishizawa

Rice Nicotianamine aminotransferase gene (*NAATI*) is expressed in cells involved in long-distance transport of iron.

World Rice Research Conference 2004 世界イネ研究会議(つくばセンター)2004.11.5-7

国際(52) ○H Nakanishi, T Tsukamoto, S Kiyomiya, H Uchida, S Nishiyama, H Tsukada, S Matsushashi, T Kume, S Mori, NK Nishizawa

Real Time Visualization of ¹³N and ¹⁵O-Water translocation in Rice Using Positron Emitting Tracer Imaging System (PETIS).

World Rice Research Conference 2004 世界イネ研究会議(つくばセンター)2004.11.5-7

国際(53) Naoko K Nishizawa

Real time imaging of transporter activities visualized by PETIS (Positron Emitting Tracer Imaging System).

KEYSTONE SYMPOSIA(New Mexico)2005.2.1-8

(54) ○小林高範、中山優子、井上晴彦、鈴木基史、高橋美智子、板井玲子、中西啓仁、吉原利一、森敏、西澤直子

イネにおける鉄欠乏応答性シスエレメント IDE1、IDE2 の機能解析

植物生理学会 2005 年度年会 (新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ) 2005.3.23-26

(55) ○長坂征治、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

鉄欠乏誘導性オオムギ根タンパク質の細胞内局在

植物生理学会 2005 年度年会 (新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ) 2005.3.23-26

(56) ○板井玲子、中西啓仁、井上晴彦、小郷裕子、小林高範、高橋美智子、森敏、西澤直子

鉄欠乏誘導性のイネ科 bZIP 型トランスファクターの解析

植物生理学会 2005 年度年会 (新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ) 2005.3.23-26

(57) ○小郷裕子、板井玲子、中西啓仁、井上晴彦、小林高範、高橋美智子、森敏、西澤直子

イネ科植物の鉄吸収にかかわる新規 bHLH 型転写因子の解析

植物生理学会 2005 年度年会（新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ）2005.3.23-26

(58) ○井上晴彦、小池慎太郎、水野大地、高橋美智子、鈴木一正、中園幹生、中西啓仁、森敏、西澤直子

イネにおける OsYSL ファミリーの機能解析

植物生理学会 2005 年度年会（新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ）2005.3.23～26

(59) ○鈴木基史、石丸泰寛、井上晴彦、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

マイクロアレイを用いたイネにおける亜鉛欠乏誘導性遺伝子の網羅的解析

植物生理学会 2005 年度年会（新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ）2005.3.23-26

(60) ○阪本浩一、藤巻秀、河地有木、石井里美、鈴木伸郎、石岡典子、塚本崇志、渡辺智、松橋信平

植物生理学会 2005 年度年会（新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ）2005.3.23-26

(61) ○森真理、北村治滋、佐藤大祐、田中俊憲、長谷川博、塚本崇志、藤巻秀、阪本浩一、石井里美、鈴木伸郎、河地有木、松橋信平、西澤直子、森敏、森正之

硝酸イオントランスポーター遺伝子高発現イネの作出と硝酸吸収能の解析

植物生理学会 2005 年度年会（新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ）2005.3.23-26

(62) ○高橋美智子、角田恭子、井上晴彦、潮洋平、中西啓仁、森敏、西澤直子

生殖成長期におけるニコチアナミン合成酵素およびニコチアナミンアミノ基転移酵素遺伝子の発現

農芸化学会 2005 年度大会（札幌コンベンションセンター）2005.3.28-31

国際(63) Takashi Tsukamoto, ○Hiromi Nakanishi, Hiroshi Uchida, Shingo Nishiyama, Noriko S. Ishioka, Shinpei Matsuhashi, Satoshi Mori and Naoko K. Nishizawa

Real time visualization of ^{11}C -methionine translocation in barley and tomato using a positron emitting tracer imaging system (PETIS).

6th International Workshop on Plant Sulfur Metabolism(カズサアカデミアパーク)2005.5.18-20

国際(64) ○Motofumi Suzuki, Takanori Kobayashi, Haruhiko Inoue, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori and Naoko K. Nishizawa

The expression of all the genes participated in methionine cycle is induced by Fe-deficiency in rice and barley.

6th International Workshop on Plant Sulfur Metabolism(カズサアカデミアパーク)2005.5.18-20

国際(65) ○Yasuaki Wada, Yasuhiro Ishimaru, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori and Naoko K. Nishizawa

Engineering of hypotensive foods to contain high amounts of Nicotianamine.

6th International Workshop on Plant Sulfur Metabolism(カズサアカデミアパーク)2005.5.18-20

国際(66) ○Hiromi Nakanishi

Visualization of ^{52}Fe translocation in plants monitored by positron emitting tracer imaging system(PETIS).

BIOIRON2005(Prague)2005.5.23

国際(67) ○Naoko K. Nishizawa

Rice iron-phytosiderophore transporter genes involved in the uptake and translocation of iron.
BIOIRON2005(Prague)2005.5.23

(68) ○塚本崇志、中西啓仁、鈴木基史、西澤直子、森敏、長谷純宏、田中淳
イオンビームによる鉄欠乏耐性植物の創成

第 14 回 TIARA 研究発表会(高崎シイギョウ)20005.6.23-24

(69) ○塚本崇志、鈴木基史、中西啓仁、井上晴彦、小池慎太郎、西澤直子、森敏、渡辺智、
松橋信平

PETIS によるイネにおける Fe-52 および Zn-62 の移行の計測

第 14 回 TIARA 研究発表会(高崎シイギョウ)20005.6.23-24

(70) ○佐藤大祐、森真理、北村治滋、吉澤清、河合敏彦、塚本崇志、西澤直子、鈴木伸郎、
藤巻秀、松橋信平、田中俊憲、森正之

形質転換イネを用いた窒素栄養の吸収に関与する遺伝子群の機能評価

第 14 回 TIARA 研究発表会(高崎シイギョウ)20005.6.23-24

(71) ○Bashir Khurram、井上晴彦、長坂征治、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
DMAS genes in graminaceous plants

日本土壌肥料学会 2005 年度島根大会 (島根大学) 2005.9.6

(72) ○小林高範、鈴木基史、井上晴彦、板井玲子、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

鉄欠乏応答性シスエレメント IDE によるイネ鉄欠乏誘導性遺伝子の発現制御

日本土壌肥料学会 2005 年度島根大会 (島根大学) 2005.9.6

(73) ○高橋美智子、角田恭子、井上晴彦、中西啓仁、森敏、西澤直子

生殖成長および種子成熟におけるニコチアナミンおよびムギネ酸の役割

日本土壌肥料学会 2005 年度島根大会 (島根大学) 2005.9.6

国際(74) ○Nakanishi Itai R, Inoue H, Ogo Y, Kobayashi T, Nakanishi H, Takahashi M, Mori S,
Nishizawa NK

Identification of iron-deficiency-inducible genes encoding transcription-related proteins in
graminaceous plants.

XV IPNC 2005(北京)2005.9.15

国際(75) ○Ito S, Inoue H, Higuchi K, Kobayashi T, Yoshida M, Mori S, Nishizawa NK

Compatibility of the mechanisms that regulate Fe deficiency response of Nicotianamine synthase
gene.

XV IPNC 2005(北京)2005.9.15

国際(76) ○Kobayashi T, Nakayama Y, Yoshihara T, Suzuki M, Inoue H, Nakanishi Itai R,
Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK

Regulation of iron-acquisition-related Graminaceous genes by novel iron-deficiency-responsive
cis-acting elements, IDE1 and IDE2.

XV IPNC 2005(北京)2005.9.15

国際(77) ○Nagasaka S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK

Immunocytochemical analysis of synthesis and secretion of MAs in *Hordeum vulgare*.

XV IPNC 2005(北京)2005.9.15

国際(78) ○Suzuki M, Ishimaru Y, Inoue H, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
22k microarray analysis on Zn-deficient rice.
XV IPNC 2005(北京)2005.9. 15

国際(79) ○Takahashi M, Tsunoda K, Inoue H, Koike S, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Expression of nicotianamine synthase genes, nicotianamine aminotransferase genes and OsYSL2 in
the reproductive stages.
XV IPNC 2005(北京)2005.9. 15

国際(80) ○Mori S, Yoshiba M, Tadano T.
Mechanisms of growth stimulation induced by a high concentration of NaCl in (*Suaeda salsa* L.)
pall.
XV IPNC 2005(北京)2005.9. 15

国際(81) ○Tsukamoto T, Nakanishi H, Kiyomiya S, Watanabe S, Matsuhashi S, Nishizawa NK,
Mori S
Visualization of ⁵⁶Fe translocation in graminaceous plants using a positron emitting tracer imaging
system (PETIS).
XV IPNC 2005(北京)2005.9. 15

国際(82) ○Nakanishi H, Tsukamoto T, Watanabe S, Matsuhashi S, Mori S, Nishizawa NK
Real-time imaging of metal ion translocation in plants using a positron emitting tracer imaging
system(PETIS).
XV IPNC 2005(北京)2005.9. 15

国際(83) ○Wada Y, Ishimaru Y, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Engineering of hypotensive rice to contain high amounts of nicotianamine for functional foods.
XV IPNC 2005(北京)2005.9.16

国際(84) ○Kim S, Takahashi M, Higuchi K, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK
Engineered plants with increased nicotianamine biosynthesis may be useful for phytoremediation.
XV IPNC 2005(北京)2005.9.16

国際(85) Sasamoto H, Yasui M, Mori S
A new iron fertilizer for promotive plant growth.
XV IPNC 2005(北京)2005.9.16

(86) ○小林高範、鈴木基史、井上晴彦、板井玲子、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直
子
鉄欠乏誘導性シスエレメント IDE によるイネ鉄欠乏誘導性遺伝子の発現制御
「植物の機能と制御」第3回公開シンポジウム(コクヨール)2005.9.27

(87) ○金秀蓮、高橋美智子、樋口恭子、中西啓仁、吉村悦郎、森敏、西澤直子
ニコチアナミンはNi過剰害を緩和する
「植物の機能と制御」第3回公開シンポジウム(コクヨール)2005.9.27

(88) ○塚本崇志、中西啓仁、内田博、小楠智美、西山新吾、渡辺智、松橋信平、西澤直子、
森敏
PETIS 法によるイネにおける物質の移行の計測
「植物の機能と制御」第3回公開シンポジウム(コクヨール)2005.9.27

(89) ○和田泰明、石丸泰寛、中西啓仁、高橋美智子、森敏、西澤直子
血圧降下物質ニコチアナミンの含量を高めた機能性米の作製
「植物の機能と制御」第3回公開シンポジウム(コクヨホール)2005.9.27

(90) ○長坂征治、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
ムギネ酸類分泌機構に関わる遺伝子の探索
第47回日本植物生理学会年会(筑波大学)2006.3.19-21

(91) ○井上晴彦、青山貴紘、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネのOsYSL2とOsYSL15は鉄の吸収・移行に関与している
第47回日本植物生理学会年会(筑波大学)2006.3.19-21

(92) ○金秀蓮、高橋美智子、樋口恭子、角田恭子、中西啓仁、吉村悦郎、森敏、西澤直子
ニコチアナミンはNi過剰害を緩和する
第47回日本植物生理学会年会(筑波大学)2006.3.19-21

(93) ○小郷裕子、板井玲子、中西啓仁、小林高範、井上晴彦、高橋美智子、森敏、西澤直子
イネ科植物の鉄吸収にかかわる新規bHLH型転写因子の解析
第47回日本植物生理学会年会(筑波大学)2006.3.19-21

(94) ○増田寛志、小林高範、石丸泰寛、高橋美智子、中西啓二、吉原利一、高岩文雄、森敏 他
鉄の吸収・転流機構を強化した高鉄含有米の創製
第47回日本植物生理学会年会(筑波大学)2006.3.19-21

(95) ○小川一平、中西啓仁、石丸泰寛、高橋美智子、森敏、西澤直子
イネのカドミウム吸収は鉄欠乏によって上昇し、この吸収は2価鉄トランスポーターOsIRT1とOsIRT2によっている
第47回日本植物生理学会年会(筑波大学)2006.3.19-21

(96) ○高橋美智子、井上晴彦、石丸泰寛、中西啓仁、森敏、西澤直子
生殖器官および種子への金属輸送におけるニコチアナミンおよびムギネ酸の役割
第47回日本植物生理学会年会(筑波大学)2006.3.19-21

国際(97) ○Hiromi Nakanishi, Seiji Nagasaka, Tomoko Nozoye, Michiko Takahashi, Satoshi Mori, Naoko K. Nishizawa
ER-Derived Vesicles as the Site of MAs Synthesis and Storage in Fe-Deficient Roots of Graminaceous Plants.
The 53rd NIBB Conference Dynamic Organelles in Plants 特定領域研究「植物の環境適応戦略としてのオルガネラ分化」(岡崎コンファレンスセンター)2006.6.14-17

国際(98) ○Yuko OGO, Reiko NAKANISHI ITAI, Hiromi NAKANISHI, Haruhiko INOUE, Takanori KOBAYASHI, Motofumi SUZUKI, Michiko TAKAHASHI, Satoshi MORI, Naoko K. NISHIZAWA
Isolation and characterization of IRO2, a novel iron-regulated bHLH transcription factor in graminaceous plants.
ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ)2006.7.3-7

国際(99) ○Seiji NAGASAKA, Michiko TAKAHASHI, Hiromi NAKANISHI, Satoshi MORI, Naoko K. NISHIZAWA

Microarray analysis for searching genes involved in the MAs secretion in *Hordeum vulgare*.

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(100) ○Takanori KOBAYASHI, Toshihiro YOSHIHARA, Motofumi SUZUKI, Haruhiko INOUE, Reiko NAKANISHI ITAI, Michiko TAKAHASHI, Hiromi NAKANISHI, Satoshi MORI, Naoko K. NISHIZAWA

Regulation of iron-acquisition-related graminaceous genes by iron-deficiency-responsive *cis*-acting elements, IDE1 and IDE2.

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(101) ○Khurram BASHIR, Haruhiko INOUE, Seiji NAGASAKA, Michiko TAKAHASHI, Hiromi NAKANISHI, Satoshi MORI, Naoko K. NISHIZAWA

Cloning and characterization of deoxymugineic acid synthase genes from graminaceous plants.

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(102) ○Tomoko NOZOYE, Haruhiko INOUE, Yasuhiro ISHIMARU, Michiko TAKAHASHI, Hiromi NAKANISHI, Satoshi MORI, Naoko K. NISHIZAWA

Expression analysis of rice genes involved in iron acquisition during seed germination.

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(103) ○Michiko TAKAHASHI, Haruhiko INOUE, Yasuhiro ISHIMARU, Hiromi NAKANISHI, Satoshi MORI, Naoko K. NISHIZAWA

How are metal nutrients transported to the embryo in rice plant?

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(104) ○Takashi AOYAMA, Haruhiko INOUE, Yasuhiro ISHIMARU, Tomoko NOZOYE, Michiko TAKAHASHI, Hiromi NAKANISHI, Satoshi MORI, Naoko K. NISHIZAWA

Functional analysis of *OsYSL18*.

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(105) ○Takashi TSUKAMOTO, Hiromi NAKANISHI, Hiroshi UCHIDA, Tomomi OGUSU, Shingo NISHIYAMA, Satoshi WATANABE, Shinpei MATSUHASHI, Naoko K. NISHIZAWA, Satoshi MORI

Real time visualization of ⁵²Fe and ⁶²Zn translocation in the ear of rice monitored by Positron Emitting Tracer Imaging System (PETIS).

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(106) ○Hiromi NAKANISHI, Yasuyuki WADA, Yasuhiro ISHIMARU, Michiko TAKAHASHI, Kanako USUDA, Satoshi MORI, Naoko K. NISHIZAWA

Engineering of hypotensive foods to contain high amounts of Nicotianamine.

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(107) ○Motofumi SUZUKI, Michiko TAKAHASHI, Takashi TSUKAMOTO, Satoshi WATANABE, Shinpei MATSUHASHI, Junshi YAZAKI, Naoki KISHIMOTO, Shoshi KIKUCHI, Hiromi NAKANISHI, Satoshi MORI, Naoko NISHIZAWA

Biosynthesis and secretion of mugineic acid family phytosiderophores in zinc-deficient barley.

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(108) ○Ippei OGAWA, Hiromi NAKANISHI, Yasuhiro ISHIMARU, Michiko TAKAHASHI, Satoshi MORI, Naoko K. NISHIZAWA
Fe-deficiency enhances Cd uptake and translocation in rice mediated by the Fe²⁺ transporters *OsIRT1* and *OsIRT2*.

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(109) ○Satoshi MORI, Hirohiko SASAMOTO, Tomoya MATSUYAMA
Rice growth in calcareous soil using new iron-supplement fertilizer "TetsuRiki"

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

国際(110) ○Satoshi ITO, Haruhiko INOUE, Takanori KOBAYASHI, Masaki YOSHIBA, Satoshi MORI, Naoko K. NISHIZAWA, Kyoko HIGUCHI,
Interspecies compatibility of the *NAS1* gene promoters.

ISINIP2006(INRA Campus・モンペリエ) 2006.7.3-7

(111) ○長坂征治、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

ムギネ酸類分泌機構に関わる遺伝子の探索 (2)

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム(筑波大学) 2006.7.30-31

(112) ○小林高範、中山優子、吉原利一、鈴木基史、井上晴彦、板井玲子、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

新規の鉄欠乏応答性シスエレメント IDE による鉄欠乏誘導性遺伝子の発現制御

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム(筑波大学) 2006.7.30-31

(113) ○板井玲子、中西啓仁、井上晴彦、小郷裕子、小林高範、高橋美智子、森敏、西澤直子

鉄欠乏誘導性 bZIP 型トランスファクターの単離・解析

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム(筑波大学) 2006.7.30-31

(114) ○中西啓仁、和田泰明、臼田華奈子、石丸泰寛、高橋美智子、山口五十磨、森敏、西澤直子

血圧降下物質ニコチアナミンの応用に関する研究

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム(筑波大学) 2006.7.30-31

(115) ○高橋美智子、井上晴彦、中西啓仁、森敏、西澤直子

生殖器官および種子への金属輸送におけるニコチアナミンおよびムギネ酸の役割

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム(筑波大学) 2006.7.30-31

(116) ○石丸泰寛、鈴木基史、塚本崇志、鈴木和正、中園幹生、小林高範、和田泰明、渡辺智、松橋信平、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

イネの新たな鉄吸収機構

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム(筑波大学) 2006.7.30-31

(117) ○野副朋子、金秀蓮、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子

ダイズの形質転換技術の確立

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム(筑波大学) 2006.7.30-31

(118) ○鈴木基史、高橋美智子、塚本崇志、中西啓仁、森敏、西澤直子

亜鉛欠乏によるムギネ酸類の合成と分泌

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム(筑波大学) 2006.7.30-31

- (119) ○森川クラウジオ健治、鈴木基史、三枝正彦、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
隔離圃場における鉄欠乏耐性イネの生育試験
研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム（筑波大学）2006.7.30-31
- (120) ○塚本崇志、中西啓仁、内田博、小楠智美、西山新吾、渡辺智、松橋信平、西澤直子、森敏
PETIS法によるイネ科植物における鉄 (^{52}Fe) の移行の計測
研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム（筑波大学）2006.7.30-31
- (121) ○小郷裕子、板井玲子、中西啓仁、井上晴彦、小林高範、高橋美智子、森敏、西澤直子
鉄欠乏誘導性 bHLH 型転写因子 OsIRO2 は鉄吸収に関わる遺伝子群を制御する
研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム（筑波大学）2006.7.30-31
- (122) ○増田寛志、小林高範、石丸泰寛、高橋美智子、中西啓仁、吉原利一、高岩文雄、森敏、西澤直子
鉄の吸収・転流機構を強化した高鉄含有米の創製
研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム（筑波大学）2006.7.30-31
- (123) ○小川一平、中西啓仁、石丸泰寛、高橋美智子、森敏、西澤直子
イネのカドミウム吸収は鉄欠乏によって上昇し、この吸収は2価鉄トランスポーターOsIRT1とOsIRT2によっている
研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム（筑波大学）2006.7.30-31
- (124) ○青山貴紘、井上晴彦、石丸泰寛、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
イネのOsYLSL1とOsYLSL15は鉄の吸収・移行に関与している
研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム（筑波大学）2006.7.30-31
- (125) ○長坂征治、高橋美智子、中西啓仁、森敏、西澤直子
ムギネ酸類分泌機構に関わる遺伝子の探索
日本土壤肥料学会 2006 年度秋田大会（秋田県立大学）2006.9.5-7
- (126) ○Khurram Bashir, Yasuhiro Ishimaru, Haruhiko Inoue, Seiji Nagasaka, Michiko Takahashi, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, Naoko Nishizawa
Characterization of Glutathione transporter in rice.
日本土壤肥料学会 2006 年度秋田大会（秋田県立大学）2006.9.5-7
- (127) ○小林高範、吉原利一、板井玲子、中西啓仁、高橋美智子、森敏、西澤直子
オオムギ鉄欠乏誘導性 IDS3 プロモーター遺伝子の単離と分析
日本土壤肥料学会 2006 年度秋田大会（秋田県立大学）2006.9.5-7
- (128) ○小郷裕子、板井玲子、中西啓仁、井上晴彦、小林高範、鈴木基史、高橋美智子、森敏、西澤直子
鉄欠乏誘導性 bHLH 型転写因子 OsIRO2 は鉄吸収に関わる遺伝子を制御する
日本土壤肥料学会 2006 年度秋田大会（秋田県立大学）2006.9.5-7

(129) ○増田寛志、小林高範、石丸泰寛、高橋美智子、中西啓仁、吉原利一、高岩文雄、森敏、西澤直子

鉄の吸収機構を強化した高鉄含有米の創製（第二報）

日本土壌肥科学会 2006 年度秋田大会（秋田県立大学）2006.9.5-7

(130) ○高橋美智子、井上晴彦、石丸泰寛、中西啓仁、森敏、西澤直子

金属元素はどのようにして種子に輸送されるか？

日本植物学会第 70 回（熊本）大会（熊本大学）2006.9.13-16

(4)特許出願

①国内出願 (9 件)

(1) ニコチアナミン合成酵素、それをコードする遺伝子

(発明者) 森 敏、樋口恭子、鈴木一矢、西澤直子、中西啓仁

(出願人) 科学技術振興事業団

特願平 10-137685

(2) 鉄欠乏耐性イネ科作物の創製

(発明者) 森 敏、西澤直子、中西啓仁、高橋美智子

(出願人) 科学技術振興事業団

特開 2001-017012

(3) 組織特異的・環境ストレス特異的プロモーター

(発明者) 西澤直子、森敏、井上晴彦、中西啓仁

(出願人) 科学技術振興事業団

特願 2002-177943

(4) イネの鉄などの金属錯体の吸収や輸送に関与するトランスポーター、その遺伝子

(発明者) 西澤直子、森敏、水野大地、小池慎太郎

(出願人) 科学技術振興事業団

特願 2003-335355

(5) 植物の鉄欠乏応答性及び/又は根特異的発現を付与するシスエレメント

(発明者) 西澤直子、森敏、小林高範、吉原利一

(出願人) 科学技術振興事業団・財団法人電力中央研究所

特願 2003-177063

(6) 新規なニコチアナミン合成酵素、及びそれをコードする遺伝子

(発明者) 西澤直子、森敏、潮洋平

(出願人) 科学技術振興事業団

特願 2003-70926

(7) 2 “-ヒドロキシニコチアナミン及びその製造方法

(発明者) 吉川啓輔、北原武、青柳康夫、西澤直子

(出願人) 長谷川香料株式会社

特願 2004-38331

(8) 植物の形質転換用ベクター
(発明者) 西澤直子、森敏、中西啓仁
(出願人) 独立法人科学技術振興機構
特願 2005-9600

(9) デオキシムギネ酸合成酵素およびその利用
(発明者) 西澤直子、森敏
(出願人) 独立法人科学技術振興機構
特願 2006-218548

(5) 受賞等

① 受賞

1. 受賞日：平成 17 年 9 月 6 日
名 称：日本土壌肥料学会奨励賞
受賞者：高橋 美智子
2. 受賞日：平成 17 年 11 月 28 日
名 称：日本農学会進歩賞
受賞者：高橋 美智子
3. 受賞日：平成 18 年 4 月 4 日
名 称：日本土壌肥料学会奨励賞
受賞者：小林 高範

② 新聞報道

1. 報道日：平成 17 年 4 月 10 日
社 名：読売新聞
見出し：「アルカリ土壌でも育つイネ 東北大と東大
遺伝子組み換えで来月から鳴子で実験」
2. 報道日：平成 17 年 4 月 10 日
社 名：河北新報
見出し：「アルカリ土壌で育つ遺伝子組み換えイネ 東北大が栽培試験へ
鳴子圃場で説明会 研究への理解求める」
3. 報道日：平成 17 年 10 月 20 日
社 名：毎日新聞
見出し：「遺伝子組み換えイネ：東北大・三枝教授、GMイネを収穫
―不穏な動きなく／宮城」
4. 報道日：平成 18 年 10 月 25 日
社 名：毎日新聞
見出し：「イネ科の鉄分吸収助ける遺伝子特定 やせ地で米収量増」

5. 報道日：平成 18 年 10 月 25 日
社 名：日本肥料新聞
見出し：「機能の付加 形質転換稲で 葉面散布剤に応用も可能 世界初 特殊酵素を
特定／東大」
6. 報道日：平成 18 年 10 月 25 日
社 名：日刊工業新聞
見出し：「植物の鉄分取り込み 吸収促す遺伝子発見／東大」

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

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H15.1.6	第 2 回ニコチアナミン研究会	研究領域 事務所会 議室	20 人	ニコチアナミンの機能性食品・ 医薬品へ向けての展開
H16.4.12 ～15	XIII International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants	東京大学 農学部 弥生講堂	200 人	植物における鉄栄養と相互作用 に関するシンポジウム

8 結び

研究開始当初の目標は達成できたと考える。加えて本プロジェクトの進展に伴って、当初は予想していなかった多くの課題が生まれ、現在も研究は発展進行中である。本研究資金の投入により、植物の鉄栄養に関する研究分野の進展に貢献できたことを実感している。野外隔離圃場における形質転換イネの生育検定は、このプロジェクトによる研究費がなければ、実現不可能であっただろう。

プロジェクトの研究期間中、心おきなく研究に没頭できる環境を与えてもらえたことに感謝したい。特に CREST 研究員の雇用を始めとする人件費を継続して確保できたことは、研究推進の大きな原動力となった。また、研究期間の終盤において「男女共同参画推進事業に係る研究者支援制度」が制定されたことにより、このプロジェクトに参加した女性研究員が、産休に加えて育児休業を取得できたこと、また復帰後に研究費の支援を受けたことはありがたかった。しかし、育児休業復帰後の支援制度としては、研究費の支援よりも、休業期間と同程度の雇用延長が可能になるような制度の方が、任期付きの研究員にとっては望ましいのではないだろうか。その意味でも「発展研究」の事業が中止になったことは非常に残念であった。

「人類生存の基盤」である食糧生産を担う植物の研究は、今後も戦略的創造研究推進事業の対象として是非継続して欲しいと切望する。

研究期間中、領域事務所を始めとする科学技術振興機構の方々、また秋田サテライトラボに大変お世話になったことを感謝する。

プロジェクトの研究参加者としては列記していないが、多くの大学院学生と卒論生の

献身的な働きがあったことも記して感謝したい。さらに、PETIS 実験は日本原子力研究開発機構の松橋信平博士、久米民和博士、LC/ESI-TOF-MS によるニコチアナミン高感度測定法の開発は、東京大学大学院農学生命科学研究科の山口五十磨名誉教授との共同研究であり、測定に際しては永田晋治博士のご協力も得た。東北大学大学院農学研究科付属複合生態フィールド教育研究センターにおける「アルカリ土壌耐性遺伝子組換え水稻隔離圃場試験実施（第1種使用）に関する公開説明会」の開催にあたっては、その準備から公開説明会の当日まで、独立行政法人農業資源生物研究所遺伝子組換え技術開発・情報センター長の田部井豊博士に貴重なご助言を頂いた。同研究所ゲノムリソースセンター長の長村吉晃博士には、イネのマイクロアレイ解析、ゲノムリソース提供にご協力頂いた。研究推進において不可欠であったニコチアナミンとデオキシムギネ酸標品の化学合成は、東京大学大学院農学生命科学研究科の北原武名誉教授によるものである。その他にも多勢の方がたのご協力に支えられて研究が達成できたことに深く感謝したい。



2006年5月田植え完了後の写真。初日は天候に恵まれましたが、2日目は雨になりました。10月の収穫作業も初日は晴れ、2日目には雨。このときばかりでなく、なぜか森敏名誉教授が参加するフィールド試験の日は必ず雨でした。