

## 植物におけるホウ酸輸送の分子機構と制御

田中真幸<sup>1</sup>, 三輪京子<sup>2</sup>, 藤原徹<sup>3</sup>

ホウ素は植物の生育に必須な微量元素であるが、土壌中のホウ素濃度が高いと、植物に毒性を示す。そのため植物の成長にとって最適なホウ素濃度環境を維持することが生産性を高める上で重要となる。21世紀に入り植物のホウ素輸送機構が飛躍的に解明されてきており、ホウ素の輸送には脂質二重層を介した受動拡散、チャンネルを介した促進輸送、トランスポーターを介した能動輸送の三つの膜輸送機構が関与し、それぞれを担う遺伝子が同定されている。またこれらの膜輸送体の制御機構も解明されつつあり、輸送体を利用した低ホウ素濃度条件や過剰ホウ素濃度条件に耐性な植物の作出にも成功している。これらの成果は世界に広がるホウ素濃度が低い地域やホウ素濃度が高い地域でも効率的にホウ素を吸収・輸送し、生産性を高めることができるような作物の開発につながるものと考えている。

### はじめに

ホウ素は植物の必須元素であることが知られていたがその生化学的知見は限られていた。この10年余りの間に、ホウ素の輸送機構や生化学が著しく発展した。本稿ではホウ素の輸送を中心に最近の研究成果をまとめた。

#### 1. ホウ素の物理学的および化学的な特性

ホウ素(B)は原子番号5番、第13族元素の一つである。

<sup>1</sup> 東京大学生物生産工学研究センター (〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1)

<sup>2</sup> 北海道大学創成研究機構 (〒001-0021 札幌市北区北 21 条西 10 丁目)

<sup>3</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻 (〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1)

Molecular mechanism and regulation of boric acid transport in plants

<sup>1</sup> Mayuki Tanaka (Biotechnology Research Center, The University of Tokyo, 1-1-1, Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan)

<sup>2</sup> Kyoko Miwa (Creative Research Initiative Sousei, Hokkaido University, N-21, W-10, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 001-0021, Japan)

<sup>3</sup> Toru Fujiwara (Graduate School of Agricultural and Life Science, Department of Applied Biological Chemistry, The University of Tokyo, 1-1-1, Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan)

13族元素にはアルミニウム、ガリウム、インジウム、およびタリウムがあるが、唯一ホウ素のみが半金属の性格を有する非金属(メタロイド)に属し、その化学的特性もその他の13族元素とは異なる。ホウ素の他にケイ素、ヒ素、ゲルマニウム、アンチモンなどがメタロイドに属する。ホウ素は2種類の安定同位体、<sup>10</sup>B (19.8%)と<sup>11</sup>B (80.2%)から成る<sup>1-3)</sup>。

ホウ素は小さな原子で、価電子が3個の3価元素である。その特徴としては、様々な元素と化合物を形成することが挙げられる。まず、ホウ素が水素と結合した場合、多種の水素化合物、ボラン(borane)類を形成する。ボラン単体ではオクテット則を満たさず不安定であるので、三中心二電子結合(B-H-B; 1個の水素原子が2個のホウ素原子と結合している)を形成し、二量体のジボラン(B<sub>2</sub>H<sub>6</sub>)として安定化する。ジボランは可燃性があり、空气中(発火温度; 38~52℃)で爆発的に燃焼する。燃焼によりホウ素原子と水素原子の結合が切断されると、大きなエネルギーが放出される。そのため、ロケット推進剤として使用される。その他の用途として、半導体製造用、オレフィン重合触媒、ゴム加硫剤、還元剤などがある<sup>1,4)</sup>。

またホウ素はハロゲン化物を生成する。三フッ化ホウ素などの三ハロゲン化ホウ素は共有結合をしており電子欠損型化合物である。そのため三ハロゲン化ホウ素はルイス酸として働き、塩基と錯体を形成し、安定化合物を形成す

る。三フッ化ホウ素は腐食性があり有機合成の触媒、ジボランの製造、中性子線の計測装置などに用いられる<sup>1,4)</sup>。

ホウ素のオキソ酸がホウ酸であり、非常に弱い酸（ルイス酸  $pK_a$  9.24  $[B(OH)_3 + H_2O = B(OH)_4^- + H^+]$ ）である。大部分の土壌でみられる中性付近の pH では、ホウ素は無電荷のホウ酸  $(B(OH)_3)$  として存在している。また、植物細胞の細胞質内の pH は概ね 7.5 付近であり、98% 以上のホウ素が  $B(OH)_3$ 、残りの 2% 以下が  $B(OH)_4^-$  として存在すると考えられる。一方、細胞外の pH は概ね 5.5 付近であり、99.5% 以上のホウ素が  $B(OH)_3$ 、残りの 0.05% 以下が  $B(OH)_4^-$  として存在すると考えられる<sup>5)</sup>。ホウ酸はエステル結合により様々なモノ-, ジ-, ポリ-ヒドロキシル化合物を形成できる。そのため、ホウ素は生物学的に重要な物質、例えば、多糖類、ピリドキシン、リボフラビン、デヒドロアスコルビン酸、ピリジンスクレオチドなどと容易に結合することができる。糖類の中でもシス-ジオールを有する糖類（アピオースやリボース）はホウ酸やホウ酸塩と相互作用しやすく、ホウ酸エステル錯体を形成する。その中のアピオースは維管束植物の細胞壁に存在する分枝糖の一種である。またニコチンアミドアデニンジヌクレオチド ( $NAD^+$ ) やニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 ( $NADP$ ) は光合成経路あるいは解糖系のエントナー・ドウドロフ経路などで用いられている電子伝達体であるが、この構成成分にはリボースが含まれている。ホウ酸が  $NAD^+$  や  $NADP$  中のリボースと結合すれば、代謝経路に多大な影響を及ぼしてしまう。これらのホウ酸エステル化合物は pH 依存的な平衡状態や動力学によって容易に結合したり、解離したりする。そのため、様々な要因がこのホウ酸エステル錯体の安定性に影響を及ぼすと考えられる。一般的に pH が高くなるにつれてホウ酸エステル錯体の安定性が増すことが知られている。以上のように、ホウ素は生物のたくさんの代謝産物や酵素と反応することができる、独特な化学的特性を持つ元素である<sup>6)</sup>。

## 2. 自然界におけるホウ素

ホウ素は自然界に広く分布し、主にホウ酸塩として存在している。海洋、堆積岩、石炭、頁岩などでは特にホウ素の含有量が高く、地殻では約 10 mg/kg（玄武岩で約 5 mg/kg、頁岩で約 100 mg/kg）、海洋では約 4.5 mg/L の濃度で存在している。ホウ素は海水の蒸発、岩石の風化、火山活動、石炭の燃焼、森林火災、または商業的な製品の生産工程によって環境中に放出される。人為的なホウ素の発生源としては、ガラス、セラミック、洗剤および農業肥料の生産・製造などがあげられる。65-85% の大気中のホウ素は主に海洋由来であり、残りの 7-18% が海水以外の由来である。おおよそ 18-53 億 kg のホウ素が毎年大気中に放出されていると考えられているが、ホウ酸塩の揮発性

は低く、ホウ素含有粒子は比較的水溶性が高いため雨や重力により降下しやすく、ホウ素の大気中濃度は低いと考えられている<sup>1,6)</sup>。

ホウ素鉱石 ( $Na_2B_4O_7 \cdot 8H_2O$ ) を保持している国は主にアメリカ（カリフォルニア）、トルコ、ロシアの乾燥地帯で、世界のホウ素資源の 80% 以上がこれらの地域により生産されている。世界各地でのホウ素濃度の様々な分布は 10-300 mg/kg であり、土壌の種類、pH、温度、塩濃度、粘土含量、有機物の量や降雨量などに影響を受ける<sup>6)</sup>。

## 3. 農業地帯のホウ素

ホウ素は植物にとって必須な微量元素である。しかしながら、日本、中国、アメリカ、ブラジルなどの多くの地域では土壌中のホウ素濃度が低いことが報告されている。これらの地域は共通して降雨量が多い。降雨量が多い地域は土壌中のホウ素濃度が低くなりやすい。その主な理由として、土壌中に存在するホウ素は電荷を持たないホウ酸の形で存在しているため、土壌に保持されにくく、雨水により簡単に土壌から溶脱されてしまうためである<sup>7,8)</sup>。一方、半乾燥・乾燥地域では、土壌中のホウ素濃度が高くなりやすい。これは乾燥による地表面での水分の蒸発により、地下水水位面からの毛管水が表層土に到達し、ホウ素が表層土に集積してしまうためである。南オーストラリア、エジプト、イラク、ヨルダン、リビア、モロッコ、トルコ、西アメリカ（カリフォルニア）やチリなどの国や地域では土壌中のホウ素濃度が高く、植物のホウ素過剰症が問題となっている<sup>9,10)</sup>。

## 4. ホウ素の欠乏・過剰症

Warrington はソラマメ (*Vicia faba*) をホウ素の含まない培地で育てると、根の伸長が抑制され葉も小さく濃い緑色になるが、その植物にホウ素を与えることのみによって、それらの形質はみられなくなり、成長が回復することを発見した<sup>11)</sup>。これはホウ素が植物の生育に必須な微量元素であることを初めて示した論文である。一方、土壌中にホウ素が高濃度で存在すると、植物に毒性を示すことが知られている。そのため植物の生産性を高めるには、植物の成長にとって最適なホウ素濃度環境を維持することが重要である。

ホウ素が植物の成長にとって不足しているときの感受性は植物種間あるいは品種間によって異なる。それはホウ素の要求量や吸収能が種間、品種間で異なっているためである。一般的に単子葉植物、特にイネ科植物よりも双子葉植物の方がホウ素要求量は高い。植物のホウ素欠乏症は、主に成長点付近で観察される。根の伸張が抑制され、葉の中でも若い葉から先に枯れはじめる<sup>2)</sup>。これはホウ素が土壌から吸収された後、蒸散流に従って地上部へ運ばれること

が原因の一つであると考えられる。ホウ素濃度が低い土壤の場合、蒸散流に沿って運ばれたホウ素が地上部において、蒸散の高い成熟した葉へ優先的に輸送されてしまい、蒸散の低い未成熟な若い葉へのホウ素の輸送が相対的に低くなってしまふ。生殖成長期においても、蒸散の低い組織でホウ素欠乏症が生じるため、花や種子の生育に影響を及ぼし、頂芽優勢が失われたり、不稔になることが知られている。頂芽優勢とは主茎の最先端にある芽（頂芽）の成長が活発に行われている間は葉脈から出るわき芽（側芽）の成長が抑制される現象をさす。また、土壤中のホウ素不足は作物の収量の減少と品質低下をもたらす<sup>7,12)</sup>。

土壤中のホウ素が過剰に存在するときの植物の耐性に関しても植物種、品種間によって異なる。ホウ素過剰症を示す葉のホウ素含量は、トウモロコシよりもホウレンソウのほうが10倍高く、コムギでは品種間によってその耐性レベルは異なる。一般的に土壤中のホウ素が過剰に存在すると、展開した葉の周縁部分が黄化し、壊死する。これは蒸散流によって輸送されたホウ素が、葉の周縁部分に蓄積していくためであり、特に蒸散の高い成熟した葉で見られやすい<sup>2,13)</sup>。

## 5. ホウ素の植物における役割

植物体内でのホウ素の分子レベルにおける役割が初めて証明されたのが、1990年代になってからである。その役割とは、細胞壁の構造維持機能である。植物の細胞壁の主要構成成分はセルロース、ヘミセルロース、ペクチン多糖である。ペクチン多糖はセルロースなどの他の構成成分と結合して植物細胞をつなぎ合わせる細胞接着の役割を果たしている。

ペクチン多糖にはホモガラクトロナン (HG)、ラムノガラクトロナン I (RG-I)、ラムノガラクトロナン II (RG-II) の3種類が知られている。ペクチン多糖のうち、RG-IIは分子量が約5,000であり、(1,4)- $\alpha$ -D-ガラクトロナンを主鎖に、多様な構成糖から成る側鎖が結合している。その側鎖を構成する糖の中にアピオースが含まれている。上述したように、アピオースはシス-ジオールを有する糖である。2分子のRG-IIの側鎖にあるアピオースのジオール基と1分子のホウ酸がエステル結合することでペクチン多糖を架橋していることが明らかとなった<sup>14)</sup>。小林らは、RG-IIがホウ酸アニオンとエステル結合することによって、RG-II-ホウ素二量体を形成することを実験的に示した<sup>15)</sup>。また、O'NeillらはシロイヌナズナのL-フコース-欠損変異体 *mur1* の解析から、ホウ酸アニオンがRG-IIを架橋することが葉の正常な展開に重要であることを示した<sup>16)</sup>。

長らくホウ素は植物にとってのみ必須な元素と考えられてきた。これはホウ素が植物細胞壁で機能するという知見と一致するものであった。しかし近年になって、微生物、

動物、人間を含めた真核生物にとってもホウ素が必須元素であることが示されてきており、ホウ素が生物一般にとって重要な役割を果たしていることが示唆されている<sup>17-19)</sup>。特定の微生物が生産する抗生物質やクオラムセンシング（菌体密度を感知してコントロールする機構）のためのシグナル物質 (AI-2) のシデロフォアにホウ素が含まれていることも報告されている。現段階では、植物細胞壁を持たない生物におけるホウ素の分子レベルでの役割は明らかでない。

## 6. 植物におけるホウ素の吸収、輸送、移行

植物はホウ素を無電荷のホウ酸の形で土壤中から吸収すると考えられている。ホウ素は長らく濃度勾配に従った受動拡散によってのみ植物体の細胞膜を透過すると考えられていた。なぜなら、分子が小さく、無電荷のホウ酸は膜透過性が高いと考えられてきたからである<sup>20)</sup>。ホウ素は根によって植物体内に吸収された後、導管へ積み込まれ、地上部へ輸送される。この導管による長距離輸送は地上部の蒸散に依存しており、ホウ素はその蒸散流によって地上部へ輸送されていく<sup>21)</sup>。

一度植物組織に運ばれたホウ素は大部分の植物種においてあまり再転流しない。ホウ素欠乏症が見られる組織は主に若い葉や肥大中の組織であり、ホウ素過剰症が見られる組織は主に成熟した古い葉である。蒸散流に沿って輸送されたホウ素は再転流することなく同じ組織に止まるため、土壤中のホウ素濃度が低い条件では若い葉へのホウ素供給が不十分になり、土壤中のホウ素濃度が高い条件では古い葉の周縁部に過剰に集積してしまう。一方、ある種の植物（リンゴ、アーモンド、モモ、セイヨウスモモなど）では植物体内でホウ素を効果的に再分配することができることが知られている<sup>22)</sup>。通常、ホウ素を再分配できない植物では、土壤中のホウ素濃度が低い条件において、ホウ素濃度は成熟した大きな葉ほど高く、若い未成熟な葉ほど低くなっている。一方、ホウ素を効率的に再分配できる植物では、土壤中のホウ素濃度が低い条件においてもホウ素濃度は葉の大きさにかかわらずほぼ均一であり、若い葉のホウ素濃度のほうが相対的に古い葉よりも高くなることが示されている。これらの植物種は共通して糖アルコール（マンニトールやソルビトールなど）を植物体内で生成し光合成産物の転流に利用している。これらの糖アルコールはシス-ヒドロキシル基を有し、ホウ酸と容易に結合することができる。ホウ素が糖アルコールと結合し、複合体を形成すると、ホウ素の篩管を通じた輸送が可能となると考えられる。Huらはセロリー (*Apium graveolens* L.) の篩管抽出液中のホウ素の化学形態を調べ、ホウ素がマンニトール、ソルビトールやフルクトースのような結合基と安定的な複合体を形成していることを示した<sup>23)</sup>。また、リンゴ由

来のソルビトール合成酵素を、ソルビトール合成能を持たないタバコ (*Nicotiana tabacum*) に導入し得られた形質転換植物をホウ素濃度が低い土壌で育てると、非形質転換植物に比べて、よりよく成長することが示された<sup>24)</sup>。形質転換植物では篩管を通じて、ホウ素とソルビトールの複合体を形成することでホウ素を効率的に再分配していることが示された<sup>24)</sup>。

さらに最近の研究においては、糖アルコールを生成しない植物においても、若い葉へ優先的にホウ素を分配している例が報告されてきている。シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)<sup>25,26)</sup>、セイヨウアブラナ (*Brassica napus* L.)<sup>27)</sup>、そしてヒマワリ (*Helianthus annuus* L.)<sup>28)</sup>で報告されている。この現象は主にホウ素濃度が低い土壌においてのみ観察され、ホウ素が土壌中に十分にある条件では観察されない。糖アルコールを合成しない植物ではホウ素が糖複合体として転流しているとは考えにくく、ホウ素欠乏条件下で若い未成熟な葉などのシンク組織 (光合成産物などを受け入れる器官) へホウ素を優先的に輸送する何らかの機構が存在していることを示唆している。

## 7. ホウ素の吸収と輸送の分子機構

物質が植物に取り込まれ、さらに植物体内を移動するためには生体膜を横切る必要がある。上述したように、ホウ酸は無電荷の小分子であり拡散によって生体膜を拡散透過できる。ホウ素が十分に存在する条件下においては受動的な輸送は植物の要求を満たすのに有効であるが、ホウ素濃度が低い環境においては、生体内のホウ素の効率的な移動には膜タンパク質が重要な役割を担っていることが最近報告されている。現在、ホウ素の輸送に関わっていると考えられる膜タンパク質はトランスポーター (*BOR* 遺伝子群) とチャンネル (*NIP* 遺伝子群) がある (図1)。トランスポーターは構造変化を起こし特定の基質の膜輸送を担うタンパク質であり、一般に濃度勾配に逆らって物質を輸送させる。一方チャンネルは分子またはイオンを通過させるための孔 (穴) を形成し、イオンや分子の濃度勾配に従い輸送させる。以下ではこれらの三つの輸送機構について研究の経緯を含めて概説する。

### 7.1 脂質二重層を介した受動拡散

ホウ素は中性の水溶液中において無電荷の小分子である

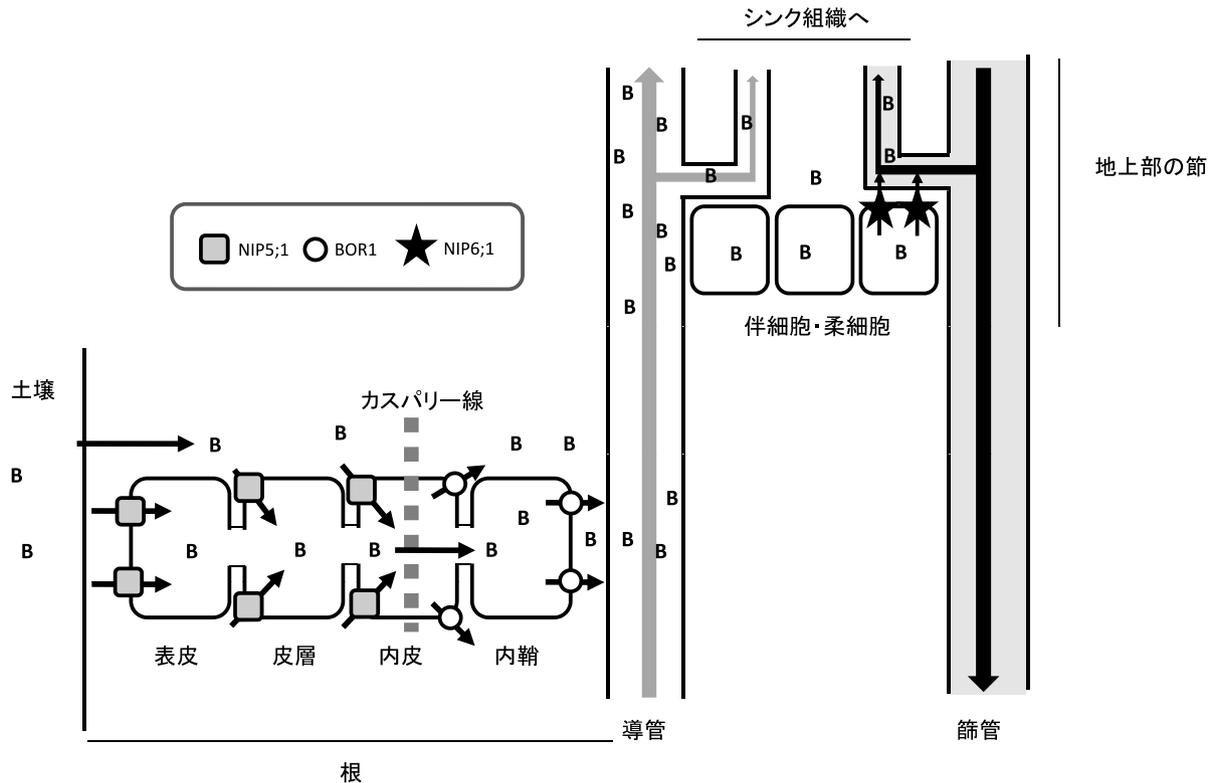


図1 シロイヌナズナの低ホウ素濃度条件下におけるホウ素の輸送モデル

低ホウ素濃度条件下において、NIP5;1は土壌から効率的にホウ素を輸送するために表皮、皮層で強く発現し、BOR1は内皮、内鞘で強く発現することで送られてきたホウ素を導管へ積み込んでいる。導管を経由して根から地上部へホウ素が輸送されると、地上部の節にある篩管伴細胞や柔細胞で強く発現しているNIP6;1により、ホウ素が一部導管から篩管へ移動し若い組織へ分配される。

ホウ酸として存在し、電荷を持つイオンに比べて脂質二重層を透過しやすい。Ravenはその理論的なホウ酸の脂質膜透過係数をエーテルと水に対するホウ酸の分配係数から算出し、 $8 \times 10^{-6} \text{ cm S}^{-1}$ とした<sup>20)</sup>。この理論値に基づく、低ホウ素条件(数  $\mu\text{M}$ )でも脂質二重層を介した受動拡散によって十分なホウ素が供給されると推定される。一方では植物によるホウ素の吸収量は植物種間、品種間によって大きく異なることが知られていた<sup>2,12)</sup>。植物が受動拡散のみでホウ素を吸収し、蒸散流によって地上部で移行されるのであるならば、これらの種間、品種間でのホウ素の吸収量は受動拡散速度の違いによるものであるはずである。2000年になり、Dordasらは、人工リポソームを用いてホウ酸の膜透過係数を測定した。その結果、リン脂質の種類や脂肪酸の鎖の長さなど膜脂質の化学的組成を変えるとホウ酸の膜透過係数も変化することが明らかとなった<sup>29)</sup>。次に彼らは生体膜を用いてホウ酸の脂質膜透過係数を測定した。ズッキーニ (*Cucurbita pepo*) の根から膜小胞を単離し、その透過係数を調べると、 $3.9 \times 10^{-8} \text{ cm S}^{-1}$ であった<sup>30)</sup>。またStangoulisらはシャジクモ (*Chara corallina*) から単離した細胞膜でホウ酸の透過係数を調べると、 $4.4 \times 10^{-7} \text{ cm S}^{-1}$ であった<sup>31)</sup>。これらの結果はRavenが推定した理論値よりも20-300倍程度低い値であった。ホウ酸の膜透過係数は生体膜の脂質の構成によって異なること、実際の生体膜でのホウ酸の透過係数はかなり低いことが明らかとなった。植物種間・品種間でのホウ素の吸収量の違いは生体膜の脂質構成の違いの一部起因している可能性が示唆された。また、実際の植物生体膜のホウ素透過性が低いことから、ホウ素濃度が低い培地では受動拡散のほかに積極的なホウ素の吸収機構が植物に存在することが推測された。

## 7.2 BORによるホウ素の積極的な輸送

Dannelらは安定同位体<sup>10</sup>Bを用いてホウ素濃度が低い条件における、ヒマワリのホウ素吸収についてのトレーサー実験を行った。1  $\mu\text{M}$  <sup>10</sup>Bの低ホウ素濃度条件の培地で育てたヒマワリを様々な<sup>10</sup>B濃度の培地に移して2時間後の<sup>10</sup>B濃度を測定したところ、根の水溶性画分中の<sup>10</sup>B濃度は培地中の濃度より高く、さらに導管液中の<sup>10</sup>B濃度は根の水溶性画分中より高い値を示した。一方、100  $\mu\text{M}$  <sup>10</sup>Bのホウ素濃度が十分にある条件で前処理し、同様の吸収実験を行った場合には、導管液中の<sup>10</sup>B濃度と根の水溶性画分中の<sup>10</sup>B濃度に違いは見られなかった<sup>32)</sup>。つまり、低濃度のホウ酸で処理した根においては、土壌から積極的にホウ素を取り込む輸送機構および積極的にホウ素を導管へ積み込む輸送機構が存在するが、ホウ素が十分にある条件では受動拡散による輸送のみが行われていることが推察された。さらにDannelらはヒマワリを、Stangoulisらはシャジ

クモを用いて、<sup>10</sup>Bを使ったホウ素の吸収能を測定したところ、それぞれの $K_m$ 値(ミカエリス定数)は15  $\mu\text{M}$ と2  $\mu\text{M}$ であった。この $K_m$ 値は植物の他の必須元素に対する高親和性の輸送機構の $K_m$ 値とあまり違いがなく、この結果からも、ホウ素にも高親和性の輸送体が存在することが示唆された<sup>33,34)</sup>。

1997年、シロイヌナズナにおいて野口らにより一つの変異株が単離された。その変異株はホウ素濃度が低い条件において地上部の生育が野生型に比べて著しく劣るが、十分なホウ素条件では野生型と比べてもその生育に違いがないという変異株であった<sup>35)</sup>。そこで、この変異株をboronにちなんで*bor1-1*と名付けた。この*bor1-1*変異株はホウ素濃度の低い条件において、ロゼット葉と花茎のホウ素濃度が野生型に比べて著しく低下していることがわかった。さらに*bor1-1*変異株の地上部、導管液、根の水溶性画分をホウ素濃度が低い条件および十分条件で測定したところ、ホウ素濃度が低い条件においてのみ、そのホウ素濃度は野生型植物に比べて減少しており、それぞれ野生型と比較して25%、30%、65%の低下となった<sup>25)</sup>。これらのことから*bor1-1*変異株は根から地上部へのホウ素の輸送に関わる遺伝子が欠損していると考えられた。また、地上部におけるホウ素の分配を<sup>10</sup>Bを用いた吸収実験を行い検証したところ、ホウ素濃度の低い条件において、野生型株では優先的にホウ素を若い葉へ分配しているのに対し、*bor1-1*変異株ではそのような傾向がみられなかった。このことから、この遺伝子はホウ素を根から地上部へ積極的にホウ素を輸送するのに重要な遺伝子であるとともに、地上部での若い葉への優先的なホウ素の分配にも関わっている遺伝子であることが明らかとなった<sup>26)</sup>。2002年になり、*bor1-1*変異株の原因遺伝子がmap based cloningによって同定され、*BOR1*と名付けられた<sup>36)</sup>。*BOR1*は10回の膜貫通領域を持つと推定される膜タンパク質であり、ヒトAnion Exchanger(陰イオン交換体)SLC4に相同性を持つ。陰イオン交換体1はバンド3としてよく知られており、赤血球において研究が進んでいる。*BOR1*の酵母での吸収実験において、*BOR1*を発現させた酵母では、その酵母内のホウ素濃度は著しく低下した。また、*BOR1*は細胞膜に局在した。これらのことから*BOR1*は細胞膜に局在する排出型のトランスポーターであることが示唆された。また、プロモーター活性は根の内鞘細胞で強く検出された。これより、*BOR1*は、低ホウ素条件下の根において、シンプラスト(細胞内)経由で輸送されてきたホウ素を導管へ効率的に排出するのに重要な役割を担っていると考えられた(図1)。

その後、*BOR1*のmRNAは根でも地上部でも発現しているが、そのmRNA蓄積量はホウ素の添加による影響は受けない。つまり*BOR1*は環境中のホウ素濃度による転

写レベルでの発現制御を強く受けていないことが示された。一方、ホウ素を十分量与えると、BOR1 タンパク質の蓄積量は減少する。つまり BOR1 はホウ素濃度に依存したタンパク質レベルでの制御、転写後制御を受けていると考えられた。BOR1 の挙動を観察するため、恒常的な発現を誘導するカリフラワーモザイクウイルス 35S RNA プロモーター (CaMV 35S promoter) 制御下で BOR1-GFP タンパク質を発現させる形質転換植物が作出された。GFP 蛍光を指標に BOR1-GFP の挙動をホウ素濃度が低い条件および十分条件下において観察したところ、ホウ素濃度の低い条件において BOR1 は細胞膜に蓄積しているのに対し、ホウ素が十分にある条件においてはエンドサイトーシス経路で選択的に細胞内部へ移行し、液胞内で分解されることが明らかとなった<sup>37)</sup>。この制御は、毒性を持ちうる高濃度のホウ素の地上部への輸送を制限するための機構と考えられ、ホウ素ホメオスタシスを維持するために非常に洗練された制御機構であると思われる。

シロイヌナズナ *BOR1* の相同遺伝子は植物だけでなく、真核生物にも広く存在している。2007 年、*BOR1* の相同遺伝子がイネにおいて同定され、*Os BOR1* と名付けられた<sup>38)</sup>。イネの *BOR1* も排出型のトランスポーターであり、根でのホウ素の導管への効率的な排出とともにホウ素の土壌からの効率的な吸収にも重要な遺伝子産物であった。*Os BOR1* はホウ素条件によって根の中での発現する組織を特異的に変化させていた。つまり、ホウ素濃度が低い条件において *Os BOR1* は、根の表皮に近い細胞で発現し、ホウ素を効率的に吸収する役割を担っているのに対し、ホウ素が十分にある条件では、比較的中心柱に近い細胞で発現し、ホウ素を導管へ排出するために重要な役割を担っていることが示された。

また、植物におけるホウ酸トランスポーター *BOR1* の同定を契機として、植物以外でもホウ酸トランスポーターが次々に同定され始めている。シロイヌナズナ *BOR1* に相同性を示す哺乳類の NaBC1 ( $\text{Na}^+$ /borate cotransporter, Slc4a11) はホウ酸トランスポーターであることが示され、動物界で最初のホウ素トランスポーターの同定となった<sup>39)</sup>。出芽酵母におけるシロイヌナズナ *BOR1* 相同遺伝子 *BOR1p* は細胞膜に局在するホウ素排出型トランスポーターをコードしており、高濃度のホウ素に対する耐性付与に機能している<sup>40)</sup>。

さらに、シロイヌナズナに存在する *BOR1* の相同遺伝子 *BOR4* が同定された<sup>41)</sup>。*BOR4* は *BOR1* とは異なりホウ素十分条件においてもそのタンパク質は蓄積したままとなっている。また、その局在も、根の表皮の細胞膜中の、特に外側 (遠心側) に極性を持って局在していることが明らかとなった。そこで CaMV 35S プロモーターを用いて *BOR4* を過剰発現させるような形質転換シロイヌナズナを

作出しその生育を観察したところ、野生型ではホウ素過剰症によりほとんど生育できないようなホウ素が多量にある培地 (10 mM B) で、野生型と比較して顕著に生育の改善がみられた。またこの形質転換植物の根と地上部のホウ素濃度は野生型に比べて有意に低下していた。これらのことから、*BOR4* の過剰発現体は植物体内に入ってくる過剰なホウ素を体外に排出する機能が強化され、ホウ素過剰に耐性を示すようになったと考えられる。

このように、細胞膜に局在する排出型トランスポーターは、ホウ素濃度が低い環境で生育に必要なホウ素を効率的に導管へ濃縮する *BOR1* 型とホウ素濃度が高い環境で有毒なホウ素を細胞外へ排出する *BOR4* 型の二つのタイプに機能分化していると考えられる。

### 7.3 ホウ酸チャンネル NIP によるホウ素の促進輸送

ホウ素を導管へ効率的に輸送するホウ酸の排出型トランスポーター *BOR1* が同定されて以降、*BOR* 以外のホウ素輸送に関わる分子は発見されていなかった。しかしながら、様々な状況証拠によって major intrinsic protein (MIP) 群の中にホウ素を輸送するタンパク質が存在する可能性は *BOR1* が同定される数年前から指摘されていた。この MIP の中には無電荷の低分子の輸送を促進することができるタンパク質が存在するため、ホウ素も無電荷のホウ酸として、MIP によって輸送・吸収されているのではないかと考えられた。

MIP は水チャンネル (アクアポリン) を含む巨大なスーパーファミリーを形成している。1990 年代前半、28 kDa の channel forming integral protein (CHIP28) が初めて膜内在性タンパク質として、ヒトの赤血球膜から同定された。アフリカツメガエルの卵母細胞を用いた実験において、CHIP28 の水の透過能が示された。この CHIP28 が最初に同定された水チャンネルタンパク質であり、現在 CHIP28 はアクアポリン 1 (AQP1) と呼ばれている<sup>42)</sup>。この AQP1 が発見されて以降、たくさんのアクアポリン遺伝子が次々に同定され、巨大な MIP スーパーファミリーの存在が明らかにされた<sup>43)</sup>。MIP ファミリーの基本構造は、6 回の膜貫通領域を持ち、一般的には ar/R (芳香族/アルギニン: aromatic/arginine) 選択フィルターおよび、前半と後半に 1 回ずつの NPA モチーフ (Asn-Pro-Ala モチーフ) を持つ。以下で MIP の構造に関してもう少し詳しく説明を加える。MIP ファミリーの中のいくつかのタンパク質に関して、その立体構造が X 線構造解析を用いて明らかとなっている。MIP ファミリーは非常によく保存された砂時計状の“くびれ”を持ち、膜のトポロジーも非常に似かよっている<sup>44,45)</sup>。MIP モノマーは 6 個の膜貫通型  $\alpha$ ヘリックス構造を持ち、五つのヘリックス間ループ (A-E) が細胞外あるいは細胞質内でつながっている。その C 末端と N 末端の

両方ともが細胞質側に伸びている。ループB（細胞質側にある）とループE（細胞外にある）は互いに相互作用し、よく保存されたNPAモチーフを構成している。NPAモチーフでは二つの疎水的なハーフヘリックスが膜中に存在し、立体構造の中で互いに向き合うようになって狭い領域“孔”を作り出している。この領域は物質選択性を決定する上で非常に重要な役割を果たしている。

NPAモチーフに加えて、もう一つ物質通過の選択に深く関わっている領域が、ar/R選択フィルターである。ar/R選択フィルターは立体構造でNPAモチーフの8 Å上に位置し細胞外に面した部分近くに存在する。ヘリックス2（H2）とヘリックス5（H5）のアミノ酸残基と二つのループE残基（LE<sub>1</sub>とLE<sub>2</sub>）から成り立っている。このar/R選択フィルターも物質の透過性に重要な役割を持つと考えられている<sup>46,47</sup>。

MIPファミリーは動物、両生類、酵母、細菌、植物と幅広く存在する膜タンパク質で、現在では水の輸送だけでなく、小さな無電荷の分子の輸送を促進させることも知られている。現在までに報告されているMIPを介して輸送されることが示唆されている物質は、ホウ酸以外に、ケイ

酸、亜ヒ酸、乳酸、尿素、過酸化水素、低分子アルコール、浸透圧調節物質、非解離型有機酸、アンモニウムイオン、アンモニア（気体）、二酸化炭素（気体）である<sup>48-53</sup>。シロイヌナズナでは35のMIP遺伝子が存在し、塩基配列の相同性から四つのサブファミリー、the tonoplast intrinsic proteins (TIP), the plasma membrane intrinsic proteins (PIP), the nodulin 26 (NOD26)-like intrinsic proteins (NIP), the small basic intrinsic proteins (SIP) に分類される（図2）<sup>43,48</sup>。TIPは液胞膜型アクアポリン、PIPは細胞膜型アクアポリンである。NIPはダイズ (*Glycine max*) の根粒内のペリバクテロイド膜で発現しているNOD26に配列に近い<sup>54</sup>。現在報告されているNIPサブグループに属するものは植物のみで、細胞膜に局在しているものやER膜に局在しているものが報告されている（後述参照）。SIPに関してはシロイヌナズナにおいてER膜で発現している遺伝子が報告されている<sup>55</sup>。

最初に植物のホウ酸輸送にMIPが関与していることを示唆したのはDordasらであった<sup>30</sup>。彼らはHg<sup>2+</sup>を用いた実験を行った。一般的にHg<sup>2+</sup>はMIPに対する阻害作用があることが知られており、阻害剤としてしばしば用いられ

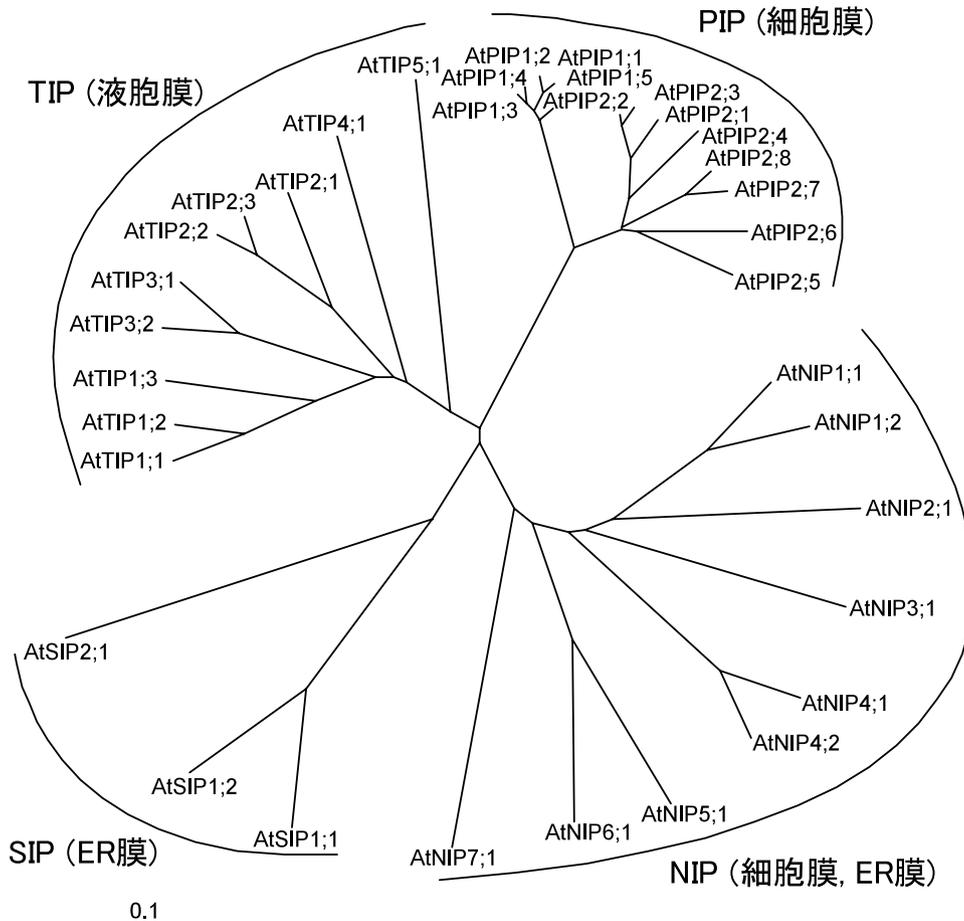


図2 アミノ酸配列を基にしたシロイヌナズナ MIP の系統樹と細胞内局在

ている<sup>42)</sup>。これは MIP 分子中に存在するシステイン残基と  $\text{Hg}^{2+}$  が結合して物質の透過性を抑制しているためであると考えられている。また、 $\text{Hg}^{2+}$  の阻害は 2-メルカプトエタノールの添加により容易に回復する。Dordas らはズッキーニの根から単離した細胞膜画分を使って、 $\text{HgCl}_2$  添加によるホウ酸の膜透過性の変化を調べたところ約 60% の阻害が観察されたが、2-メルカプトエタノールの添加によって回復することを示した。またズッキーニの様々な MIP 遺伝子の cRNA をアフリカツメガエルの卵母細胞に注入し発現させ、ホウ酸の透過性を観察したところ、PIP1 のみホウ酸の透過性が水を注入しただけのコントロールに比べて 30% 増加することを示した<sup>30)</sup>。さらに Dordas らは実際に植物体を使用し、MIP がホウ素の輸送に関わっているのかを調べるためズッキーニを用いたホウ素の吸収実験を<sup>10</sup>B を用いて行った。まず、50  $\mu\text{M}$  <sup>10</sup>B のホウ素が十分にある条件で育てた後、50  $\mu\text{M}$  から 1 mM の  $\text{HgCl}_2$  が添加された 50  $\mu\text{M}$  <sup>10</sup>B の水耕液に植物体を移し、<sup>10</sup>B の濃度を測定した。その結果、 $\text{HgCl}_2$  を添加していない植物に比べて、 $\text{HgCl}_2$  を添加した植物の<sup>10</sup>B 濃度は 40-90% 低下したが、2-メルカプトエタノールの添加によって回復することを示した<sup>56)</sup>。これらの結果から植物のホウ素の膜輸送には MIP が関与していることが示唆された。しかしながら、植物において MIP 遺伝子の中のどの遺伝子が実際のホウ酸の輸送や吸収に関わっているのかはなかなか明らかとならなかった。

2006 年になりようやくシロイヌナズナにおいて、MIP 遺伝子群の一つ NIP5;1 がホウ素濃度の低い条件においてホウ素を土壌から効率的に取り込むホウ酸チャンネルであることが示された<sup>57)</sup>。高野らはまずマイクロアレイ解析を行い、ホウ素濃度が低い条件下 (0.3  $\mu\text{M}$  B) のシロイヌナズナの根において mRNA の蓄積がホウ素の十分にある条件下 (150  $\mu\text{M}$  B) に比べて増加する遺伝子の探索を行った。その中で 3 倍以上の蓄積の変化が見られた遺伝子に対して、さらに定量的 RT-PCR を行いその再現性の確認をした。その結果、NIP5;1 遺伝子のみホウ素濃度が低い条件下において有意な上昇がみられ、ホウ素が十分にある条件下に比べて約 10 倍上昇していた。

上述したように、NIP サブファミリーは植物にのみ存在する。ダイズ NOD26 は初めて NIP サブファミリーとして同定された遺伝子である<sup>58)</sup>。NOD26 は根粒菌のペリバクテロイド膜に局在している根粒菌包膜タンパク質である。NOD26 は水以外にグリセロール、ホルムアミド、アンモニアガスなどの輸送活性を持っていたことから、植物の中で初めて水以外の物質を輸送することのできる MIP であることが示された。さらに NOD26 の役割としてはバクテロイドとペリバクテロイド膜の間の浸透圧調節に関わっていることが示唆されており、NOD26 タンパク質の 262 番

目のセリン残基がリン酸化されることで物質の輸送が制御されていることが明らかとなっている<sup>59)</sup>。

NIP サブファミリーは ar/R 選択フィルターの構造の違いから、さらに二つのグループに分類されている (サブグループ I と II)。シロイヌナズナにおいて、サブグループ I に属するのは NIP1;1, NIP1;2, NIP2;1, NIP2;1, NIP3;1 および NIP4;1 の六つの遺伝子で、サブグループ II に属するのは NIP5;1, NIP6;1, および NIP7;1 の三つの遺伝子である。これらの九つの NIP 遺伝子の配列情報からコンピューター解析を用いて予想される立体構造の比較を行ったところ、九つのうちの六つの NIP 遺伝子 (サブグループ I) は NOD 26 の ar/R 選択フィルターに構造がよく保存されていたが、残りの三つの遺伝子 (サブグループ II) は、ar/R 選択フィルター内のヘリックス 2 (H2) の位置がアラニンからトリプトファンに置換されていた。この置換により、この三つのタンパク質の ar/R 選択フィルターの幅はサブグループ I や NOD26 よりも少し広く、その結果より大きな無電荷の分子が通過できるような構造となっていた<sup>46,60)</sup>。

これらの状況証拠により、NIP5;1 がホウ酸チャンネルである可能性が考えられた。まず、NIP5;1 をアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させて、そのホウ酸輸送能を検証したところホウ酸輸送活性があることが示された。また NIP5;1 は細胞膜に局在していることも明らかとなり、これらの結果から NIP5;1 はホウ酸の取り込みに重要な遺伝子であることが示唆された。NIP5;1 は地上部よりも根での発現が高く、根のなかでも伸長領域で強く発現していることがわかった。細胞内では表皮細胞や皮層、内皮でより強く発現していた。NIP5;1 の発現抑制株の成長は野生型に比べてホウ素濃度が低い条件下で著しく低下し、根および葉のホウ素濃度もホウ素濃度が低い条件で減少することがわかった。一方ホウ素を十分に与えた条件下では、野生型と同様の成長やホウ素濃度を示した。これらの結果から、シロイヌナズナ NIP5;1 はホウ酸チャンネルとして、ホウ素濃度が低い条件の時のみ、根の表皮、皮層および内皮で発現し、土壌表面からホウ酸を効率的に吸収するのに必須であることが明らかとなった (図 1)<sup>57)</sup>。さらに興味深いことに、NIP5;1 は根の表皮、皮層、内皮細胞の遠心側 (細胞の外側) に、また BOR1 は内皮、内鞘細胞の向心側 (細胞の内側) に極性を持って局在していることが最近明らかとなった<sup>61)</sup>。特にカスパー線が形成されている内皮細胞においては NIP5;1 と BOR1 は同じ細胞に局在しており、内皮細胞の遠心側で発現している NIP5;1 は細胞内へホウ素を積極的に送り込み、一方内皮細胞の向心側で発現している BOR1 は送られてきたホウ素を積極的に導管側へ排出していることが示唆された (図 3)。この二つの輸送体の極性を持った局在がホウ素の効率的な輸送に重



図3 低ホウ素濃度条件下のシロイヌナズナの根伸長領域における GFP-NIP5;1 および GFP-BOR1 の細胞内の極性局在

低ホウ素濃度条件において、NIP5;1 は表皮、皮層、内皮の遠心側（細胞の外側）で強く発現している。一方 BOR1 は、内皮、内鞘の向心側（細胞の内側）で強く発現している。スケール；50  $\mu\text{m}$ 。（Takano et al., 2010）

要であると考えられる。

NIP5;1 の発見以降、様々な NIP サブファミリーが実際の植物体で無電荷の低分子を輸送し、生理機能を持つことが明らかとなっている。シロイヌナズナの NIP1;1 は有毒な亜ヒ酸を輸送することができ、その欠損変異株では亜ヒ酸を輸送しないために、亜ヒ酸を含む培地でも野生型に比べて根が伸長し生育の回復がみられる<sup>50)</sup>。シロイヌナズナ NIP2;1 は乳酸を輸送する機能を持ち、嫌気条件下において NIP2;1 が誘導されることが明らかとなっている<sup>49)</sup>。またイネの Lsi1 (Os NIP2;1) と Lsi6 (Os NIP2;2) はケイ酸チャンネルであることが明らかになり、ケイ酸の根からの吸収やその分配に関与している<sup>51-53)</sup>。イネはこれらの分子の働きによるケイ酸の高蓄積によって様々なストレス耐性を獲得している。またこの Lsi1 はケイ酸の輸送体であるとともに亜ヒ酸も輸送する能力があり、この Lsi1 遺伝子の変異株では亜ヒ酸を含む培地で生育させた際の組織中の亜ヒ酸蓄積の低下が見られた<sup>62)</sup>。

シロイヌナズナの NIP サブグループ II に属する遺伝子は NIP5;1 以外に NIP6;1 と NIP7;1 が存在する。NIP5;1 にもっとも相同性が高いのは NIP6;1 であり、そのアミノ酸配列の比較によると、同一性が 66.4%（類似性は 83.1%）であった。また、NIP6;1 の ar/R 選択フィルターの孔は NIP サブグループ I と比較すると広く、NIP5;1 の ar/R 選択フィルターと三次元的な構造は非常に似ていた<sup>46)</sup>。データベース上での NIP6;1 のマイクロアレイ解析の結果を見ると、NIP6;1 は NIP5;1 と異なり、根よりも地上部、特に節で発現が強いことが示されていた<sup>63)</sup>。これらのことから、NIP6;1 も NIP5;1 同様にホウ酸輸送

チャンネルであり、特に地上部でのホウ酸輸送に重要な役割を果たしている可能性が考えられた。そこで NIP6;1 が NIP5;1 と同様にホウ酸輸送能があるのかを検証するために、アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させたところ、NIP6;1 にもホウ酸の輸送活性が認められた。一方、水の輸送活性も同時に検証したところ、NIP5;1 は水の輸送活性が見られたが、NIP6;1 ではほとんど水の輸送活性が見られなかった。つまり、NIP5;1 は水とホウ酸を輸送する能力があるのに対して、NIP6;1 はホウ酸の輸送能はあるが水の輸送能は低いことがこの実験により示された。NIP5;1 と NIP6;1 は共に ar/R 選択フィルターの孔が水の分子を通過することができる大きさを持つので、水の輸送に関しては NIP5;1 と NIP6;1 でなんらかの制御の違いがあると考えられる。NIP6;1 は NIP5;1 と同様に細胞膜に局在していることが確認された。また、NIP6;1 は根よりも地上部の特に若い葉の葉柄や節で発現が高く、その発現はホウ素濃度が低い条件において 2 倍程度誘導されるが、ホウ素濃度が十分条件においても NIP6;1 は比較的高い発現を保っていた。細胞内での局在は維管束の篩管まわりの伴細胞や柔細胞でより強く発現していた。節などの組織の付け根部分は転送細胞 (transfer cell) と呼ばれる特殊な細胞が存在している。転送細胞とは一次壁が突出し、ひだのような形を作り細胞・細胞壁の表面積が増大している細胞である。表面積が増大している分、この領域にチャンネルやトランスポーターなどの輸送体がより多く局在することができ、隣接する細胞からの物質の輸送効率を上げていると考えられている。このような転送細胞が節の篩管と導管の間の細胞に存在し、篩管と導管の間の物質の輸送

が積極的に行われていることが示唆されている<sup>2)</sup>。NIP6;1の発現場所から考えるとNIP6;1が転送細胞で発現している可能性が高いと考えられる。NIP6;1の欠損変異株の成長はホウ素濃度が低い条件下で、野生型に比べて栄養成長期においては若い葉の成長が著しく低下し、生殖成長期においては頂芽優勢の欠損が見られた。この著しく成長が抑制された若い葉の組織を観察すると、細胞一つ一つが小さく、細胞間隙が失われ、つまった状態になっていた。これはホウ素濃度が低い条件の葉で見られる現象として知られている<sup>26)</sup>。一方で同じ植物でも十分に成長した古い葉では細胞が大きく細胞間隙もあり、野生型と比較してもその違いは見られなかった。このことは若い葉のみがホウ素欠乏状態になっていることを示唆している。そこでホウ素濃度の低い条件下での栄養成長期において、若い葉と成熟した葉のホウ素濃度を比べると、若い葉でのみホウ素濃度は野生型と比較してNIP6;1変異株で減少していた。また生殖成長期においてロゼット葉全体と花芽先端部のホウ素濃度を比較すると、花芽先端部でホウ素濃度は野生型に比べてNIP6;1変異株で有意に減少していた。一方ホウ素を十分に与えた条件下では、野生型と同様の成長やホウ素濃度を示した。つまりNIP6;1の変異株はホウ素濃度の低い条件では、シンク組織にホウ素が十分にいきわたっていないことが明らかとなった。これらのことから、NIP6;1は地上部の節においてホウ酸を若い葉などのシンク組織に優先的に分配する役割を持つことが示された。その機構としては、節の部分でホウ素を導管から篩管へ移動させてホウ素をシンク組織へ分配していると考えられた(図1)<sup>64)</sup>。ホウ酸は蒸散流に従って導管から地上部へ運ばれるため、蒸散流の高い大きく展開した葉のほうへ輸送されやすい。そのため、節の部分でホウ酸を導管から篩管へ移させて若い葉へのホウ素の輸送を一部担う役割をNIP6;1が果たしていると考えられる。

## 8. ホウ素欠乏・過剰耐性植物作出への応用

ホウ素の吸収や輸送における膜透過機構が明らかになりつつあり、これらの制御機構を応用した植物の開発による生育改善が試みられてきている。

恒常的な遺伝子発現を誘導できるCaMV 35Sプロモーターを用いて、BOR1遺伝子を過剰に発現させる形質転換シロイヌナズナを作出した(35SBOR1)。35SBOR1形質転換シロイヌナズナは、BOR1の発現が高く、野生型と比較してホウ素濃度が低い条件下での地上部の生育や稔性が回復し、地上部へのホウ素の輸送能が高まっていた。一方で恒常的にBOR1を発現しているにもかかわらず、高いホウ素濃度条件下での生育やそのホウ素濃度は野生型と比較して有意な差は見られなかった<sup>65)</sup>。これはBOR1がタンパク質レベルで制御を受けているため、高いホウ素濃度条件

下ではエンドサイトーシス経路で液胞においてBOR1タンパク質が分解されているからである<sup>37)</sup>。この形質転換植物は、高いホウ素濃度条件下ではタンパク質の過剰発現の影響を受けず、ホウ素濃度の低い条件下でのホウ素耐性を付与した初めての成功例となった。

上述したように、BOR4をCaMV 35Sプロモーターを用いて過剰に発現させた形質転換体では、野生型と比較してホウ素が過剰に存在する条件下での生育が劇的に改善された<sup>41)</sup>。BOR4は高ホウ素条件下でも分解されず、根の表皮細胞の細胞膜の遠心側に極性を持って局在しているため、そのBOR4過剰発現体は過剰なホウ素を体外に排出する機能が強化されたと考えられる。これは初めてホウ素濃度が過剰に存在する条件下においてホウ素耐性を付与することに成功した例となった。

一方、NIP5;1をCaMV 35Sプロモーター制御下で発現させた過剰発現体では、低いホウ素濃度条件下での生育に改善が見られなかった。しかし、NIP5;1上流のプロモーター領域約1400bpを含んだNIP5;1をCaMV 35Sエンハンサーによって発現上昇させるコンストラクトをNIP5;1変異株へ導入すると、野生型と比較して低いホウ素濃度条件下で根の伸長が改善された<sup>66)</sup>。これは、NIP5;1のプロモーター領域が、NIP5;1の発現制御や局在に重要であることを示唆している。さらにBOR1とNIP5;1過剰発現体をかけ合わせて、両方の発現を強化した植物体を作出したところ、低いホウ素濃度条件下において、BOR1過剰発現体よりもさらに根の生育が改善され、またBOR1単独の過剰発現体では種ができにくかったさらに厳しい低ホウ素濃度条件下においても、このBOR1とNIP5;1の両方を強化した植物体では稔性の改善が見られた。これはNIP5;1による土壌からのホウ素吸収能とBOR1によるホウ素の導管への排出の両方が高まったためと考えられる。

以上のように同定されたホウ酸輸送体の機能や制御を明らかにし、その発現を制御することによって、植物にホウ素過剰や欠乏の耐性を付与することが可能であることが証明された。

## 参 考 文 献

- 1) Power, P.P. & Woods, W.G. (1997) *Plant Soil*, 193, 1-13.
- 2) Marschner, H. (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd ed., pp. 379-396, Academic Press, San Diego, CA.
- 3) Tanaka, M. & Fujiwara, T. (2008) *Pflugers Arch.*, 456, 671-677.
- 4) 萩野 博, 飛田博実, 岡崎雅明 (2008) 基本無機化学, pp. 156-161, 東京化学同人, 東京.
- 5) Brown, P.H., Bellaloui, N., Wimmer, M.A., Bassil, E.S., Ruiz, J., Hu, H., Pfeffer, H., Dannel, F., & Romheld, V. (2002) *Plant Biol.*, 4, 205-223.
- 6) WHO (1998) Boron. In: *Environmental Health Criteria Mono-*

- graph 204. Geneva, World Health Organization, ICPCS 1-125.
- 7) Shorrocks, V.M. (1997) *Plant Soil*, **193**, 121-148.
- 8) Yan, X., Wu, P., Ling, H., Xu, G., Xu, F., & Hang, Q. (2006) *Ann. Bot.*, **98**, 473-482.
- 9) Yau, S.K., Nachit, M.M., Hamblin, J., & Ryan, J. (1995) *Euphatica*, **83**, 185-191.
- 10) 藤原 徹 (2004) 根の研究 (Root Research), **13**, 51-55.
- 11) Warington, K. (1923) *Ann. Bot.*, **37**, 629-672.
- 12) Dell, B. & Huang, L. (1997) *Plant Soil*, **193**, 103-120.
- 13) Nable, R.O., Banuelos, G.S., & Paull, J.G. (1997) *Plant Soil*, **193**, 181-198.
- 14) O'Neill, M.A., Ishii, T., Albersheim, P., & Darvill, A.G. (2004) *Annu. Rev. Plant Biol.*, **55**, 109-139.
- 15) Kobayashi, M., Matoh, T., & Azuma, J. (1996) *Plant Physiol.*, **110**, 1017-1020.
- 16) O'Neill, M.A., Eberhard, S., Albersheim, P., & Darvill, A.G. (2001) *Science*, **294**, 846-849.
- 17) Nielsen, F.H. (2000) *Nutrition*, **16**, 512-514.
- 18) Bonilla, I., Garcia-González, M., & Mat, P. (1990) *Plant Physiol.*, **94**, 1554-1560.
- 19) Ahmed, I., Yokota, A., & Fujiwara, T. (2007) *Extremophiles*, **11**, 217-224.
- 20) Raven, J.A. (1980) *New Phytol.*, **84**, 231-249.
- 21) Brown, P.H. & Shelp, B.J. (1997) *Plant Soil*, **193**, 85-101.
- 22) Brown, P.H. & Hu, H. (1996) *Ann. Bot.*, **77**, 497-505.
- 23) Hu, H., Penn, S.G., Lebrilla, C.B., & Brown, P.H. (1997) *Plant Physiol.*, **113**, 649-655.
- 24) Brown, P.H., Bellaloui, N., Hu, H., & Dandekar, A. (1999) *Plant Physiol.*, **110**, 17-20.
- 25) Noguchi, K., Dannel, F., Pfeffer, H., Romheld, V., Hayashi, H., & Fujiwara, T. (2000) *J. Plant Physiol.*, **156**, 751-755.
- 26) Takano, J., Yamagami, M., Noguchi, K., Hayashi, H., & Fujiwara, T. (2001) *Soil Sci. Plant Nutr.*, **47**, 345-357.
- 27) Stangoulis, J.C.R., Brown, P.H., Bellaloui, N., Reid, R.J., & Graham, R.D. (2001) *J. Plant Physiol.*, **28**, 1109-1114.
- 28) Matoh, T. & Ochiai, K. (2005) *Plant Soil*, **278**, 351-360.
- 29) Dordas, C. & Brown, P.H. (2000) *J. Membr. Biol.*, **175**, 95-105.
- 30) Dordas, C., Chrispeels, M.J., & Brown, P.H. (2000) *Plant Physiol.*, **124**, 1349-1361.
- 31) Stangoulis, J.C.R., Reid, R.J., Brown, P.H., & Graham, R.D. (2001) *Planta*, **213**, 142-146.
- 32) Dannel, F., Pfeffer, H., & Romheld, V. (2000) *Aust. J. Plant Physiol.*, **27**, 397-405.
- 33) Dannel, F., Pfeffer, H., Walch-Liu, P., & Römheld, V. (2001) In Plant nutrition—Food security and sustainability of agroecosystems, pp. 162-163, Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- 34) Stangoulis, J.C.R., Reid, R.J., Brown, P.H., & Graham, R.D. (2001) *Planta*, **213**, 142-146.
- 35) Noguchi, K., Yasumori, M., Imai, T., Naito, S., Matsunaga, T., Oda, H., Hayashi, H., Chino, M., & Fujiwara, T. (1997) *Plant Physiol.*, **115**, 901-906.
- 36) Takano, J., Noguchi, K., Yasumori, M., Kobayashi, M., Gajdos, Z., Miwa, K., Hayashi, H., Yoneyama, T., & Fujiwara, T. (2002) *Nature*, **420**, 337-340.
- 37) Takano, J., Miwa, K., Yuan, L., von Wiren, N., & Fujiwara, T. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 12276-12281.
- 38) Nakagawa, Y., Hanaoka, H., Kobayashi, M., Miyoshi, K., Miwa, K., & Fujiwara, T. (2007) *Plant Cell*, **19**, 2624-2635.
- 39) Park, M., Li, Q., Shcheynikov, N., Zeng, W., & Muallem, S. (2004) *Mol. Cell*, **16**, 331-341.
- 40) Takano, J., Kobayashi, M., Noda, Y., & Fujiwara, T. (2007) *FEMS Microbiol. Lett.*, **267**, 230-235.
- 41) Miwa, K., Takano, J., Omori, H., Seki, M., Shinozaki, K., & Fujiwara, T. (2007) *Science*, **318**, 1417.
- 42) Preston, G.M., Carroll, T.P., Guggino, W.P., & Agre, P. (1992) *Science*, **256**, 385.
- 43) Zardoya, R. (2005) *Biol. Cell*, **97**, 397-414.
- 44) Fu, D., Libson, A., Miercke, L.J.W., Weitzman, C., Nollert, P., Krucinski, J., & Stroud, R.M. (2000) *Science*, **290**, 481-486.
- 45) Sui, H., Han, B.G., Lee, J.K., Walianm, P., & Japm, B.K. (2001) *Nature*, **414**, 872-878.
- 46) Wallace, I.S. & Roberts, D.M. (2004) *Plant Physiol.*, **135**, 1059-1068.
- 47) Wallace, I.S. & Roberts, D.M. (2005) *Biochemistry*, **44**, 16826-16834.
- 48) Tyerman, S.D., Niemietz, C.M., & Bramley, H. (2002) *Plant Cell Environ.*, **25**, 173-194.
- 49) Choi, W.G. & Roberts, M.D. (2007) *J. Biol. Chem.*, **33**, 24209-24218.
- 50) Kamiya, T., Tanaka, M., Mitani, N., Ma, J.F., Maeshima, M., & Fujiwara, T. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 2114-2120.
- 51) Ma, J.F., Tamai, K., Yamaji, N., Mitani, N., Konishi, S., Katsuhara, M., Ishiguro, M., Murata, Y., & Yano, M. (2006) *Nature*, **440**, 688-691.
- 52) Ma, J.F., Yamaji, N., Mitani, M., Tamai, K., Konishi, S., Fujiwara, T., Katsuhara, M., & Yano, M. (2007) *Nature*, **448**, 209-211.
- 53) Yamaji, N., Mitatni, N., & Ma, J.F. (2008) *Plant Cell*, **20**, 1381-1389.
- 54) Weaver, C.D., Crombie, B., Stacey, G., & Roberts, D.M. (1991) *Plant Physiol.*, **95**, 222-227.
- 55) Ishikawa, F., Suga, S., Uemura, T., Sato, M.H., & Maeshima, M. (2005) *FEBS Lett.*, **579**, 5814-5820.
- 56) Dordas, C. & Brown, P.H. (2001) *Plant Soil*, **235**, 95-103.
- 57) Takano, J., Wada, M., Ludewig, U., Schaaf, G., von Wiren, N., & Fujiwara, T. (2006) *Plant Cell*, **18**, 1498-1509.
- 58) Rivers, R.L., Dean, R.M., Chandy, G., Hall, J.E., Roberts, D. M., & Zeidel, M.L. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 16256-16261.
- 59) Guenther, J.F., Chanmanivone, N., Galetovic, M.P., Wallace, I. S., Cobb, J.A., & Roberts, D.M. (2003) *Plant Cell*, **15**, 981-991.
- 60) Wallace, I.S., Choi, W.G., & Roberts, D.M. (2006) *Biochim. Biophys. Acta*, **1758**, 1165-1175.
- 61) Takano, J., Tanaka, M., Toyoda, A., Miwa, K., Kasai, K., Fuji, K., Onouchi, H., Naito, N., & Fujiwara, T. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 5220-5225.
- 62) Ma, J.F., Yamaji, N., Mitani, N., Xu, X.Y., Su, Y.H., McGrath, S.P., & Zhao, F.J. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 9931-9935.
- 63) Zimmermann, P., Hirsch-Hoffmann, M., Hennig, L., & Griseb, W. (2004) *Plant Physiol.*, **136**, 2621-2632.
- 64) Tanaka, M., Wallace, I.S., Takano, J., Roberts, D.M., & Fujiwara, T. (2008) *Plant Cell*, **20**, 2860-2875.
- 65) Miwa, K., Takano, J., & Fujiwara, T. (2006) *Plant J.*, **46**, 1084-1091.
- 66) Kato, Y., Miwa, K., Takano, J., Wada, M., & Fujiwara, T. (2009) *Plant Cell Physiol.*, **50**, 58-66.