

## 植物の膜輸送体に導かれる生命現象の解明



東北大学大学院理学研究科 石丸 泰寛

## はじめに

膜輸送体は、すべての生命体の細胞膜上に存在している細胞内外の物質濃度を制御する分子であり、必要な物質の吸収、不要な代謝物の排出や活動電位の形成など、生体内において重要な役割を果たしている。植物においても、生育に必要な栄養元素の吸収移行、浸透圧調節、植物ホルモンの適切な濃度維持などに関わっており、分子実体の同定からその制御機構の解明まで精力的に研究が行われている。そのような背景のもと、我々は、いくつかの植物の輸送体を世界に先駆けて発見した。そして分子制御機構を個体レベルで明らかにすることによって、膜輸送体に導かれる生命現象を明らかにした。さらに、得られた知見をもとに実社会に起きている問題や疑問の解決へ向けた取り組みを行ったので紹介させて頂きたい。

## 1. 二価鉄イオン輸送体の解析

世界の人口は76億人ともいわれており、これだけの人口を支えるだけの食料生産は今でも十分ではない。世界の耕地の3分の1を占める石灰質アルカリ土壌では、必須元素である鉄が植物の利用しにくい三価鉄として存在しており、このような土壌で植物栽培を行うのは難しい。鉄吸収の分子機構を明らかにし、このような土壌でも生育可能な植物を創製できれば食料問題の解決に大きく貢献できる。

これまでイネ科植物はムギネ酸類を土壌中に分泌し、三価鉄を可溶化して三価鉄-ムギネ酸類錯体を吸収することによって鉄を土壌中から吸収すると考えられてきた。イネの根から分泌されるデオキシムギネ酸量は少ないことから、主にムギネ酸類の量を増やす方向で研究が行われてきた。ところが、イネゲノム解析が公開されると、イネには鉄欠乏時に発現誘導する二価鉄輸送体OsIRT1が存在することが明らかになった。OsIRT1は根の表皮細胞の細胞膜に発現しており、さらに植物ポジトロンイメージング法を用いて解析したところ、イネは二価鉄を直接吸収することが明らかとなった。これにより、イネは三価鉄-ムギネ酸類錯体吸収機構に加えて、二価鉄を直接吸収する機構を併せ持つことを明らかにした。

イネは二価鉄を直接吸収する機構も備えているにも関わらず、土壌中の三価鉄を二価鉄に還元する三価鉄還元酵素活性が低いため、石灰質アルカリ土壌中の鉄をほとんど吸収できない。そこで、当研究室でアルカリ条件下でも高活性を持つように既に作製されていた改変型三価鉄還元酵素をイネに導入できれば石灰質アルカリ土壌耐性をイネに付与できると想定した。さらに、二価鉄輸送体と同調的に機能させればより効果的な鉄吸収が期待できたため、OsIRT1のプロモーターの下流にこの改変型三価鉄還元酵素をつなぎイネに導入した。この形質転換イネは、鉄欠乏の根において野生型の2倍の三価鉄還元酵素活性を示すとともに、二価鉄吸収が促進された。その結果、石灰質アルカリ土壌での鉄欠乏に耐性を示し、また収量も約8倍に増加させることに成功した(図1)。

## 2. カドミウムイオン輸送体の解析

富山県で発生したイタイイタイ病の原因であるカドミウム(Cd)は、摂取することで骨がもろくなるなど人体へ大きな悪影響を及ぼす有害金属の一つである。食の安全性が問われている近年、米中のCd濃度の基準値が1 ppmから0.4 ppmに引き下げられ、それに伴い基準を超過した米が多く産出されることとなった。それゆえ米中のCdを低減させるために、土壌中のCdを吸収しない植物を創製することが急務であった。

我々は、まずイネのCd吸収に関わる分子を見出してCd吸収機構を明らかにするために、イネのT-DNA挿入欠損株のスクリーニングを行い、Cd吸収が少ない欠損株を複数選抜した。そして、イネのマイクロアレイを用いて、これらの欠損株の遺伝子発現様式を網羅的に解析したところ、金属イオン輸送体ファミリーNRAMP属するOsNRAMP5の発現誘導が、これらの欠損株に共通して減少していた。OsNRAMP5は根の表皮の細胞膜に発現しており、Cdに加えて、マンガンも輸送した。上記の欠損株もCdとマンガンを受取していなかったことから、OsNRAMP5はイネにおける主要なCdとマンガンの輸送体であり、イネは必須元素であるマンガンを受取すると同時に誤って不要なCdも吸収しまっていると考えられる。



図1. 石灰質アルカリ土壌耐性イネ

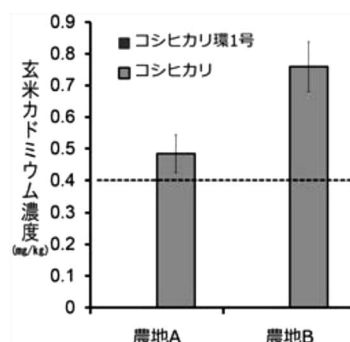


図2. 低カドミウム米中のCd濃度



図3. 就眠運動するアメリカネムノキ

これらのCdを吸収しないイネはT-DNA挿入欠損株つまり遺伝子組換え体であるため、実用化には国際的に認められたルールに基づく膨大な審査を経る必要がある。そこで、我々はイネ品種のコシヒカリに炭素イオンビームを照射した突然変異体の中から、OsNRAMP5が欠損して、米の中にほとんどCdが蓄積しないイネを選抜した(図2)。このイネの生育やコメの品質には違いがなく、形質転換体ではないことから簡易に商業栽培も可能である。現在は「コシヒカリ環1号」として品種登録され、様々圃場で実用へ向けた試験が行われている。

### 3. 就眠運動を制御するイオンチャネル

すべてのマメ科植物は、日中には葉を開いて、夜になると葉を閉じる就眠運動を行う(図3)。この運動の最古の記述は、紀元前400年アレキサンダー大王の時代に遡り、その後、進化論で有名なダーウィンの著書「植物の運動力」にも記述されるように、就眠運動は長い間科学者を魅了してきた歴史的研究課題である。葉が開く運動は、葉の付け根部分(葉枕)の外側の細胞が収縮することによって生じる。この細胞収縮には、イオンチャネルを介して塩化物イオン( $\text{Cl}^-$ )とカリウムイオン( $\text{K}^+$ )が同時に放出されることが鍵となることが知られている。しかしながら、 $\text{Cl}^-$ 放出チャネルや $\text{K}^+$ 放出チャネルは同定されておらず、その詳細な制御機構は明らかではなかった。

我々は、次世代シーケンサー解析により就眠運動のモデル植物であるアメリカネムノキの遺伝子配列情報を取得し、就眠運動に関与する $\text{Cl}^-$ 放出チャネルSsSLAH3と、その活性調節チャネルSsSLAH1を同定した。SsSLAH3単独では $\text{Cl}^-$ の放出活性はなかったが、SsSLAH1と共発現させることで $\text{Cl}^-$ を放出した。また、SsSLAH3は植物全体に恒常的に発現していた一方で、SsSLAH1は葉枕の外側の細胞特異的に、朝方にピークをもつ体内時計の制御下で発現変動していた。アメリカネムノキから $\text{K}^+$ 放出チャネルとしてSPORK2も同定し、葉枕の外側と内側の両方の細胞において体内時計の制御下で朝方に発現誘導していた。

以上の結果から、以下のような分子機構で葉が開く運動が制御されていると考えられる。夜の葉が閉じている状態の葉枕では、 $\text{Cl}^-$ 放出チャネルSsSLAH3のみが恒常的に発現しているが活性化していないため、 $\text{Cl}^-$ が放出されず葉が閉じた状態が維持される。朝方になると制御因子SsSLAH1が葉枕の外側の細胞特異的に発現誘導して、SsSLAH3を活性化し $\text{Cl}^-$ が放出される。 $\text{K}^+$ 放出チャネルSPORK2も、朝方に葉枕全体で発現誘導されるが、 $\text{Cl}^-$ が放出された外側の細胞のみで活性化することにより、外側の細胞から $\text{K}^+$ が放出される。このように、この3つの分子がすべて発現する葉枕の外側の細胞のみで、 $\text{Cl}^-$ と $\text{K}^+$ が放出されて細胞収縮が起こり、葉枕の外側部分が引っ張られることが葉を開く現象を生み出していると考えられる。

### 4. ジャスモン酸イソロイシン輸送体の解析

ジャスモン酸イソロイシン(JA-Ile)は、病害虫に対する防御応答反応の中心に位置する植物ホルモンであり、JA-Ileの自然拡散しやすい特性は、傷害時の素早い応答に適している。一方で、植物の成長や発生を調節する化合物でもあることから、拡散してしまった非傷害部位への過剰なJA-Ileは、植物の正常な生育を阻害する。これまで、植物が傷害を受けた時に、JA-Ileを傷害部位の篩管に取り込むことが報告されていたことから、JA-Ile輸送体が傷害時に拡散するJA-Ileを適切な部位に再配置して過剰な傷害応答を制御しているのではないかと考えた。我々は、

シロイヌナズナのマイクロアレイデータを用いて、傷害応答時に発現する膜輸送体候補を絞り込み、アフリカツメガエルの卵母細胞とLC/MSによる微量分析を組み合わせた系を用いてJA-Ile輸送体の同定を試みた。その結果、既にグルコシノレート輸送体として報告があったNPF2.10がJA-Ileを輸送することを明らかにした。*npf2.10*欠損株を解析したところ、野生株にみられるような傷害時におけるJA-Ileの篩管内への取り込みはみられなかった。また、*npf2.10*欠損株では、非傷害部位で過剰な防御応答反応を誘導していた。JA-Ileは維管束周辺に発現するCYP450によって不活化されることから、NPF2.10は非傷害部位に拡散するJA-Ileを篩管内に再配置させて過剰な傷害応答を抑制する役割があると考えられる。

さらにNPF2.10はジベレリン酸も輸送することから、NPF2.10はJA-Ileやグルコシノレートのようなまったく共通の構造を持たない化合物を輸送できる多機能輸送体であることが示された。また、NPF2.10は、リン酸化/脱リン酸化によって単量体/二量体形成が制御されており、単量体ではグルコシノレートのみを輸送し、二量体ではグルコシノレートに加えジベレリン酸も輸送した。これは、1種の輸送体が様々な化合物が選択的に輸送することを示している。シロイヌナズナでは約5000種の二次代謝物が生合成されるのに対して、ゲノム上にコードされている輸送体は約1000種であり、輸送体の数が圧倒的に少ない理由を説明できるかもしれない。

おわりに

私にとって、研究を行う上で大切にしている言葉がある。学生時代から大変お世話になった西澤直子先生が、「化学と生物」に寄稿された一節であり、こちらを引用させていただく。

「社会的要請から研究を眺めることにより、学問的価値の高い基礎研究も生まれる」ということから「出口から見据えた」課題設定が重要だとする声もある。[……]「応用から基礎へ、基礎から応用へ」の螺旋状のループで旋回、上昇していくのが農芸化学ではないだろうか。」(西澤, 2016)

私は、この言葉を胸に刻み、これからも研究に邁進し、農芸化学の発展に貢献してゆきたい。

謝辞 本研究は、東京大学大学院農学生命科学研究科農学国際専攻新機能植物開発学研究室、および東北大学大学院理学研究科化学専攻有機化学第一研究室で行われたものです。学生時代から現在に至るまで力強いご指導を賜った東京大学名誉教授 西澤直子先生に厚く御礼申し上げます。東北大学教授 上田実先生には有機化学第一研究室に教員として着任して以来、親身にご指導ご鞭撻を賜わり心より御礼申し上げます。研究をはじめのきっかけを頂きました東京大学名誉教授 山川隆先生、研究への情熱を体現しご指導賜った東京大学名誉教授 森敏先生にも深く御礼申し上げます。また、上記研究分野において本研究をご指導、ご支援頂きました先生方、研究員の皆様、ならびに卒業生、在学生の皆様へ感謝致します。さらに本研究は、さまざまな研究機関に所属される多くの共同研究者の方々のご指導ご助力のもとに成り立っております。心より御礼申し上げます。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦下さいました日本農芸化学会東北支部長の駒井三千夫先生ならびにご支援を賜りました東北支部の先生方に厚く御礼申し上げます。