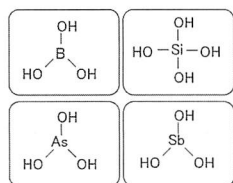


講座



トランスポーター研究が土壌・肥料・植物栄養学にもたらすインパクト

4. Major Intrinsic Protein (MIP) トランスポーターの機能と植物進化

田中真幸¹・神谷岳洋¹・藤原 徹²¹東京大学・生物生産工学研究センター, ²東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻

キーワード MIP, NIP, 水チャネル, ホウ素, 亜ヒ酸, アンチモン, ケイ素

1. はじめに

MIP という言葉が初めて文献に登場するのは今から 34 年前の 1976 年の事である。ウシの水晶体膜に多量に存在する 26.5 kDa のタンパク質が Main intrinsic polypeptide (MIP) と名付けられた (Broekhuysen *et al.*, 1976)。8 年後の 1984 年, MIP の配列決定がなされ, これ以降 MIP は Major intrinsic protein の略として用いられるようになった (Gorin *et al.*, 1984)。後に, このタンパク質は AQP0 と改名された。

MIP の機能が判明したのは, それからさらに 8 年後の 1992 年である。Peter Agre らの研究グループが, MIP とアミノ酸配列が類似する 29kDa のタンパク質 (Channel forming integral protein; CHIP28) を赤血球膜より単離した (Preston *et al.*, 1992)。CHIP28 をアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させ低張液処理したところ, 卵母細胞の体積が上昇したことから CHIP28 が水を通すことが明らかとなった。これが MIP の機能が明らかとなった最初の例であり, 水チャネル発見の瞬間である。その後, 「水を通す穴」という意味でアクアポリンと呼ぶことが提案され, CHIP28 は AQP1 と名付けられた。Peter Agre は, アクアポリン発見の功績をたたえられ, 2003 年ノーベル化学賞を受賞した。

最初の水チャネルが発見されて以降, 現在までに生物界で 450 以上の遺伝子が同定されており, これらは MIP 遺伝子群としてスーパーファミリーを形成している (Zardoya, 2005)。このなかには, 水輸送を担っていない分子も存在する。大腸菌の GlpF (Maurel *et al.*, 1994) や

酵母の Fps1 はグリセロール (Luyten *et al.*, 1995) を輸送するが水をほとんど輸送しない。またヒトの AQP3 (Ishibashi *et al.*, 1994) は水以外にグリセロールを輸送する。そのため, 現在では, MIP は大きく 2 つのグループに分類されている。水のみを輸送するもの (アクアポリン) と水以外に小さな分子も輸送するもの (アクアグリセロポリン) である。

アクアポリンとアクアグリセロポリンは進化の過程の初期の頃に遺伝子重複によって分岐し, その機能が変化していったと考えられる。MIP が最も多様化したのは脊椎動物と高等植物である (Zardoya *et al.*, 2002)。例えば, ヒトには現在のところ 13 (AQP1–AQP12) の MIP 遺伝子群が同定されており, そのうち, 3, 7, 9, 10 はグリセロールを通すことができる。植物では脊椎動物を遥かに上回る 30 以上の MIP 遺伝子群が同定されており, その内のいくつかの遺伝子に関しては水以外の無電荷の低分子を輸送することが報告されている。系統樹解析から, 植物の MIP の進化の過程には遺伝子重複に加えて, さらに独自の進化によって, この多様化した MIP 遺伝子群が形成されていったと考えられている。植物には動物のアクアグリセロポリンのオルソログはないが, 植物の MIP サブファミリーである (NOD26)–like intrinsic proteins (NIP) が無電荷の小さな分子を輸送する機能を持つ (後述参照)。NIP は進化の初期の段階で, 細菌のアクアポリンホモログ, AqpZ の遺伝子水平伝搬が起こったと考えられており, その結果, 小さな分子を輸送する新たな機能を持ったと考えられている (Zardoya *et al.*, 2002)。

2. MIP の分子構造

近年, ヒト由来のアクアポリン (AQP) と細菌由来のアクアグリセロポリン (GlpF) の立体構造が X 線構造解析によって明らかにされた (Fu *et al.*, 2000; Murata *et al.*, 2000; Sui *et al.*, 2001)。この二つの原型 MIP の立体構造は著しく似ており, MIP ファミリーは共通の祖先から進化し, 機能分化したものであることを示唆している。構造解析により, MIP の特徴がいくつか明らかとなった。1)

Mayuki TANAKA, Takehiro KAMIYA and Toru FUJIWARA: Research on transporters and its impact on the fields of soil science, fertilizers and plant nutrition. 4. The function and evolution of the major intrinsic protein (MIP) in plants

¹ 113-8657 文京区弥生 1-1-1

² 113-8657 文京区弥生 1-1-1

2010 年 3 月 16 日受付・2010 年 5 月 11 日受理

日本土壌肥科学雑誌 第 81 巻 第 6 号 p. 603~608 (2010)

解析された構造は安定的なホモ4量体を形成している。2) 6回膜貫通領域 (α ヘリックス構造) を持ち、5つのループ (A~E) で繋がっている。3) ループB (細胞質側) とループE (細胞外側) は生体膜中で互いに相互作用し、よく保存されたNPA (Asn-Pro-Ala) モチーフと呼ばれる狭い領域”孔”を作り、物質の選択性を決定している。4) NPAモチーフの8 Å上に位置し細胞外の近くにar/R選択フィルター (芳香族/アルギニン: aromatic/arginine) が存在する。ヘリックス2 (H2) とヘリックス5 (H5) のアミノ酸残基と2つのループE残基 (LE₁とLE₂) から成り、二番目に狭い孔を作っている。NPAモチーフとあわせて、この領域も物質通過の選択を決定していると考えられている (Fu *et al.*, 2000; Murata *et al.*, 2000; Sui *et al.*, 2001)。

構造から推測されるAQP1の水の通過するスピードは計算上、一分子あたり一秒間に20~30億個以上であり、かなり効率よく水が透過されていると考えられている (Fujiyoshi *et al.*, 2002)。

3. 植物のMIP

植物のMIPは他の生物に比べると非常に数が多い。シロイヌナズナで35、イネでは33、トウモロコシでは36のMIP遺伝子群が同定されている (例としてシロイヌナズナのMIPを図1に示した)。動物のMIP遺伝子では塩基配列の相同性からアクアポリンとアクアグリセロポリンの二つのファミリーに分類されるが、植物のMIP遺伝子は4つのサブファミリー、Tonoplast intrinsic proteins (TIP), Plasma membrane intrinsic proteins (PIP), Nodulin 26 (NOD26)-like intrinsic proteins (NIP), Small basic intrinsic proteins (SIP) に分類される (Tyerman *et al.*, 2002; Zardoya, 2005; Maurel, 2007) (図1)。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。TIPとPIPは主に植物内の水の輸送に重要な役割を果たしている。NIPは細胞膜やER膜に局在しており、水以外のグリセロールを含む無電荷の低分子を輸送することが報告されている (後述参照)。SIPの基質は同定されていないが、

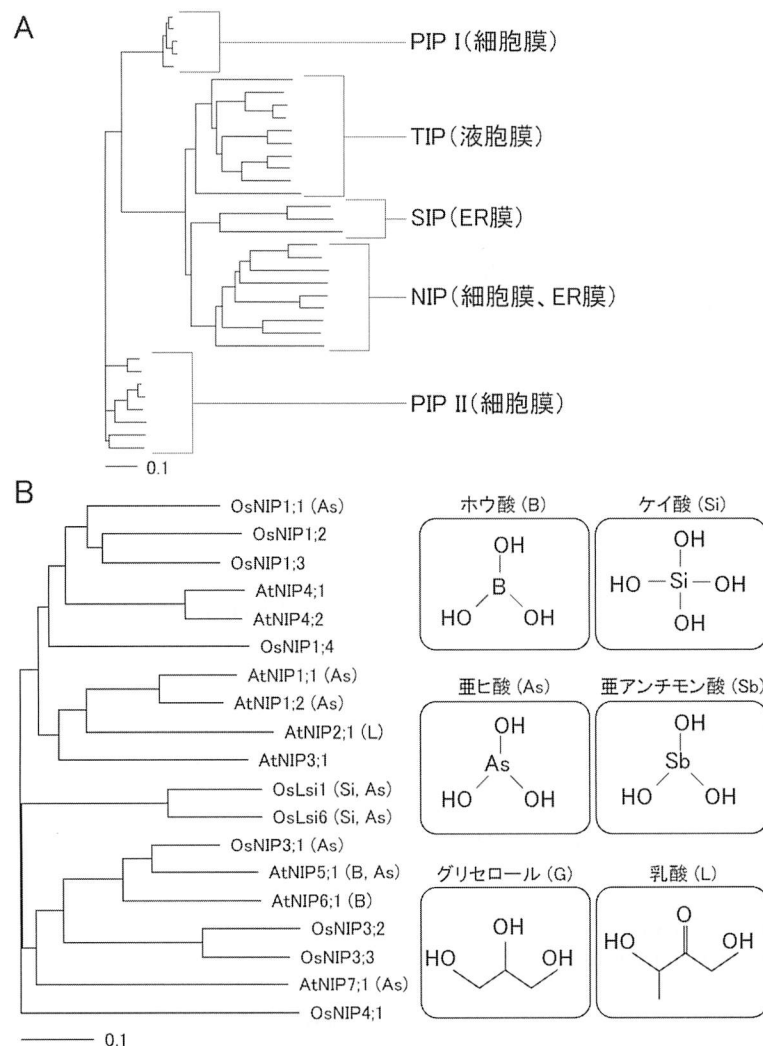


図1 アミノ酸配列を基にしたMIPの系統樹
(A) シロイヌナズナMIPの系統樹と細胞内局在。(B) シロイヌナズナとイネNIPの系統樹と輸送基質。各遺伝子の輸送基質を括弧内に示した。

シロイヌナズナの SIP1 ; 1, SIP1 ; 2, SIP2 ; 1 は ER 膜で発現している (Ishikawa *et al.*, 2005).

4. 水や無電荷の低分子の輸送の分子メカニズム

現在までに報告されている MIP の基質は、水以外に、ホウ酸、ケイ酸、亜ヒ酸、アンチモン、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、アンモニアイオン、二酸化炭素 (気体) である (Takano *et al.*, 2006 ; Tanaka *et al.*, 2008 ; Ma *et al.*, 2006, 2007 ; Yamaji *et al.*, 2008 ; Kamiya *et al.*, 2009 ; Kamiya and Fujiwara 2009 ; Choi and Roberts *et al.*, 2007 ; Tyerman *et al.*, 2002) (図 1). これら輸送基質の特異性に関与しているのが、上述した NPA モチーフと ar/R 選択フィルターである。

ヒトの AQP1 の構造解析により、NPA モチーフの一番狭くなる孔の直径は 3Å で、水分子の直径 2.8Å よりわずかに大きなサイズであることが明らかとなった (Murata *et al.*, 2000). 一方、大腸菌の GlpF の NPA モチーフの一番狭くなる孔の直径は AQP1 より 1Å 以上も大きい (de Groot and Grubmüller, 2001). ar/R 選択フィルターについても NPA フィルターと同じことが言える。AQP1 の ar/R 選択フィルターは、水一分子が通過できる程度の大きさであるが、GlpF では AQP1 よりも 0.8Å 大きくなっている (Fu *et al.*, 2000 ; Murata *et al.*, 2000 ; Sui *et al.*, 2001). コンピューターシュミレーションによる解析では、NIP に属する NOD26 の ar/R 選択フィルターは GlpF よりさらに大きく、グリセロールよりも大きな分子の透過が可能であると推測されている (Wallace and Roberts, 2004).

PIP の ar/R 選択フィルターが保存されているのに比べて、TIP, NIP, SIP のそれは多様性に富んでいる (Wallace and Roberts, 2004). 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、2つのグループに分類されている (サブグループ I, II) (Wallace and Roberts, 2005). サブグループ I の ar/R 選択フィルターは Trp (H2), Ile/Val (H5), Ala (LE₁), Arg (LE₂) で、サブグループ II は Ala (H2), Ile/Val (H5), Ala/Gly (LE₁), Arg (LE₂) で形成されている。この H2 の Trp (サブグループ I) が Ala (サブグループ II) へ置換されることによって、ar/R 選択フィルターの孔がより大きくなることが立体構造予測により推測されている。

5. MIP のゲート開閉機構

動物や植物の MIP の細胞質側の末端やループ領域内はタンパク質のリン酸化の標的となる場合がある。このようなタンパク質の修飾によって、輸送機能の調節、トラフィックの制御、細胞の局在の制御などが行われていることが知られている (Maurel, 2007 ; Wallace *et al.*, 2006). 様々な *in vivo*, *in vitro* の解析から植物の PIP, TIP, NIP サブファミリーの中にはリン酸化・脱リン酸化により水の輸送を制御している遺伝子が存在することが明らかとなっ

ている。

なかでも、ハウレンソウの SoPIP2 ; 1 については構造レベルでリン酸化による水輸送活性の制御機構が解明されている (Tornroth-Horsefield *et al.*, 2006). SoPIP2 ; 1 は 115 番目の Ser と C 末端にある 274 番目の Ser がリン酸化されているときに、水を通すことができる。これら Ser の脱リン酸化により、ループ D が孔をふさぎ、水の輸送を遮断する。これら 115 番目の Ser と 274 番目の Ser はシロイヌナズナの多くの PIP でも保存されており、同様の制御系が種を超えて存在していると考えられる。

水の吸収・輸送と MIP の関係に関連する研究については、他の総説を参考にさせていただき、本稿に関しては、特に植物の NIP 遺伝子について解説をする。

6. シロイヌナズナホウ酸チャネル NIP5 ; 1 および NIP6 ; 1 によるホウ素の促進輸送

ホウ素は植物にとって必須な微量元素である。植物体内でのホウ素の分子レベルにおける役割は、細胞壁の構造維持機能である (Kobayashi *et al.*, 1996). ホウ酸は非常に弱い酸 (Lewis 酸 pK_a 9.24 [B(OH)₃ + H₂O = B(OH)₄⁻ + H⁺]) なので、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 (Marschner, 1995). 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 (Brown *et al.*, 2002). 分子が小さく、無電荷のホウ酸は膜透過性が高いため、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 (Raven, 1980). しかしながら、近年になり、実際の植物生体膜のホウ素透過性は低く、ホウ素濃度が低い培地では受動拡散のほかには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 (Dordas and Brown, 2000, 2001 ; Dordas *et al.*, 2000 ; Stangoulis *et al.*, 2001). 最初にホウ素の輸送体として同定されたのは、ホウ酸排出型トランスポーター BOR1 で、ホウ素濃度が低い環境において、ホウ素を導管へ効率的に輸送するのに重要な膜タンパク質であった (Takano *et al.*, 2002). BOR1 の発見により、ホウ素にも膜輸送体を介した積極的な輸送機構が存在していることが明らかとなった。

その後、シロイヌナズナにおいて、MIP 遺伝子の一つ、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ネルであることが示された (Takano *et al.*, 2006). マイクロアレイ解析により、シロイヌナズナの根において、ホウ素が十分にある条件に比べて低い条件で mRNA の蓄積が増加する遺伝子の探索を行い、NIP5 ; 1 遺伝子が発見された。NIP5 ; 1 は細胞膜に局在し、根で強く発現していた。組織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 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のみ著しく低下し、根および葉のホウ素濃度も減少する。これらの結果から、シロイヌナズナ NIP5 ; 1 はホウ酸チャネルと

して、ホウ素濃度が低い時に、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。

その後、シロイヌナズナの NIP サブグループ II に属する *NIP6;1* が地上部において低ホウ素条件下で若い葉へホウ素を優先的に分配するのに重要な遺伝子であることが明らかとなった (Tanaka *et al.*, 2008)。*NIP6;1* は細胞膜に局在し、根よりも地上部の若い葉の葉柄や節で発現が高い。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る。*NIP6;1* 欠損変異株を低ホウ素条件下で育てると、栄養成長期においては若い葉の成長が抑制され、生殖成長期においては頂芽優勢の欠損が観察された。この成長が抑制された若い葉の細胞は小さく、細胞間隙が失われていた。これは低ホウ素条件の葉で見られる現象として知られている (Takano *et al.*, 2001)。また、低ホウ素条件で栽培した若い葉と成熟した葉のホウ素濃度を野生型株と変異株で比べると、野生型に比べて変異株の若い葉ではホウ素濃度の低下が観察された。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の組織に優先的に分配する役割を持つことが示された。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。*NIP6;1* は、節でホウ酸を導管から篩管へ移行することにより、若い葉へのホウ素の分配を担っていると考えられる。

NIP6;1 は *NIP5;1* にもっとも相同性が高いが、その輸送基質特異性は異なる。*NIP6;1* をアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させるとホウ素の輸送活性はあるが、水の輸送活性は非常に低い。一方で、*NIP5;1* はホウ素だけではなく水の輸送活性もある。*NIP5;1* と *NIP6;1* の ar/R 選択フィルターの孔の大きさは水分子の通過には十分であることから、*NIP5;1* と *NIP6;1* の水の輸送能の違いには、他の制御機構が関わっていると推察される。

シロイヌナズナの *NIP5;1* と *NIP6;1* はもともと共通の祖先であったものが、進化の過程で2つに分かれ、一方は根での発現に特化し、もう一方は地上部の発現に特化することで、より効率的にホウ素を輸送できるように進化を遂げたと考えられる。そのため、*NIP5;1* と *NIP6;1* のアミノ酸配列は非常に似ているが、組織特異性を決定する上流のプロモーター領域では、その配列にあまり類似性が見られない。このように種特異的に MIP 遺伝子のサブグループ内での組織特異的な進化を遂げることで、それぞれの環境に適応した植物体に発展していったと考えられる。

7. イネのケイ酸チャネル *OsLsi1* (*OsNIP2;1*) と *OsLsi6* (*OsNIP2;2*) によるケイ素の促進輸送

ケイ素は一部の植物の生育に必要な事から、有用元素と呼ばれている。代表的な植物にイネが挙げられる。土壌に豊富にするケイ素は根から吸収されて、植物体全体に運ばれる。高濃度になったケイ素は重合し、植物体に物理

的な強度を与え、病害虫などの生物学的ストレスや気候変動による非生物学的ストレスに対して耐性を付与している (詳しくは Ma and Yamaji, 2006 を参照)。

ケイ素の吸収を担っているのは、上述したホウ素輸送を担う分子である NIP と同じサブファミリーに属する *OsLsi1* (*OsNIP2;1*) であることが近年明らかにされた (Ma *et al.* 2006)。*OsLsi1* はケイ素の毒性アナログであるゲルマニウムに耐性を示す変異株 (*lsi1*, low silicon rice 1) の原因遺伝子として単離され、アフリカツメガエル卵母細胞を用いた実験系によりケイ酸を輸送する事が示された。根で多く発現しており、先端よりも基部で強く発現している (Yamaji and Ma, 2007)。この結果は生理学的に示されたケイ素の吸収部位と一致する (Yamaji and Ma, 2007)。抗 *Lsi1* 抗体を用いた免疫染色法により、根のなかでもカスパー線が存在する外皮と内皮に特異的に発現していること、その局在は細胞膜であり、根の遠心側 (土壌側) に極性をもって局在していることが示された。以上の事は、*OsLsi1* はイネがケイ素を吸収する最初のステップを担う非常に重要な分子であることを示している。

根のシンプラストに取り込まれたケイ素は、同じくゲルマニウム耐性株より同定された *OsLsi2* と呼ばれる NIP とは異なる輸送体によって導管へと積み込まれる (Ma *et al.*, 2007)。*OsLsi2* は中心柱側の細胞膜に極性をもって局在している。*OsLsi1* と *OsLsi2* との共同作業により土壌中のケイ素は導管へと積み込まれ、地上部へと運ばれる。イネのみならず、オオムギやトウモロコシでも *Lsi1* ホモログは同定されており、そのケイ酸輸送活性が示されている (Chiba *et al.*, 2009, Mitani *et al.*, 2009)。

地上部に運ばれたケイ素は、葉身や葉鞘、穂などそれぞれの部位に分配される。その中で、穂へのケイ素の輸送を担っている分子として、*OsLsi1* のホモログである *OsLsi6* (*OsNIP2;2*) が同定された (Yamaji *et al.*, 2008)。*OsLsi6* は節、特に第一節で強く発現している。節のなかでも、木部転送細胞の導管と接する細胞膜に極性をもって発現している。*OsLsi6* 破壊株では止葉のケイ素含量が野生型株の2倍になり、一方で、穂では著しい低下が見られた。これらのことから、*OsLsi6* は導管で運ばれてきたケイ素を葉身と穂に正しく分配しているものと考えられる。

8. NIP による有毒元素の輸送

これまでに NIP がホウ酸とケイ酸という植物の生育に重要な元素を輸送することを述べた。同時に、これらの元素と構造上似た物質も輸送する。言い換えれば、本来の基質と間違えて、区別できずに As (III) を輸送してしまう。

その代表的な分子として亜ヒ酸 [As (III)] が挙げられる。現在までにヒ素の必須性は植物では知られておらず、むしろ毒性の方が有名である。バングラデシュやインドの西ベンガル地方では、地下水のヒ素汚染が社会問題となっている。

ヒ素の環境中における主要な形態は3価の As (III) と

5価のヒ酸 [As (V)] である。As (III) の化学式は $\text{As}(\text{OH})_3$ で表され、その pK_a は 9.2 である。すなわち、中性条件下では無電荷の分子として存在する。低分子で無電荷、という MIP の基質として都合がよい性質を As (III) は兼ね備えている。これまでに、動物や酵母、細菌ではアクアグリセロポリンが As (III) を輸送することが示されていたが、植物の輸送機構は、最近まで同定されていなかった。

植物体を用いて亜ヒ酸を通す事が示された MIP 分子は 2 つある。一つは、イネの OsLsi1 でもう一つはシロイヌナズナの NIP1;1 である。岡山大学の馬教授らは、As (III) とケイ酸の構造上の類似から OsLsi1 が As (III) を輸送していると推測し、ケイ素輸送体破壊株を用いた解析を行った (Ma *et al.*, 2008)。OsLsi1 破壊株では As (III) 含量が、野生型株よりも低かった。アフリカツメガエル卵母細胞を用いた実験系により、As (III) を輸送することが示された。同時に、ケイ酸の排出型輸送体である OsLsi2 についても亜ヒ酸輸送への関与が示唆された。すなわち、イネの As (III) 輸送経路はケイ酸と同じであることが示された。

シロイヌナズナの NIP1;1 は、変異原処理種子を用いた亜ヒ酸耐性株のスクリーニングにより同定された (Kamiya *et al.*, 2009)。NIP1;1 は根で発現しており、細胞膜に局在している。破壊株の As 含量が野生型株より低く、卵母細胞を用いた実験系により輸送活性が確認されたことから、NIP1;1 が As (III) を輸送することが示された。ホウ素を輸送する NIP5;1 も卵母細胞では輸送活性がみられるものの、破壊株は As (III) 耐性にはならない。すなわち、輸送活性と耐性とは一致していない。現在までのところ、NIP1;1 の生理学的な基質は同定されておらず、亜ヒ酸耐性という表現型以外見いだされていない。生理学的な基質の同定が、耐性と輸送活性の不一致を説明できるかもしれない。また、NIP1;1 は亜ヒ酸のみならず、同族元素である亜アンチモン酸も輸送し、破壊株は耐性になる (Kamiya and Fujiwara, 2009)。

なお、酵母やアフリカツメガエル卵母細胞を用いた解析により、これまでに As (III) 輸送能が解析されたすべての NIP が As (III) を輸送することが示されている (Miwa *et al.*, 2009)。ある植物種においてどの NIP が As (III) の取り込みに関与し、さらに感受性を決定するのかは、NIP 遺伝子の発現量や発現部位などアミノ酸配列だけではない。他の要因が関与していると考えられる。

9. NIP 遺伝子によるその他の物質の輸送

生理学的な基質かどうかは明らかではないが、シロイヌナズナ NIP2;1 は乳酸を輸送することが示されている (Choi and Roberts, 2007)。乳酸輸送活性はアフリカツメガエル卵母細胞と ^{14}C でラベルした乳酸を用いて測定された。NIP2;1 発現卵母細胞は対照と比較して 2.5 倍の乳酸の取り込みが見られた。また、その取り込みは Hg^{2+} により阻害される。

NIP2;1 は根で主に発現しており、細胞膜に局在する。また、その発現は嫌気条件下に 2 時間おくことにより、300 倍に上昇する。これらのことから、筆者らは、嫌気条件下に根を置く事により生産された乳酸を細胞外に排出する役割を NIP2;1 が担っているのではないかと推測している。

10. 最後 に

MIP トランスポーターは共通の祖先から生物種によって多様に進化し、主要な構造を保存しつつ機能分化してきた。機能分化の過程で、輸送活性や発現、細胞内局在を変化させ、植物栄養学として重要な必須元素、有用元素、有毒元素の輸送を担うようになってきたと考えられる。MIP トランスポーターの発現強化による生育改善も報告された (Kato *et al.*, 2009) ように、MIP トランスポーターの研究は植物の栄養特性の改善につながるであろう。

文 献

- Broekhuijse, R. M., Kuhlmann, E. D., and Stols A. L. H. 1976. Lens membranes II. Isolation and characterization of the main intrinsic polypeptide (MIP) of bovine lens fiber membranes. *Exp. Eye Res.*, **23**, 365–371.
- Brown, P. H., Bellaloui, N., Wimmer, M. A., Bassil, E. S., Ruiz, J., Hu, H., Pfeffer, H., Dannel, F., and Romheld, V. 2002. Boron in plant biology. *Plant Biol.*, **4**, 205–223.
- Chiba, Y., Mitani, N., Yamaji, N., and Ma, J. F. 2009. HvLsi1 is a silicon influx transporter in barley. *Plant J.*, **57**, 810–818.
- Choi, W. G. and Roberts, M. D. 2007. Arabidopsis NIP2;1, a major intrinsic protein transporter of lactic acid induced by anoxic stress. *J. Biol. Chem.*, **282**, 24209–24218.
- de Groot, B. L., and Grubmüller, H. 2001. Water permeation across biological membranes: mechanism and dynamics of aquaporin-1 and GlpF. *Science*, **294**, 2353–2357.
- Dordas, C. and Brown, P. H. 2000. Permeability of boric acid across lipid bilayers and factors affecting it. *J. Membr. Biol.*, **175**, 95–105.
- Dordas, C. and Brown, P. H. 2001. Evidence for channel mediated transport of boric acid in squash (*Cucurbita pepo*). *Plant Soil*, **235**, 95–103.
- Dordas, C., Chrispeels, M. J., and Brown, P. H. 2000. Permeability and channel mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. *Plant Physiol.*, **124**, 1349–1361.
- Fu, D., Libson, A., Miercke, L. J. W., Weitzman, C., Nollert, P., Krucinski, J. and Stroud, R. M. 2000. Structure of a glycerol conducting channel and the basis for its selectivity. *Science*, **290**, 481–486.
- Fujiyoshi, Y., Mitsuoka, K., de Groot, B. L., Philippsen, A., Grubmüller, H., Agre, P., and Engel, A. 2002. Structure and function of water channels. *Curr Opin Struct Biol.*, **4**, 509–15.
- Gorin, M. B., Yancey, S. B., Cline, J., Revel, J. P., and Howitz, J. 1984. The major intrinsic protein (MIP) of the bovine lens fiber membrane: Characterization and structure based on cDNA cloning. *Cell*, **39**, 49–59.
- Ishibashi, K., Sasaki, S., Fushimi, K., Uchida, S., Kuwahara, M., Saito, H., Furukawa, T., Nakajima, K., Yamaguchi, Y., and Gojobori, T. 1994. Molecular cloning and expression of a member

- of the aquaporin family with permeability to glycerol and urea in addition to water expressed at the basolateral membrane of kidney collecting duct cells. *Proc.Natl. Acad. Sci USA*, **91**, 6269–6273.
- Ishikawa, F., Suga, S., Uemura, T., Sato, M. H., and Maeshima, M. 2005. Novel type aquaporin SIPs are mainly localized to the ER membrane and show cell-specific expression in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.*, **579**, 5814–5820.
- Kamiya, T., and Fujiwara, T. 2009. *Arabidopsis* NIP1;1 transports antimonite and determines antimonite sensitivity. *Plant Cell Physiol.*, **50**, 1977–81.
- Kamiya, T., Tanaka, M., Mitani, N., Ma, J. F., Maeshima, M., and Fujiwara, T. 2009. NIP1;1, an aquaporin homolog, determines the arsenite sensitivity of *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem.*, **284**, 2114–2120.
- Kato, Y., Miwa, K., Takano, J., Wada, M., and Fujiwara, T. 2009. Highly boron deficiency-tolerant plants generated by enhanced expression of NIP5;1, a boric acid channel. *Plant Cell Physiol.*, **50**, 58–66.
- Kobayashi, M., Matoh, T., and Azuma, J. 1996. Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. *Plant Physiol.*, **110**, 1017–20.
- Luyten, K., Albertyn, J., Skibbe, W. F., Prior, B. A., Ramos, J., Thevelein, J. M., and Hohmann, S. 1995. Fps1, a yeast member of the MIP family of channel proteins, is a facilitator of glycerol uptake and efflux and is inactive under osmotic stress. *EMBO J.*, **14**, 1360–1371.
- Ma, J. F., Yamaji, N., Mitani, N., Xu, X. Y., Su, Y. H., McGrath, S., and Zhao, F. J. 2008. Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain. *Proc.Natl. Acad. Sci USA*, **105**, 9931–9935.
- Ma, J. F., Yamaji, N., Mitani, M., Tamai, K., Konishi, S., Fujiwara, T., Katsuhara, M., and Yano, M. 2007. An efflux transporter of silicon in rice. *Nature*, **448**, 209–211.
- Ma, J. F., Tamai, K., Yamaji, N., Mitani, N., Konishi, S., Katsuhara, M., Ishiguro, M., Murata, Y., and Yano, M. 2006. A silicon transporter in rice. *Nature*, **440**, 688–691.
- Ma, J. F., and Yamaji, N. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends Plant Sci.*, **11**, 392–397.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd (ed.) p. 379–396. Academic Press, San Diego, CA.
- Maurel, C. 2007. Plant aquaporin: Nove functions and regulation properties. *FEBS Lett.*, **581**, 2227–2236.
- Maurel, C., Reizer, J., Schroeder, J. I., Chrispeels, M. J., and Saier, Jr M. H. 1994. Functional characterization of the *Escherichia coli* glycerol facilitator, GlpF, in *Xenopus oocytes*. *J. Biol. Chem.*, **269**, 11869–11872.
- Mitani, N., Yamaji, N., and Ma, J. F. 2009. Identification of maize silicon influx transporters. *Plant Cell Physiol.*, **50**, 5–12.
- Miwa, K., Kamiya, T., and Fujiwara, T. 2009. Homeostasis of the structurally important micronutrients, B and Si. *Curr Opin Plant Biol.*, **12**, 307–311.
- Murata, K., Mitsuoka, K., Hirai, T., Walz, T., Agre, P., Heymann, J. B., Engel, A., and Fujiyosh, Y. 2000. Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. *Nature*, **407**, 599–605.
- Preston, G. M., Carroll, T. P., Guggino, W. B., and Agre, P. 1992. Appearance of water channels in *Xenopus oocytes* expressing red cell CHIP28 protein. *Science*, **256**, 385–387.
- Raven, J. A., 1980. Short- and long-distance transport of boric acid in plants. *New Phytol.*, **84**, 231–249.
- Stangoulis, J. C. R., Reid, R. J., Brown, P. H., and Graham, R. D. 2001. Kinetic analysis of boron transport in *Chara*. *Planta*, **213**, 142–146.
- Sui, H., Han, B. G., Lee, J. K., Walianm P. and Japm B. K. 2001. Structural basis of water specific transport through the AQP1 water channel. *Nature*, **414**, 872–878.
- Takano, J., Noguchi, K., Yasumori, M., Kobayashi, M., Gajdos, Z., Miwa, K., Hayashi, H., Yoneyama, T., and Fujiwara, T. 2002. *Arabidopsis* boron transporter for xylem loading. *Nature*, **420**, 337–340.
- Takano, J., Wada, M., Ludewig, U., Schaaf, G., von Wiren, N., and Fujiwara, T. 2006. The *Arabidopsis* major intrinsic protein NIP5;1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation. *Plant Cell*, **18**, 1498–1509.
- Takano, J., Yamagami, M., Noguchi, K., Hayashi, H. and Fujiwara, T. 2001. Preferential translocation of boron to young leaves in *Arabidopsis thaliana* regulated by the BOR1 gene. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **47**, 345–357.
- Tanaka, M., Wallace, I. S., Takano, J., Roberts, D. M., and Fujiwara, T. 2008. NIP6;1 is a boric acid channel for preferential transport of boron to growing shoot tissues in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **20**, 2860–2875.
- Tornroth-Horsefield, S., Wang, Y., Hedfalk, K., Johanson, U., Karlsson, M., Tajkhorshid, E., Neutze, R., and Kjellbom, P. 2006. Structural mechanism of plant aquaporin gating. *Nature*, **439**, 688–694.
- Tyerman, S. D., Niemietz, C. M., and Bramley, H. 2002. Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant Cell Environ.*, **25**, 173–194.
- Wallace, I. S., and Roberts, D. M. 2004. Homology modeling of representative subfamilies of *Arabidopsis* major intrinsic proteins. Classification based of the Aromatic/Arginine selectivity filter. *Plant Physiology*, **135**, 1059–1068.
- Wallace, I. S., Choi, W. G., and Roberts, D. M. 2006. The structure, function and regulation of the nodulin 26-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporins. *Biochim Biophys. Acta.*, **1758**, 1165–1175.
- Wallace, I. S., and Roberts, D. M. 2005. Distinct transport selectivity of two structural subclasses of the nodulin-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporin channels. *Biochemistry*, **44**, 16826–16834.
- Yamaji, N., and Ma, JF. 2007. Spatial distribution and temporal variation of the rice silicon transporter Lsi1. *Plant Physiol.*, **143**, 1306–1313.
- Yamaji, N., Mitatni, N., and Ma, J. F. 2008. A transporter regulating silicon distribution in rice shoots. *Plant Cell*, **20**, 1381–1389.
- Zardoya, R. 2005. Biology of the Cell, **97**, 397–414.
- Zardoya, R., Ding, X., Kitagawa, Y., and Chrispeels, M. J. 2002. Origin of plant glycerol transporters by horizontal gene transfer and functional recruitment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 14893–14896.