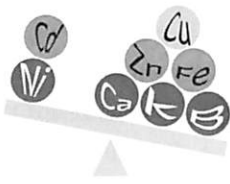


講座



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

7. イオン輸送機構制御による高ミネラル含量作物の作出に向けたトランスポーター研究とバイオリソースの利用

小林佑理子・井内 聖

理化学研究所バイオリソースセンター・実験植物開発室

キーワード トランスポーター、品種改良、バイオリソース、イオン輸送、ミネラル含量

1. はじめに

私たちが日常的に目にする野菜、果物や花の多くは、長年にわたり原種から改良してきた品種である。今日も品種の改良は続けられており、日本人の主食である米もその例外ではなく病害抵抗性や食味などが改良された米の新品種の農林水産省への登録数は、過去5年間で200件を上回る。10年前にモデル植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の全ゲノム塩基配列が決定されたころから、DNA シーケンス技術の急速な進展が起こり、植物においてもゲノム科学は目覚ましく発展してきた。これと並行して、野生種や近縁種など多くの遺伝生物資源が収集され、それらのゲノム情報が整備されてきたことにより野生種や近縁種を利用した品種改良の研究が増している。こうした中で、新たな社会ニーズから生じる育種目標に対応できる高度で迅速な品種改良技術が開発され実用化段階を迎えつつある。前回までの本講座で取り上げられてきたトランスポーターは、ミネラル吸収輸送、炭素窒素代謝、恒常性維持、ストレス応答など重要な生物プロセスに関わっている。これまでの多くのトランスポーター研究で積み重ねられた分子レベルでの詳細な知見は、新品種開発へ応用することが期待されている。ここでは、現在国際的に要望が高い品種改良の方向性を俯瞰しながら、品種改良に関連するトランスポーター研究を紹介したい。

2. 植物における品種改良の高度化

品種改良は、交配、倍数体の利用、変異誘発、選抜、組

織培養や細胞融合、さらには遺伝子組換え技術など様々な技術を利用することによって行われてきた。特に、1990年代後半からの分子生物学に基盤を置く植物科学の知見とゲノム情報やその利用技術などのゲノム科学の進歩により、現在では複雑で複合的な育種目標を短期間で達成できることが技術的には可能となってきた。穀物の交配育種では、DNA マーカーアシスト選抜によって目的の遺伝子座のみ、またはその組み合わせを導入した系統を短期間で選抜育成できるようになった (Collard and Mackill, 2008)。農林水産省のQTLゲノム育種研究センターでは、イネ (*Oryza sativa*) の様々な有用形質関連 QTL (Quantitative Trait Locus) のマーカーアシスト選抜による育種材料や新品種の開発が進められており、アメリカでは、商業用のトウモロコシ (*Zea mays*) においてマーカーアシスト選抜により有用量的形質を導入する育種が実用段階に移っている (Eathington *et al.*, 2007)。

突然変異体を用いた品種改良では、多くの作物において育種目標に関連する遺伝子の突然変異体を TILLING (Targeting Induced Local Lesions In Genomes) 法によって突然変異体集団の中から高効率に選抜し、育種の材料とするプロジェクトが進行中である (e.g. Henikoff *et al.*, 2004)。また、理化学研究所で開発された植物への重イオンビーム照射による変異誘発法では、変異の多様性、変異率の高さと致死性の低さから花きや樹木においても短期間で多様な改良が可能となった (e.g. Sasaki *et al.*, 2008)。

また、これまでに作物から樹木まで多くの実用植物において遺伝子組換え技術が確立されており、同手法による品種改良が世界的に進められている (e.g. Lemaux, 2008)。国際アグリバイオ事業団によると、主に病害抵抗性、除草剤耐性を付与した遺伝子組換え作物は、25カ国で栽培され、その作付面積は2009年には13年前の80倍である約1.3億ヘクタールとなり、今なお増加している。このような状況の中で望まれる品種改良の方向性も変化しつつある。

近年では、生活の質の向上、資源、エネルギーの節約、

Yuriko KOBAYASHI and Satoshi IUCHI: Research on transporters and its impact on the fields of soil science, fertilizers and plant nutrition. 7. Research on transporters and utilization of bio-resources for enhancing crop mineral content by ion transport control

305-0074 つくば市高野台3-1-1

2010年8月31日受付・2010年9月28日受理

日本土壌肥科学雑誌 第82巻 第2号 p.145~151 (2011)

環境、食糧問題の解決など新たな社会的ニーズに応える品種改良が望まれている。例えば、園芸植物の多種多様な形質を持つ品種、健康機能性を付加した品種、有用物質生産やバイオ燃料の原料供給に適した品種、不良環境ストレス耐性を付与した品種、低肥料低環境負荷や環境浄化などに対応する品種など非常に多様なものとなっている。京都議定書でカーボンニュートラルとして扱われるバイオ燃料に関しては、原料植物の不良環境耐性の強化や原料部位のバイオマス増大による生産性向上による栽培時のエネルギー投入量の抑制と高収量化や、細胞壁の改変や糖化酵素活性の向上などによるバイオ燃料生産時の効率の向上が世界的な分子育種課題となっている (Yuan *et al.*, 2008)。一方、作物の環境ストレス耐性を増強するための育種研究においては、実際の栽培環境で効果が発揮できる品種改良が求められる (Mittler and Blumwald, 2010)。そこでは、複合的な環境ストレス耐性を付与する多因子を対象とした複雑な品種改良を行う必要が生じてきている。気候や土壌による環境ストレスへの耐性強化に直結するトランスポーターに関する研究は、新たな社会的ニーズから生じる品種改良に貢献できると考えられる。

3. 高ミネラル含量作物の作出に向けた研究

これまでに作物の生産性を上げるだけでなく、栄養状態や健康改善のために食料や飼料において栄養価を強化した品種開発が数多く行われてきた (Hirschi, 2009)。WHOによると (2008)、世界中において約20億人が貧血症であり、その半分は鉄欠乏が原因であるとされている。また、亜鉛やヨウ素も世界人口の30%が欠乏状態で、銅やカルシウム欠乏状態も少なくない (White and Broadley, 2009)。コペンハーゲン・コンセンサス2008においても (<http://www.copenhagenconsensus.com>)、ビタミンA、亜鉛、鉄、ヨウ素の栄養不良改善対策や高栄養化に向けた品種改良は、国際的最優先課題に取り上げられるなど、その重要性は国際的に共有されている。

ビタミンA不足を補うことを目的に、トウモロコシ由来のフィトエン合成酵素と細菌由来のカロテン不飽和化酵素をコードする遺伝子を組み換えてβ-カロテンを増加させた新しいタイプのゴールデンライスが育成された (Paine *et al.*, 2005)。同様な改良はトウモロコシ、セイヨウアブラナ (*Brassica napus*)、トマト (*Solanum lycopersicum*) など多くの作物で行われβ-カロテンを増加させた多数の作物品種が作出されている (White and Broadley, 2009)。また、トウモロコシではQTLとして検出されたβ-カロテンヒドロキシラーゼをコードする遺伝子について、その低発現量を示す遺伝子多型と高β-カロテン含量との関連があり、その有利なハプロタイプは選抜育種利用に期待されている (Yan *et al.*, 2010)。

一方、植物の高無機栄養への改良は、そのような代謝工学的な改変による可食部の有機栄養素の改良とは異なり、土壌中からの無機栄養の吸収、地上部への輸送や可食部へ

の蓄積といった無機栄養の輸送システムの改変が有効であると考えられる (Colangelo and Gueriot, 2006)。穀物では可食部である種子でのミネラル含量を高めることが重要となるが、近年、日韓欧の研究グループによって鉄含量が高いイネが開発された。これは、イネアクティブーションタグ系統から見出された系統で、植物体内の鉄輸送に関わるニコチアナミン合成酵素をコードする遺伝子が高発現することにより種子の鉄含量が約3倍に増加した。この系統では亜鉛と銅の含量も約2倍増加していた (Lee *et al.*, 2009)。この他の鉄輸送機構に関する詳細は、本講座第1回を参照されたい。

また、アメリカ農務省農業研究局らの研究グループは、高カルシウム含量作物の作出に取り組んでいる。液胞へカルシウムを取り込むシロイヌナズナ由来のCa²⁺/H⁺対向輸送体 (Cation exchanger 1; CAX1) のN末端には自己阻害ドメインがあり、この36アミノ酸を切り詰めることによって活性型 (sCAX1; shorter CAX1) になることが知られていた (Pittman and Hirschi, 2001)。この活性型sCAX1を高発現させたニンジン (*Daucus carota*)、ジャガイモ (*Solanum tuberosum*) トマトでは、可食部の単位重量当たりのカルシウム含量は1.5から3倍増加した (Shigaki and Hirschi, 2006)。この方法で作製したトマトは、日持ちは良くなったものの、種子は非常に小さく結実の遅延や尻腐れ果実が発生し、植物の形態も大きく変化したことなど、実用上の課題は残されている。実際の作物改良ではこのような負の多面的効果を除く複合的な改良が必要であり、そのためには分子レベルでの生物プロセス解明の研究が有効である。以下、分子レベルでのイオン輸送機構解明が進んでいる亜鉛と銅輸送について研究例を紹介したい。

1) 土壌からの亜鉛、銅の吸収と品種改良

土壌中からの亜鉛 (Zn²⁺) の吸収には、生物種に広く存在するZIP (Zrt- and Irt-related protein) ファミリー遺伝子群の関与が示唆されている。シロイヌナズナ *AtZIP1* と *AtZIP3* は、亜鉛欠乏条件下の根で高発現し、酵母変異体の亜鉛輸送活性を相補したことから土壌中から亜鉛を吸収していると考えられている (Grotz *et al.*, 1998)。実際に、オオムギ (*Hordeum vulgare*) で *AtZIP1* を高発現させると、野生型に比べて亜鉛吸収量と地上部への移行率は増加し、種子中の亜鉛は増加した (Ramesh *et al.*, 2004)。イネにおいては、完全長cDNAのデータベースを用いたホモロジー検索から、10個の *OsZIP* 遺伝子が見出された。このうち、*OsZIP4*、*OsZIP5* および *OsZIP8* は *AtZIP1* と相同性率が高く細胞膜局在性が予測され、根部と地上部で亜鉛欠乏時に遺伝子発現が誘導された。これらの遺伝子をイネにおいて過剰発現させると、いずれの場合も野生株に比べて根部の亜鉛含量は増加したが、地上部の亜鉛含量は減少し生育量は低下してしまった (Ishimaru *et al.*, 2007, Lee *et al.*, 2010a, b)。

自然界に存在する近縁種間でZIP遺伝子の比較を行っ

た研究が報告されている。これによると、亜鉛超集積植物として知られるハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri*) と非集積種であるシロイヌナズナの比較マイクロアレイ解析の結果、亜鉛欠乏条件において根部での ZIP1, ZIP4, ZIP9 と根および地上部での ZIP6 の発現量が超集積植物で高いことから、これらの遺伝子は超集積性に関連する亜鉛吸収機構に寄与していると考えられている (Becher *et al.*, 2004; Weber *et al.*, 2004)。また、亜鉛、カドミウム、ニッケルの超集積植物として知られるグンバイナズナ (*Thlaspi caerulescens*) の亜鉛欠乏下の根部における TcZNT1 (Zinc transporter) 遺伝子の発現量と輸送活性は、非集積種 *Thlaspi arvense* に比べて高かった (Pence *et al.*, 2000)。このようなことから亜鉛の吸収を担う輸送体を高発現させることは、亜鉛含量を増加させるために有効な手段のひとつである。しかしながら、生育阻害回避と地上部での含量増加のために根部に吸収蓄積された後の制御が必要である。超集積植物においては吸収機構に加え、その後の輸送機構などで調和のとれた制御がなされていると考えられる。

シロイヌナズナにおける二価の銅イオンの吸収には、亜鉛の吸収にも関与する ZIP2 と ZIP4 が関わっていると考えられている (Wintz *et al.*, 2003)。一方、一価の銅イオンの吸収には、COPT1 (Copper transporter) が関与していると考えられている。この遺伝子の根における発現は、根端のコルメラ、表皮、皮層細胞や側根原基で特異的に高かった (Sancenon *et al.*, 2004)。AtCOPT1 と AtCOPT3 を過剰発現させたシロイヌナズナを解析した結果、銅含量は増加したが生育量は著しく低下した。また、過剰な銅イオンが時計遺伝子の発現量を低下させ、既日リズムに変化を与えていることがわかった (Andrés-Colás *et al.*, 2010)。このようなことから、生育量を維持または増加させるためには、吸収量増加と共に目的金属に対する耐性を強化することも必要であると考えられる。

2) 細胞内輸送に関わる品種改良

細胞に取り込まれた過剰な遊離の金属イオンは、フィトケラチンやメタロチオネインとキレート結合し無毒化される (Clemens, 2001)。シロイヌナズナにおいて亜鉛は、液胞膜に局在する $\text{Zn}^{2+}/\text{H}^{+}$ 対向輸送体である MTP1/ZAT1 (Metal tolerance protein/ Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana*) と MTP3 や ZIF1 (Zinc-induced facilitator) によって液胞内に取り込まれ蓄積、無毒化されると考えられている (Kobae *et al.*, 2004; Arrivault *et al.*, 2006; Haydon and Cobbett, 2007)。MTP3 は亜鉛過剰下の表皮や皮層や根毛で特に高発現するが、過剰発現シロイヌナズナでは、亜鉛過剰下での生育量と根部、ロゼット葉の亜鉛含量は増加したが、種子中の含量は変化しなかった。また、MTP3 発現抑制シロイヌナズナでは、地上部の亜鉛含量が増加したことから、MTP3 は高亜鉛濃度下での根から地上部への亜鉛移行を制限していると考えられた (Arrivault *et al.*, 2006)。これとは逆に、MTP1 発現抑制

シロイヌナズナでは地上部の亜鉛含量は低下し、MTP3 とは異なる機能性を示した (Desbrosses-Fonrouge *et al.*, 2005)。亜鉛超集積植物ハクサンハタザオの亜鉛耐性には、MTP1 遺伝子のゲノムのコピー数増加と、亜鉛濃度に応じた地上部と根部での発現量増加による液胞への亜鉛輸送能が高いことが関与している (Dräger *et al.*, 2004)。一方、ZIF1 は亜鉛によって地上部と根部で発現誘導され、主に中心柱で発現するが、亜鉛過剰下では発現が亢進し、根全体で発現する。ZIF1 過剰発現シロイヌナズナの生育量は、亜鉛過剰下ではわずかに増加したが、コントロール条件下では低下した (Haydon and Cobbett, 2007)。

一方、液胞からの亜鉛排出機構は明らかにされていないが、AtNRAMP3 (Natural resistance-associated macrophage protein) と AtNRAMP4 は、液胞からの鉄排出を担っている (Lanquar *et al.*, 2005)。亜鉛超集積植物のグンバイナズナの TcNRAMP4 は、液胞膜局在で亜鉛輸送活性を示し、またその発現量はシロイヌナズナよりも高かったことから (Oomen *et al.*, 2009)、液胞からの亜鉛排出にも AtNRAMP の関与が示唆されている。ZIP により根部で過剰に吸収された亜鉛を地上部へ輸送するためには、NTP や ZIF などによって液胞に蓄積された亜鉛を排出する機構のさらなる解明が必要である。

銅は細胞に取り込まれた後、メタロシャペロンと結合し、銅イオンが必要とされる細胞小器官や分泌経路などに輸送される。AtHMA6 (Heavy metal P_{1B}-ATPase)/PAA1 (P-type ATPase of *Arabidopsis*) または AtHMA1 により葉緑体へ、AtHMA8/PAA2 によりチラコイドへ、AtHMA7/RAN1 (Responsive-to-antagonist) によりポストゴルジ体へ銅が取り込まれることがシロイヌナズナでの研究から分かってきた (Puig *et al.*, 2007; Seigneurin-Berny *et al.*, 2006)。AtHMA1 は銅により活性化されるが、その銅輸送活性は強光下での生育に特異的に作用し、また AtHMA1 過剰発現シロイヌナズナにおいては、強光および銅過剰条件下でも銅含量と生育量に変化は認められなかった (Seigneurin-Berny *et al.*, 2006)。細胞内画分への銅分配量増加のためには、銅濃度依存性分子機構の改変とメタロシャペロンなどの細胞小器官への輸送経路の強化も必要であると考えられる。

3) 根部から地上部へ

亜鉛の根から地上部へ長距離輸送のために、HMA2 と HMA4 が木部への積み込みを行っている (Hussain *et al.*, 2004)。亜鉛超集積植物のハクサンハタザオでは、MTP1 遺伝子と同様に、HMA4 遺伝子についても遺伝子コピー数増加とプロモーターの相違による内鞘と木部柔組織での組織特異的な遺伝子発現が高くなることによって、その超集積性が説明されている (Hanikenne *et al.*, 2008)。銅の場合は、HMA5 によって銅の木部への積み込みが行われると考えられている。HMA5 は銅特異的に根で発現誘導され、野生型に比べ遺伝子破壊株の根部銅含量は高く、生育量は著しく低下した (Andrés-Colás *et al.*, 2006)。ま

た、シロイヌナズナの野生種集団において、HMA5の銅結合モチーフの1アミノ酸が置換された自然変異系統では、HMA5の機能が低下したため、銅過剰下において根部から地上部への銅移行量が低く銅感受性を示した(Kobayashi *et al.*, 2008). 以上のことから、亜鉛と銅はHMA4やHMA5のプロモーターを含む遺伝子の改変による発現量増加と活性向上から、木部への積み込み量を増加させ地上部亜鉛、銅含量を増加できると考えられる。しかしながら、ハクサンハタザオHMA4を過剰発現させたシロイヌナズナは、高濃度亜鉛下で根部の生育量は増加したが、地上部では減少したことから(Hanikenne *et al.*, 2008), 地上部での過剰量に対する解毒機構や地上部での恒常性維持機構の強化が必要であると考えられる。

亜鉛と銅の種子への輸送は、木部への輸送後、鉄と同様にニコチアミンまたは有機酸などとキレート結合し、YSL (Yellow stripe-like transporter) によって篩部へ積み込まれ、YSLやOPT3 (Oligopeptide transporter) によって種子へ輸送されると考えられているが、まだ詳細は明らかにされていない(Stacey *et al.*, 2008; Curie *et al.*, 2009)。

4) より効果的な改良のために

イオン輸送機構を利用した可食部のミネラル含量を増やした作物の開発では、土壤中からのミネラル吸収機構の改良と細胞内でのイオン動態や地上部や種子への転流機構を制御することによって、より効率的な改良が期待できる。そこでは、生育を低下させないためのイオン恒常性のバランスやキャパシティの拡大が求められ、また必要な時に必要な場所で遺伝子発現を制御する時間空間的制御が必要と考えられる。これまでにOsYSL2, AtCOPT1, AtCOPT2, AtZIP2やAtZIP4トランスポーター遺伝子の転写制御因子が同定され、鉄、亜鉛および銅イオン恒常性維持に関与していることが明らかにされている(Ogo *et al.*, 2008; Yamasaki *et al.*, 2009; Assunção *et al.*, 2010)。一方、イオン輸送は翻訳後調節によっても制御されている。酵母では高濃度亜鉛状態に細胞が置かれると酵母亜鉛トランスポーターZRT1は、液胞へエンドサイトーシスで輸送され、亜鉛の取り込みを即時に抑制することが知られているが(Gitan *et al.*, 1998), 植物の養分輸送においても同様の機構が存在することが明らかにされた。シロイヌナズナBOR1は、低ホウ素条件下では中心柱側に極性局在して導管への積極的な輸送を行い、高濃度輸送後にはエンドサイトーシスによるタンパク質分解機構によって、地上部へのホウ素過剰輸送を抑制していると考えられている(Takano *et al.*, 2010)。近年のイオノーム解析では、細胞や組織の元素状態を網羅的、時間空間的に調べることが可能となってきた(Salt *et al.*, 2008)。ICP-MS (誘導結合プラズマ質量分析) による高感度な多元素分析や(e.g. Chen *et al.*, 2009), SXRF (放射光蛍光X線分析) を用いた組織レベルでの元素分布解析などでは、環境変化に応答した細胞や組織の元素動態を解析できることから、育種過程での評

価に有効であると考えられる。

いくつかの亜鉛超集積植物では、カドミウム、ニッケルや鉛などの有害元素にも超集積性も示すが、それらの元素は先に述べた亜鉛超集積性を規定するZIP, MTP, NRAMPやHMAなどによって輸送されている(Mizuno *et al.*, 2005; Hanikenne *et al.*, 2008)。例えばZIPファミリー遺伝子に属するIRT1 (Iron regulated transporter) は、土壤中の必須元素である鉄吸収を担い、亜鉛、マンガン、カドミウム輸送活性も持つが、1アミノ酸が置換されることによってそのイオン選択性に変化が生じた(Rogers *et al.*, 2000)。このようなことから、高ミネラル含量化及び可食部の有害元素低減のためには輸送体のイオン選択性も改良する必要があると考えられる。

4. バイオリソースと品種改良

上でも述べたように、超集積植物を含むモデル植物や作物の種内または種間差を利用したイオン輸送に関連する研究が数多く報告されている。例えば、超集積植物と非集積植物との比較トランスクリプトーム解析や、超集積植物のストレス下でのプロテオーム解析が実施され超集積性の分子機構の網羅的な解明が試みられている(Weber *et al.*, 2004; Farinati *et al.*, 2009)。また、植物種内または種間において、イオン含量やストレス耐性のバリエーションが見出されており、これらのいくつかはトランスポーター遺伝子のバリエーションと関連することが示されている(e.g. リンゴ酸トランスポーター: Sasaki *et al.*, 2006; クエン酸トランスポーター: Magalhaes *et al.*, 2007; 銅トランスポーター: Kobayashi *et al.*, 2008; ケイ酸トランスポーター: Mitani *et al.*, 2009)。作物の可食部におけるミネラル含量に関しても、表1に示したように、種内または種間で大きく異なる。一般的に穀類に比べて葉野菜、マメ類や塊根でのミネラル含量は高い(White and Broadley, 2005)。例えば、国際熱帯農業センター(CIAT)の報告では、600種のキャッサバ(*Manihot esculenta*)において鉄含量は最大38倍、亜鉛は14倍、銅は51倍異なる品種が存在していた(Chávez *et al.*, 2005)。このようなことから、従来育種と同様に目的形質の優れた植物種や野生種などの生物資源は、ミネラル含量強化に関する品種改良においても直接の育種材料になる。その有用性を増すために、有用形質の原因分子および原因機構をできる限り多く解明しておくことも重要である。

その際には、ゲノム情報を利用したオミクス解析および比較ゲノム学的解析などが有効である。現在、世界中の多くの大学等研究機関では、品種、栽培種、野生種などの何十万種にも及ぶ生物資源や実験用生物材料とそれらのゲノム情報といったバイオリソースの収集、保管、開発、配布を行っている。米国立生物工学情報センター(NCBI)によると、シロイヌナズナ、イネに加えてトウモロコシ、ダイズ(*Glycine max*)、ポプラ(*Populus trichocarpa*)など100種以上の植物種で全ゲノム塩基配列の解読が終了

表1 作物可食部の鉄と亜鉛含量のバリエーション

作物	栽培環境	アクセッション数	鉄 (mg kg ⁻¹)	亜鉛 (mg kg ⁻¹)	ゲノム配列解説
イネ (<i>Oryza sativa</i>)					
コアコレクション	圃場	1138	6–24	14–58	完了
選抜コレクション	水耕	10	13–22	35–61	
トウモロコシ (<i>Zea mays</i>)					
コアコレクション	圃場	1814	10–63	13–58	完了
選抜コレクション	圃場	90	14–26	17–32	
コムギ (<i>Triticum spp.</i>)					
選抜コレクション	圃場	324	25–73	25–92	進行中
野生二粒コムギ	圃場	518	15–94	30–98	
インゲンマメ (<i>Phaseolus vulgaris</i>)					
コアコレクション	圃場	1072	34–92	21–59	進行中
栽培品種	圃場	1031	34–89	21–54	
エンドウマメ (<i>Pisum sativum</i>)					
コアコレクション	ガラス温室	500	23–105	16–107	進行中
ダイショ (<i>Dioscorea alata</i>)					
コアコレクション	圃場	23	9–176	8–25	進行中
キャッサバ (<i>Manihot esculenta</i>)					
コアコレクション	圃場	162	4–49	4–18	進行中
CIAT コレクション*	圃場	600	6–230	3–38	
ブロッコリー/キャベツ/ケールなど (<i>Brassica oleracea</i>)					
コアコレクション	ガラス温室	424	59–1089	8–229	進行中
栽培品種	ガラス温室	22	69–109	33–60	
ハクサイ (<i>Brassica rapa</i>)					
コアコレクション	ガラス温室	111	60–350	23–156	進行中
ハウレンソウ (<i>Spinacea oleracea</i>)					
コアコレクション	ガラス温室	327	50–139	31–387	—

White and Broadley, 2005より抜粋. *: Chávez *et al.*, 2005.

または進行中であり、解析されていない野菜や果物などでも EST 配列情報、cDNA クローン、連鎖地図等のリソースが充実してきている。このようなゲノム情報の蓄積にともない、多くのデータベースが作製され、インターネット上の解析ツールを通して容易に扱うことが可能となっている。世界遺伝資源 (<http://www.shigen.nig.ac.jp/wgr/top/top.jsp>) は、様々なバイオリソースの入手先や比較ゲノム解析にも役立つデータベースの総合リンク集であり、一度のぞいてみてはいかがだろうか。

5. おわりに

今後は、種子やゲノムなどの生物材料と、それらのゲノム情報や生理生化学的な特性情報などのバイオリソースの充実整備が図られることが予想され、それを利用した効率的な品種開発研究の展開が期待される。例えば、DNA シーケンサーの性能向上により、遺伝子情報の少ない植物についてもこれまでよりも格段に短い時間で遺伝子情報を整備できることになり、様々な有用植物とその遺伝子情報を品種改良に利用できるであろう。また、近い将来トランスポーターの活性調節に関わる転写調節や翻訳後調節機構及び、未解明な点が多いイオン恒常性維持機構や細胞内輸送、篩部転流機構の分子レベルでのゲノム科学を利用した網羅的解明が進むであろう。今後は、そのような詳細な分子機構の知見と各植物の遺伝子情報などのバイオリソースの有効利用による、農産物の高ミネラル含量化や可食部の有害元素低減の品種改良、あるいは植物を使った環境浄化のた

めに土壌中から有害金属を排除するファイトレメディエーションの実用化などが進められると期待される。

文 献

- Andrés-Colás, N., Perea-García, A., Puig, S., and Peñarrubia, L. 2010. Deregulated copper transport affects Arabidopsis development especially in the absence of environmental cycles. *Plant Physiol.*, **153**, 170–184.
- Andrés-Colás, N., Sancenón, V., Rodríguez-Navarro, S., Mayo, S., Thiele, D. J., *et al.*, 2006. The Arabidopsis heavy metal P-type ATPase HMA5 interacts with metallochaperones and functions in copper detoxification of roots. *Plant J.*, **45**, 225–236.
- Arrivault, S., Senger, T., and Kramer, U. 2006. The Arabidopsis metal tolerance protein AtMTP3 maintains metal homeostasis by mediating Zn exclusion from the shoot under Fe deficiency and Zn oversupply. *Plant J.*, **46**, 861–879.
- Assunção, A. G., Herrero, E., Lin, Y. F., Huettel, B., Talukdar, S., *et al.*, 2010. Arabidopsis thaliana transcription factors bZIP19 and bZIP23 regulate the adaptation to zinc deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **107**, 10296–10301.
- Becher, M., Talke, I. N., Krall, L., Kramer, U. 2004. Cross-species microarray transcript profiling reveals high constitutive expression of metal homeostasis genes in shoots of the zinc hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Plant J.*, **37**, 251–268.
- Chávez, A. L., Sánchez, T., Jaramillo, G., Bedoya, J. M., Echeverry, J., *et al.*, 2005. Variation of quality traits in cassava roots evaluated in landraces and improved clones. *Euphytica*, **143**, 125–133.
- Chen, Z., Watanabe, T., Shinano, T., Ezawa, T., Wasaki, J., *et al.*, 2009. Element interconnections in *Lotus japonicus*: A systematic study of the effects of element additions on different natural

- variants. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **55**, 91–101.
- Clemens, S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*, **212**, 475–486.
- Colangelo, E. P., and Guerinot, M. L. 2006. Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **9**, 322–330.
- Collard, B. C., and Mackill, D. J. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, **12**, 557–572.
- Curie, C., Cassin, G., Couch, D., Divol, F., Higuchi, K., *et al.*, 2009. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. *Ann. Bot.*, **103**, 1–11.
- Desbrosses-Fonrouge, A. G., Voigt, K., Schröder, A., Arrivault, S., Thomine, S., and Krämer, U. 2005. *Arabidopsis thaliana* MTP1 is a Zn transporter in the vacuolar membrane which mediates Zn detoxification and drives leaf Zn accumulation. *FEBS Lett.*, **579**, 4165–4174.
- Dräger, D. B., Desbrosses-Fonrouge, A. G., Krach, C., Chardonnens, A. N., Meyer, R. C., *et al.*, 2004. Two genes encoding *Arabidopsis halleri* MTP1 metal transport proteins co-segregate with zinc tolerance and account for high MTP1 transcript levels. *Plant J.*, **39**, 425–439.
- Eathington, S. R., Crosbie, T. M., Edwards, M. D., Reiter, R. S., and Jason K. Bull, J. K. 2007. Molecular Markers in a Commercial Breeding Program. *Crop Sci.*, **47**, 154–163.
- Farinati, S., DalCorso, G., Bona, E., Corbella, M., Lampis, S., *et al.*, 2009. Proteomic analysis of *Arabidopsis halleri* shoots in response to the heavy metals cadmium and zinc and rhizosphere microorganisms. *Proteomics*, **9**, 4837–4850.
- Gitan, R. S., Luo, H., Rodgers, J., Broderius, M., and Eide, D. 1998. Zinc-induced inactivation of the yeast ZRT1 zinc transporter occurs through endocytosis and vacuolar degradation. *J. Biol. Chem.*, **273**, 28617–28624.
- Grotz, N., Fox, T., Connolly, E., Park, W., Guerinot, M. L., and Eide, D. 1998. Identification of a family of zinc transporter genes from *Arabidopsis* that respond to zinc deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 7220–7224.
- Hanikenne, M., Talke, I. N., Haydon, M. J., Lanz, C., Nolte, A., *et al.*, 2008. Evolution of metal hyperaccumulation required cis-regulatory changes and triplication of *HMA4*. *Nature*, **453**, 391–395.
- Haydon, M. J., and Cobbett, C. S. 2007. A novel major facilitator superfamily protein at the tonoplast influences zinc tolerance and accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, **143**, 1705–1719.
- Henikoff, S., Till, B. J., and Comai, L. 2004. TILLING. Traditional mutagenesis meets functional genomics. *Plant Physiol.*, **135**, 630–636.
- Hirschi, K. D. 2009. Nutrient biofortification of food crops. *Annu. Rev. Nutr.*, **29**, 401–421.
- Hussain, D., Haydon, M. J., Wang, Y., Wong, E., Sherson, S. M., *et al.*, 2004. P-type ATPase heavy metal transporters with roles in essential zinc homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **16**, 1327–1339.
- Ishimaru, Y., Masuda, H., Suzuki, M., Bashir, K., Takahashi, M., *et al.*, 2007. Overexpression of the OsZIP4 zinc transporter confers disarrangement of zinc distribution in rice plants. *J. Exp. Bot.*, **58**, 2909–2915.
- Kobae, Y., Uemura, T., Sato, M. H., Ohnishi, M., Mimura, T., *et al.*, 2004. Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana* AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis. *Plant Cell Physiol.*, **45**, 1749–1758.
- Kobayashi, Y., Kuroda, K., Kimura, K., Southon-Francis, J. L., Furuzawa, A., *et al.*, 2008. Amino acid polymorphisms in strictly conserved domains of a P-type ATPase HMA5 are involved in the mechanism of copper tolerance variation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, **148**, 969–980.
- Lanquar, V., Lelièvre, F., Bolte, S., Hamès, C., Alcon, C., *et al.*, 2005. Mobilization of vacuolar iron by AtNRAMP3 and AtNRAMP4 is essential for seed germination on low iron. *EMBO J.*, **24**, 4041–4051.
- Lee, S., Jeon, U. S., Lee, S. J., Kim, Y. K., Persson, D. P., *et al.*, 2009. Iron fortification of rice seeds through activation of the nicotianamine synthase gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **106**, 22014–22019.
- Lee, S., Jeong, H. J., Kim, S. A., Lee, J., Guerinot, M. L., and An, G. 2010a. OsZIP5 is a plasma membrane zinc transporter in rice. *Plant Mol. Biol.*, **73**, 507–517.
- Lee, S., Kim, S. A., Lee, J., Guerinot, M. L., and An, G. 2010b. Zinc deficiency-inducible OsZIP8 encodes a plasma membrane-localized zinc transporter in rice. *Mol. Cells*, **29**, 551–558.
- Lemaux, P. G. 2008. Genetically Engineered Plants and Foods: A Scientist's Analysis of the Issues (Part I). *Annu. Rev. Plant Biol.*, **59**, 771–812.
- Magalhaes, J. V., Liu, J., Guimarães, C. T., Lana, U. G., Alves, V. M., *et al.*, 2007. A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminum tolerance in sorghum. *Nat. Genet.*, **39**, 1156–1161.
- Mitani, N., Chiba, Y., Yamaji, N., and Ma, J. F. 2009. Identification and characterization of maize and barley Lsi2-like silicon efflux transporters reveals a distinct silicon uptake system from that in rice. *Plant Cell*, **21**, 2133–2142.
- Mittler, R., and Blumwald, E. 2010. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **61**, 443–462.
- Mizuno, T., Usui, K., Horie, K., Nosaka, S., Mizuno, N., and Obata, H. 2005. Cloning of three ZIP/Nramp transporter genes from a Ni hyperaccumulator plant *Thlaspi japonicum* and their Ni²⁺-transport abilities. *Plant Physiol. Biochem.*, **43**, 793–801.
- Ogo, Y., Kobayashi, T., Nakanishi Itai, R., Nakanishi, H., Kakei, Y., *et al.*, 2008. A novel NAC transcription factor, IDEF2, that recognizes the iron deficiency-responsive element 2 regulates the genes involved in iron homeostasis in plants. *J. Biol. Chem.*, **283**, 13407–13417.
- Oomen, R. J., Wu, J., Lelièvre, F., Blanchet, S., Richaud, P., *et al.*, 2009. Functional characterization of NRAMP3 and NRAMP4 from the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytol.*, **181**, 637–650.
- Paine, J. A., Shipton, C. A., Chaggar, S., Howells, R. M., Kennedy, M. J., *et al.*, 2005. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased provitamin A content. *Nat. Biotechnol.*, **23**, 429–430.
- Pence, N. S., Larsen, P. B., Ebbs, S. D., Letham, D. L., Lasat, M. M., *et al.*, 2000. The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 4956–4960.
- Pittman, J. K., and Hirschi, K. D. 2001. Regulation of CAX1, an *Arabidopsis* Ca²⁺/H⁺ antiporter. Identification of an N-terminal autoinhibitory domain. *Plant Physiol.*, **127**, 1020–1029.
- Puig, S., Andrés-Colás, N., García-Molina, A., and Peñarrubia, L. 2007. Copper and iron homeostasis in *Arabidopsis*: responses

- to metal deficiencies, interactions and biotechnological applications. *Plant Cell Environ.*, **30**, 271–290.
- Ramesh, S. A., Choimes, S., and Schachtman, D. P. 2004. Over-expression of an Arabidopsis zinc transporter in *Hordeum vulgare* increases short-term zinc uptake after zinc deprivation and seed zinc content. *Plant Mol. Biol.*, **54**, 373–385.
- Rogers, E. E., Eide, D. J., and Guerinot, M. L. 2000. Altered selectivity in an Arabidopsis metal transporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 12356–12360.
- Salt, D. E., Baxter, I., and Lahner, B. 2008. Ionomics and the study of the plant ionome. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **59**, 709–733.
- Sancenon, V., Puig, S., Mateu-Andres, I., Dorcey, E., Thiele, D. J., and Peñarrubia, L. 2004. The Arabidopsis copper transporter COPT1 functions in root elongation and pollen development. *J. Biol. Chem.*, **279**, 15348–15355.
- Sasaki, K., Aida, R., Niki, T., Yamaguchi, H., Narumi, T., Nishijima, T., Hayashi, Y., Ryuto, H., Fukunishi, N., Abe and T., Ohtsubo, N. 2008. High-efficiency improvement of transgenic torenia flowers by ion beam irradiation. *Plant Biotechnology*, **25**, 81–89.
- Sasaki, T., Ryan, P. R., Delhaize, E., Hebb, D. M., Ogihara, Y. *et al.*, 2006. Sequence upstream of the wheat (*Triticum aestivum* L.) ALMT1 gene and its relationship to aluminum resistance. *Plant Cell Physiol*, **47**, 1343–1354.
- Seigneurin-Berny, D., Gravot, A., Auroy, P., Mazard, C., Kraut, A., *et al.*, 2006. HMA1, a new Cu-ATPase of the chloroplast envelope, is essential for growth under adverse light conditions. *J. Biol. Chem.*, **281**, 2882–2892.
- Shigaki, T., and Hirschi, K. D. 2006. Diverse functions and molecular properties emerging for CAX cation/H⁺ exchangers in plants. *Plant Biol. (Stuttg)*, **8**, 419–429.
- Stacey, M. G., Patel, A., McClain, W. E., Mathieu, M., Remley, M., *et al.*, 2008. The Arabidopsis AtOPT3 protein functions in metal homeostasis and movement of iron to developing seeds. *Plant Physiol.*, **146**, 589–601.
- Takano, J., Tanaka, M., Toyoda, A., Miwa, K., Kasai, K., *et al.*, 2010. Polar localization and degradation of Arabidopsis boron transporters through distinct trafficking pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **107**, 5220–5225.
- Weber, M., Harada, E., Vess, C., Roepenack-Lahaye, E., and Clemens, S. 2004. Comparative microarray analysis of *Arabidopsis thaliana* and *Arabidopsis halleri* roots identifies nicotianamine synthase, a ZIP transporter and other genes as potential metal hyperaccumulation factors. *Plant J.*, **37**, 269–281.
- White, P. J., and Broadley, M. R. 2005. Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends Plant Sci.*, **10**, 586–593.
- White, P. J., and Broadley, M. R. 2009. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets—iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytol.*, **182**, 49–84.
- Wintz, H., Fox, T., Wu, Y. Y., Feng, V., Chen, W., *et al.*, 2003. Expression profiles of *Arabidopsis thaliana* in mineral deficiencies reveal novel transporters involved in metal homeostasis. *J. Biol. Chem.*, **278**, 47644–47653.
- World Health Organization. 2008. World prevalence of anaemia 1993–2005. WHO Global Database on Anaemia Geneva.
- Yamasaki, H., Hayashi, M., Fukazawa, M., Kobayashi, Y., and Shikanai, T. 2009. SQUAMOSA Promoter Binding Protein-Like7 Is a Central Regulator for Copper Homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **21**, 347–361.
- Yan, J., Kandianis, C. B., Harjes, C. E., Bai, L., Kim, E. H., *et al.*, 2010. Rare genetic variation at *Zea mays* crtRB1 increases beta-carotene in maize grain. *Nat. Genet.*, **42**, 322–327.
- Yuan, J. S., Tiller, K. H., Al-Ahmad, H., Stewart, N. R., and Stewart, C. N. Jr. 2008. Plants to power: bioenergy to fuel the future. *Trends Plant Sci.*, **13**, 421–429.