

## 植物の栄養吸収の制御機構の解明と 植物の栄養特性改善の可能性

藤原 徹\*

### 目 次

私の植物栄養との出会い  
当時の植物栄養学について感じたこと  
大学院時代の研究の発展  
シロイヌナズナの高濃度ホウ素要求性変異株との出会い  
不思議な BOR1  
NIP5;1の発見  
ホウ素輸送の“全容”解明  
ホウ素の翻訳装置による感知  
より統合的な理解へ  
ゲノム情報の利用  
これからの肥料科学について  
おわりに

---

\* 東京大学大学院農学生命科学研究科 教授 応用生命化学専攻 植物栄養・肥料学研究室

2018年10月23日に肥料科学研究所での講演の機会を頂いた。講演のタイトルは「植物の栄養吸収の制御機構の解明と植物の栄養特性改善の可能性」とさせていただき、私がこれまで進めてきた植物の栄養吸収機構の解明からその知見を基にした植物の栄養特性の改善や将来の方向性について話をさせていただいた。この研究は私が学生の頃から目指してきたものである。この際に紹介させていただいた内容の多くはすでに論文として公表されており、改めてその内容を詳しくご紹介することに意味があるとはあまり思えない。そこで本稿では、講演の内容について科学的な側面については総説的な紹介をさせていただき、むしろその背景や、私のその時々思いなどをご紹介しつつ、将来の植物栄養学や肥料学の研究の将来の方向性について議論させていただきたいと考えている。

## 私の植物栄養との出会い

私は1964年9月大阪に生まれた。東京オリンピックの1ヶ月前である。そのオリンピックが来年2020年に東京で再び開催されるにあたり、1964年当時の映像や写真が映し出される度に、当時のことは何一つ覚えていないのに、あの頃私は生まれたのだという不思議な感覚に捉われる。当時私が育った大阪市住吉区はまだ風呂のない市営住宅が立ち並び、近所の友達と遊び終わると銭湯（大阪では銭湯とはあまり呼ばずお風呂屋さんと呼んでいたと思う）に行ってお風呂で裸のまま遊んで注意されたりした。畑もそこここにあり、水洗便所が普及しつつあったものの、畑の片隅には肥溜もあり、子供にとっては汚れと恐怖の対象でもあった。小学校に入るとなぜか植物を育てることが理科の課題になり、1年生は朝顔、2年生はひまわりを育てた。3年生になるとジャガイモやサツマイモを水を入れた皿に入れておくと、イモから芽が出て根が出る。その様子の違いを観察した（させられたというべきか）覚えがあるが、そのような決まり切ったことは私なりに真面目に取り組んだつもりだが、あまり印象に残っていない。しかし、ジャガイモやサツマイモを実際に畑で作る方法を聞いたときにとて私にはそんなことで芋ができる

とは思えなかった。ジャガイモは芋を切って植えると芽が出て新しい芋ができる、というのはなぜかそういうものだろうと思えたが、さつまいもは芋を植えるのではなく、芋から出た茎を畑に挿しておくで根が出てその根が芋になるという。なぜそう感じたか説明はできないが、私はそんなバカな、と思った。こんな根のない貧弱な茎がどうして芋を作るのか、信じられない感覚があった。今この原稿を書くにあたって考えてみるに、小学校に入る前に私は芋掘りをしたことがあった。さつまいもである。その時は土から芋が出てくるのが楽しくて、この芋がどうして土の中にできるのかなどということには思いもよらなかったのだろうし、3年生のときにも昔の芋掘り体験を思い出したりはしなかったのかもしれない。いずれにしても、不思議な感覚だったのは妙に覚えている。どうもこの人の持つ感覚というのは、なかなか説明ができないのだが（これは単に心理学の知識不足というだけのことかもしれないが）、つい最近（2019年11月）終わったラグビーのワールドカップの試合を見て私は何故か魅入ってしまう感じになるのだが、周りの人たちには今一つ理解できないらしい。高校の時にラグビーをやってその時の辛さや痛さや苦しさや重さや、その中でも時折味わえる嬉しい感覚が30年以上経った今でも染み付いているのか何なのかはわからないが、同じものを見たり聞いたりしても人の持つ感覚は違っている。この違いはとても大切なことで、過去の植物栄養学を含めた科学の歴史、もっと広く言えば人類の歴史は個々の人の持つ独特の感覚に支配されてきているのではないかと感じる。ここまで読み進められて、植物栄養はどこに出てくるのだと思っている方もおられるかと思うが、もう少し辛抱していただきたい。

サツマイモの蔓から芋ができるということを知ったが信じられないといったことを父に話したら、父は、じゃあ植えてみよう、ということになった。父は和歌山の出身で戦争中は旧制中学生であと何年か早く生まれていたら出征していたのかもしれないが、幸い和歌山城の近くで機銃掃射にあったが運良くことなきを得た経験があるくらいで、それ以外には命の危険を感じることはあまりなく終戦を迎えたそうである。終戦後は食糧難で庭で芋をつくった

ことがあるとのこと。当時私の家族はお風呂のない（考えてみればクーラーなどという贅沢なものもない）大阪市営住宅に住んでいたの、庭も畑もなかったが、幸い1階に住んでいて窓の下の物干し場の手前の畳1畳ほどの使われていないスペースを耕すことになった。その場所をスコップで掘ると石が沢山出てきたがそれらを取り除き、父の勧めで近くの畑から畳の腐ったものをもって穴に入れて土を埋め戻してから学校で育てたサツマイモから出た茎を切り取って挿した。挿すと翌日には萎れていた。水をやっても萎れたまま。大丈夫なのかと思っていると3日目には葉がしゃきっとしてくる。根が生えているのか抜き取って調べてみたい衝動を抑えてみると、しばらくは何事も起こらずじっとしているがやがて新しい葉が出てくる。新しい葉が出てくるとやがて脇芽が伸びてくる。梅雨が明けるところにはつるが伸びて畑の地面は見えなくなる。夏休みになって蝉取りに興じる頃には道路にまでつるが伸びてつるの先が人にふまれるようになってしまう。大切に育てているサツマイモのつるが踏まれてしまうのは悲しかったがつるはどんどん伸びてどうしようもない。サツマイモは先端が踏まれてもものともせずに葉を繁らせ続けるが、お盆が過ぎ夏休みも終わりに近づくと次第に落ち着いてくる。この頃から株元の土に割れ目ができているのを見つけて、どうなのだろうととても気になりつつも、9月はじっと我慢して10月10日の体育の日掘り出すことになった。株元の土の割れ目から土をどけると赤いサツマイモが見えた。お芋ができています！と思って、大事に大事にイモを傷つけないように掘ると、子供心には両手で抱えないと持てないくらい大きなサツマイモがでてきた。重さを測りたいと思ったが家には秤はなく、お風呂屋さんに行って体重計で測らせてもらった。今から考えると土のついたイモをよく測らせてくれたものと思う。3kgくらいあった。両親は大きなイモは中が空洞になっているかもしれないよと言ったが、切ってみると中まで全部が薄黄色の綺麗なおいもだった。このイモを食べたはずできっと美味しかったのだと思うがその部分はあまりよく記憶していない。この小学校3年生の体験は、学校で習ったツルを植えるとイモができることを確かめる以

上の経験を与えてくれたと思う。作物を手入れをして肥料を与え毎日観察して育てると作物は応えてくれるような気がした。

サツマイモに味をしめた私は、色々な作物を育ててみたくなった。父は農家ではないが作物を育てた経験は豊富でいろいろなことを教えてくれた。野菜づくりの本を買い、隅から隅まで読んだ。読むと頭に入った。量をくさらせたものは堆肥と呼ばれるもので、肥料成分はあまり含まれていないが土の性質をよくしたり団粒構造を作り通気性をよくするなど書かれていた。サツマイモは肥料を与えすぎるとツルボケになることも書かれていた。そういうことを理解する前に父の勧めるままに栽培していたが、そういうことだったのかと納得した。この本には様々な野菜の育て方が書かれていて、いろんな野菜を育ててみたいと思うようになった。サツマイモが終わった畑は、エンドウやソラマメを播くのにちょうどいい時期である。毎日みているとタネをまいて何日経つとどこから土の上にてでくるか、個体でどう成長が違うのかといったことが手に取るようにわかる。私にとって植物を育てることはこの上ない楽しみであったし、今も植物をみていると幸せな気分になる。

中学、高校と忙しい日々のなかでも植物を育てることは楽しかった。ナス、キュウリ、エダマメなどの“普通”の野菜はもちろん、シヨウガや落花生、ゴボウやブドウ（巨峰）などを育てては楽しんでた。採れた野菜を母親に買ってもらって小遣いにしていた時期もあった。大学受験の際には自分が理科系科目が好きであることは明らかであったが、どの学部に行けば良いかということまで心が決まっていたわけではなかった。私は数学もかなり好きで中学三年生の時の担任の久堀勇先生が、私が数学の時間につまらなさそうにしていたのか、ある問題を出してくださった。この問題は頂角 $20^\circ$ の二等辺三角形の底角を $50^\circ : 30^\circ$ 、 $60^\circ : 20^\circ$ に分ける線分を引き、対辺にできる二つの交点を結んだ時にその線分と底角を分ける線分の作る角度を求めよ、というものであった。この問題を出されて1週間くらい考え続けた記憶がある。結局自分では解けなかったが、ある補助線を引くと見事に求められる“美しい解”があることを教えていただき、悔しくもあったがいたく感

動したのを覚えている。数学は美しいと思ったし、物理はなるほど、と思わせるものが高校まではあり、一方では植物も大好きで、理学部に行くのか、農学部に行くのか、それとも別の学部か決めようがなかった。東京大学ではそれを決めずに受験できるということを知り、また親元を離れたいという漠然とした気持ちもあり、東京大学理科二類に進むことになった。東京大学の1年生の時も、解析や線形代数は美しかったし、物理も化学も楽しかった。生物は理論よりも知識を求められているような感じがしたように思うが、2年生になると進学する学部を決めなければならない。なかなか自分では決められるものではなかったが、2年生の解析で出てきた偏微分方程式が私には理解というか頭の中でうまく想像できず苦勞した。数学がわからなくて数学の講義を聞くのがこんなに辛いのかと思った。数学科に進むことは無いと思った。また、父や叔父などは、自分の好きなことをやるのが良い、と言ってくれたがそう言われると何が好きなかわからなくなってしまうような気がしたが、好きなものは植物で、それも食べる植物で、化学も好きだから農芸化学に進むことにした。農芸化学に進んで3年生の夏学期に熊澤喜久雄先生の植物栄養学の講義を聞いたのが植物栄養学との出会いである。小学生の頃の体験もある意味で植物栄養学との出会いだったのかもしれないが、“学”と名のついた植物栄養学と出会ったのは大学の3年生である。

### 当時の植物栄養学について感じたこと

当時（1985年）は熊澤先生からは植物栄養学と肥料学という二つの講義を聞いた。学生にとって講義を聞く目的は単位を得ることがもっとも大きく、学問に触れようという意識は私自身あまり強く持っていなかったと思うが、講義を聞いて植物栄養学がどのように生まれ発展し、近年はどのような研究がなされているのか、肥料がどのように作られ、使われそれが作物生産にどう影響するのかといったお話を伺い、農業生産における肥料の重要性はよく理解でき、まだ施肥などが適切に行われていない、行えないような状況では植物栄養学や肥料学が農業生産に重要であることはよく理解できた。一方

で、最近の研究として紹介されたものの多くはいわゆる基礎研究であった。熊澤先生が研究された<sup>15</sup>Nを使ったお話も興味深く伺い、植物はそういう仕組みを持っているのだという知的興味を満足させるものではあったものの、その一方で、それがわかることによってどう農作物の生産に貢献できるのかについては当時の私にはよく理解できなかった。

3年生から4年生に進学する際には研究室を選ぶことになる。私は植物の研究をしたいと思った。3年生の学生実験でも植物の実験はなぜか楽しかった。動物の解剖などもして、それはそれで興味はあったものの私には植物の魅力は何物にも替えがたかった。当時の東京大学農学部農芸化学科で植物の研究を中心に行っていたのは、植物栄養・肥料学研究室と当時の農薬学研究室であり、どちらも面白そうであったが自分の体験に基づいて、植物栄養・肥料学研究室のお世話になることになった。

研究室に配属になるとテーマを選ぶことになる。どのような相談をしたのか、よく覚えている訳では無いが、私は当時助教の茅野充男先生のテーマを研究させていただくことになった。どのような研究室を選び、どのような卒業論文のテーマを選択するか（より正確にはどの先生の指導を受けるか）は、当時は全く認識していなかったが、その後の自分の研究に対する考え方に大きな影響を与えるものだと思う。私は茅野充男先生に指導していただいて幸運だった。茅野先生はおおらかで思いやりがあり、私のように思うこと（時にはかなり失礼なことも）を率直に述べたりする学生にも常に継続して支援をしてくださった。とても open な先生で、当時の研究室で行えなかった研究を行うために多くの研究者を紹介していただき、修士の頃から様々な研究室や機関で実験するチャンスを与えていただいた。この当時お世話になった先生方には今もご支援いただいている先生が多く、私自身の財産にもなっていると思う。茅野先生のテーマを選んでいなかったら、植物栄養学の道に進みこの原稿を書かせていただくことにはなっていなかったかもしれないと感じている。

私に与えられた当初のテーマはダイズから篩管液を取るというものであっ

た。茅野先生は当時、着任直後の助手だった林浩昭先生と篩管液の研究をしておられた。ヒメトビイロウンカを使ってイネの篩管液を採取し分析することを通じて、イネの長距離輸送に迫ろうとされていた。篩管液の採取は当時(かつ今も)限定的な植物種でしか報告されておらず、イネでは茅野先生のグループの研究が世界で初めての例であった。当時のイネやトウモロコシの篩管液の分析結果は今も引用される独自性の高い研究であると思う。こういった研究ができると嬉しいものだろうと思う。私はダイズからの篩管液採取を試みるようになった。具体的な方法は、ダイズのさやが未熟なうちに、外科的な処置によって維管束と連結した種皮を傷つけないように残したまま、未熟子葉(胚)を取り去り、空になった種皮に水をため、一定時間経過後に水を採取し、そこに含まれる糖やアミノ酸を分析するというものであった。この方法自体は既に報告されていたものであり、今から思えばおさらい実験に類するものであるが、当時は新鮮に感じ4月に研究室に配属され実験の準備を始め、5月にダイズの栽培を始めると植物がどんどん大きくなるのを毎日見るのは楽しかった。実験ができるようになったのは8月になってからであったが、大学院の試験もあり実質的には9月に実験を行い、10月に分析を進めた。このようにして採取した液を分析したところグルタミンやアスパラギンの比率が高く、種子に送られるアミノ酸の組成の特徴が明らかになった。このアミノ酸分析は当時のHPLCを使って1サンプル4時間かかり、かつ当時の私にはオートサンプラーというものの存在すら知らず、4時間おきのサンプル注入を数日続けるのは体力的に大変で、研究は体力だと感じた。この当時、林先生はイネの篩管液を穂首から採取して分析するという研究をされておられ、穂首から採取された篩管液は葉から採取されたものに比べてアミドの比率が高いことを見出されており、ダイズでも似た結果になったことはなんとなく嬉しかったように思う。今は研究室でアミノ酸分析を行うとUPLCを用いて1サンプル20分以内に分析が終わり、オートサンプラーも付いているので、30サンプルの分析をするには、装置にサンプルをセットすれば一晩で終わってしまう。今の学生には体力はそれほど必要ない



のかもしれない。実験は容易く行えれば行なえるに越したことはないのだが、容易く行えるとよく考えずに「とりあえず」実験をしてしまう傾向が強くなるように思う。苦勞の多い実験は大変であるが、それだけ思い入れができ真剣に実験デザインを考えて取り組むことにも繋がるのではないかと思う。昨年（2019年）のラグビーのワールドカップで活躍した日本チームのメンバーが多くを犠牲にして頑張ったことが自信につながったといったコメントをしているが、人は苦勞をするということで取り組む対象を真剣にとらえるようになるのかもしれない。

私が4年生の夏、大学院入試に備えた勉強をしている頃に茅野先生は国際学会に出席され、そこでコーネル大学の John F Thompson 博士からダイズの未熟子葉（種子）を無菌的に植物ホルモンを含まず、ショ糖やアミノ酸を含む培地で培養すると、種子貯蔵タンパク質が蓄積してくるとの情報を得て、私にこの未熟子葉の培養実験をしようと提案された。ダイズ種皮から浸出してくるアミノ酸組成が種子貯蔵タンパク質の蓄積にどう影響するか調べようということになった。この培養実験は楽しかった。小さなガラス製の滅菌した三角フラスコに濾過滅菌した培地をいれ、未熟子葉をいれてゆっくり振とう培養すると、日に日に子葉が大きくなっていく。黄緑色の綺麗な子葉が形は変えずに大きくなっていく様子を観察するのは楽しかった。培養後に種子貯蔵タンパク質を SDS-PAGE で調べると、グルタミンやアスパラギンを加えた培地では  $\beta$  コングリシニンやグリシニンなどの貯蔵タンパク質が蓄積してくるが、グルタミン酸やアスパラギン酸を加えた培地では貯蔵タンパク質の蓄積はわずかであった。種子に輸送されて来るアミノ酸の組成が貯蔵タンパク質の合成に重要であることが明らかになった。種子貯蔵タンパク質の蓄積は種子貯蔵タンパク質遺伝子が種子特異的に転写され翻訳されるだけでなく、翻訳に必要なアミノ酸が適切に供給されなければならないということであり、植物の代謝や輸送制御の重要性を示す一例であろう。植物は個体としては無機栄養で生育できる独立栄養生物であるが、その一部を取り出すと、従属栄養性を持っていることを実感させる結果でもあった。

植物の種子貯蔵タンパク質はヒトのタンパク源としても重要で、コメには7%程度のタンパク質が含まれており、タンパク質源としても重要であるが、一般的にヒトの必須アミノ酸含量が低く、タンパク質としての栄養価としては一般的には動物性タンパク質の方が優れている。コメのタンパク質にはリジンやトリプトファンなどが少なく、ダイズの種子貯蔵タンパク質はメチオニン含量が相対的に低いことが知られていた。ダイズの種子貯蔵タンパク質のメチオニン含量を高めることは、ダイズのタンパク質としての栄養価や品質を高める上で重要と考えられていた。そこでこのダイズの未熟子葉の培養系にメチオニンを加えてみることにした。そうすると、 $\beta$ コングリシニンの蓄積量が減り、グリシニンの蓄積量が増加した。 $\beta$ コングリシニンの中でも $\beta$ サブユニットはメチオニンを与えると蓄積しなくなった。 $\beta$ コングリシニンの $\beta$ サブユニットはその成熟型タンパク質にはメチオニン残基を含まないことが知られている。一方グリシニンはメチオニン含量が $\beta$ コングリシニンよりも高い。メチオニンを培地に与えたときのダイズ未熟子葉の反応は、メチオニンという栄養源がある時には効率よくメチオニンを蓄積するためにメチオニンを含まないタンパク質の発現を抑制し、逆にメチオニンを多く含むタンパク質をより多く蓄積させるという理にかなった反応であると考えられる。種子貯蔵タンパク質により多くの含硫アミノ酸を蓄積させることは、その植物が発芽し成長する上で有利に働くのであろう。このことは、植物は栄養条件に応じて自らの生存や成長に都合の良いように遺伝子の発現を調節しているということを意味している。植物の栄養にますます興味を持つようになったが、その一方で、現象としては面白くても仕組みを理解するだけでは、生産には貢献できないとも感じていた。どうやれば、生産を高めたり、品質を高めることができるのだろうかと考え始めた。

## 大学院時代の研究の発展

この頃、植物分野でも分子生物学の研究が行われるようになってきていた。植物栄養学分野ではまだ分子生物学は外の世界のことに扱われて

いた様な印象があるが、講義で聞く分子生物学は私にとっては新鮮であった。実験科学は、物事の仕組みについての仮説を立てて実験的に検証することを繰り返して行くが、植物栄養学を含めた生理学では植物の仕組みについての仮説を立ててもそのことを実証することは難しく、多くの実験は仮説と矛盾しない結果を得ることを目標にしていたように思う。それに比べると分子生物学の仮説は実験によって他の可能性が否定されている、つまり証明されているように感じた。もちろんこれは私の印象でもあるし、仮説の種類によっても異なることであるが、曖昧さを排除した説明は論理的でわかりやすかった。論理的に説明できるということは、その仕組みの一端を変化させるとどのような現象が起こるかを予測できる、ということでもある。いわば生物を機械のように考えている、といってもいいかもしれないこの考え方は、私にとっては生物の性質を人為的に制御する可能性を示唆しているものでもあった。

とはいえ、当時はまだ植物の何をどう明らかにすれば、知見を得るだけでなく、植物の生産性を高められるのかはよくわかっていなかった。メチオニンとダイズ種子貯蔵タンパク質の関係については、どうにかして、植物のメチオニンの合成量を高めたり、種子への転流量を増やすことができれば、ダイズ種子貯蔵タンパク質のメチオニン含量を高められるだろうと思っていたが、どのようにそれが実現できるのかは具体的にはわからなかった。植物への遺伝子導入が一般的になってくると、種子にメチオニン残基を多く持つタンパク質を発現させる試みが行われるようになってきた。これらの研究では導入された遺伝子からタンパク質の発現が検出されるが、種子全体のメチオニン含量はそれほど高まらなかった。これらの結果はメチオニンを種子に十分供給することの重要性を示唆しており、代謝や輸送の制御機構を明らかにして、メチオニン含量を高めることができればと考えるようになった。その一方では、メチオニンを与えるとメチオニンを持たない $\beta$ コングリシンニンの $\beta$ サブユニットの発現が全く見られなくなる、という現象にもとても興味があった。種子貯蔵タンパク質の組成が栽培時の栄養条件によって変化する

ことは多くの植物で報告されてきていた。また、ダイズを硫黄欠乏条件下で栽培して種子を採取するとその種子には $\beta$ コングリシニンの $\beta$ サブユニットが多く蓄積し、メチオニンを多く含むグリシニンの蓄積量が減少することがオーストラリアのグループによって報告されていた。ダイズは硫黄がどの程度利用できるかによって、種子貯蔵タンパク質の素性を柔軟に変化させるといふことであり、植物がどのような仕組みで硫黄の供給量（濃度）を知り、どのように種子貯蔵タンパク質の組成変化に結びつけているのかを知りたくなっていた。

私は修士の1年次から、茅野先生に様々な先生方をご紹介いただき、つくばの食品総合研究所の深澤親房先生、農業生物資源研究所の原田久也先生に、植物への遺伝子導入法やノーザンハイブリダイゼーションなどの実験技術を教示していただく機会を頂き、最新の分子生物学に触れさせていただいた。これらの先生方のご協力により、メチオニンを入れて培養したダイズの未熟子葉には $\beta$ コングリシニンの $\beta$ サブユニットをコードするmRNAが検出されなくなることを見出していた。どうしてそのようになるのか、論文を読み講義を聞くと、これを知るには $\beta$ コングリシニンの $\beta$ サブユニット遺伝子断片を入手して人工的に一部の配列を改変し、改変した遺伝子を植物に戻してその発現がメチオニンによって変化するかどうかを確認すれば良い、ということには理解できたが、それを実現するためには $\beta$ コングリシニンの $\beta$ サブユニットをコードする遺伝子をクローニングする必要があるということに考えが至った。当時東京大学の農芸化学におられた魚住先生から $\lambda$ ファージベクターを分与していただき、アームを精製して、ダイズから抽出したDNAを含むライブラリー作成を試みたが、全くうまくできなかった。遺伝子をクローニングするにはライブラリー構築後にブランクハイブリダイゼーションをする必要があり、その道のりはとてもとても長くて遠いものを感じられた。また、当時、 $\beta$ コングリシニンの $\beta$ サブユニット遺伝子は米国ですでにクローン化されていたが、それを分与していただける可能性があることなどは当時修士1年時の大学院生だった私にはおよびもつかなかった。

当時私がよく読んでいた Plant Physiology という雑誌は米国で出版されている雑誌で、面白い論文が沢山載っていたが、身近にこの雑誌に論文を出している人はおらず、著者はどこか別の世界にいる人の様な印象があった。

ところが、筑波でお世話になった原田先生にこの件をお話すると、原田先生は、当時東京大学遺伝子実験施設の内藤哲先生を訪ねると良いと教えてくださった。内藤先生は米国で $\beta$ コングリシンニンの $\beta$ サブユニットをコードする遺伝子を同定した Roger Beachy の研究室（当時、ワシントン大学セントルイス、生物学部）に留学しており、東京大学に戻られた後も継続して $\beta$ コングリシンニンの遺伝子発現制御の研究を進めておられた。茅野先生にコンタクトを取っていただき内藤先生と研究方針についてご相談させていただくことになった。 $\beta$ コングリシンニンの $\beta$ サブユニット遺伝子がどのようにメチオニンによって応答するのかを調べるためには、人為的に変更を加えた遺伝子の振る舞いを測定する必要があり、そのためには外来遺伝子を植物細胞に導入しなければならないということになり、内藤先生のご指導のもと、導入のためのプラスミド作成と形質転換植物の作出を教えていただくことになった。

また形質転換植物の作出には半年以上かかるということで、より迅速に結果を出せる実験系として、当時基礎生物学研究所におられた長田敏之先生には、手作りの装置を使ったエレクトロポレーション法による一過的な発現実験を教えていただいた。エレクトロポレーションでタバコ培養細胞 BY2 で種子貯蔵タンパク質遺伝子のプロモータと GUS と呼ばれるレポーター遺伝子を連結したものを導入したところ、予想外に種子貯蔵タンパク質のプロモータが種子ではない細胞でも活性を持っていることが明らかになった。残念ながら、この実験系では $\beta$ コングリシンニンの $\beta$ サブユニット遺伝子はメチオニンには応答しなかったが、内藤先生の研究室で作出した形質転換パチュニアでは導入されたサイズの遺伝子である $\beta$ コングリシンニンの $\beta$ サブユニット遺伝子の発現がメチオニンに対してきれいに応答することが、当時大学院生であった平井優美博士（現理化学研究所環境資源科学研究セン

ター)によって確かめられ、その後この研究は Plant Physiology で発表することができた (Fujiwara et al 1992)。卒業研究の際によく読んだ Plant Physiology に自分の論文が出たことはこの上ない喜びであった。また、当時内藤先生には論文執筆について極めて懇切丁寧なご指導をいただいた。論文の論理構成、細部にわたってのデータの検討など、この論文執筆の際に教えていただいた多くのことは私の研究者としての血となり肉となっていると感じているし、未だに私は内藤先生のような緻密な指導はできていないとも感じている。

### シロイヌナズナの高濃度ホウ素要求性変異株との出会い

内藤先生はその後メチオニンを過剰に蓄積するシロイヌナズナ変異株の研究に取り組み (Inaba et al 1994)、1992年に当時の北海道大学農学部分子生物学講座に栄転された。分子生物学講座では石川雅之博士 (現農研機構) がシロイヌナズナを用いた植物ウイルスの研究進めておられた。石川博士が同定した植物ウイルスの増殖が異常になる変異株の一つ、PD114株がある時不稔を示すようになった。内藤先生はこの不稔を示す様になった際に研究室で普段行われていたことで何が変わったか (変えられたか) を調査され、研究室で共通に使われていた微量要素を含む濃縮液の一つが更新されたことに気づかれた。この濃縮液にはホウ素を含む数種類の微量必須元素が含まれていたが、不稔との関連からホウ素に何らかの原因があるのではないかと推測された。PD114株に高濃度のホウ素を与えると稔実性が回復した。この現象の発見が後述する BOR1の発見に結びついている。偶然起こった予期せぬ現象についてその原因を考察された結果の発見である。ありがたいことに、私が栄養が好きなおことを知っておられた内藤先生からこの変異株を譲り受け研究させていただくことになった。表現型の遺伝を調べると劣性一遺伝子の変異である事が推測され、ホウ素の変異株という意味で BOR (boron の最初の3文字) と名付けようと考えた。当時、シロイヌナズナの変異株に新しい名前を付ける場合にはオクラホマ州立大学の Prof. David Meinke の確認を

求めることになっていた。変異株や遺伝子の名前は世界的に共通の名前を用いなければ混乱するので、よく使われる実験材料では変異株や遺伝子の名前の付け方にはルールが定められている。研究者の中には自分が見つけたりした遺伝子が実はすでに名前がついていても新たな名前をつけたりしてしまう人がいるが、そのような自己顕示的で身勝手な振る舞いは、長年に亘っての混乱の原因となってしまう。当時 David から送られてきたメールには BOR という名前がすでに使われていないことを確認したとの記述の後に、“I hope your mutant is not boring!” と書かれていた。BOR はホウ素のつもりだったが、アメリカ人には BOR という 3 文字は boring (退屈な) という言葉を思い起こさせるのだと初めて気がついた。この話は、*bor1-1* についての論文を出すことができ (Noguchi et al 1997)、私が BOR について紹介させていただく際に時折紹介させていただいたが、日本ではなかなかウケないが、国際会議などでは比較的ウケがよかった。

## BOR1の発見

*bor1-1* 変異株が見つかった段階では、どのような遺伝子の変異によってこのような表現型になるのか想像することは難しかったが、当時大学院生として入学してきた野口享太郎さん (現農研機構) の精力的な研究によりこの変異株は地上部のホウ素濃度が低いこと、根から地上部へのホウ素輸送に異常が見られることが明らかになった。どうも、“輸送” がカギらしい。

一方で原因遺伝子を見出すには遺伝的な解析が不可欠である。遺伝的な解析は当時はまだシロイヌナズナのゲノム配列は解読されておらず、かなり時間がかかったが、2000株程度の後代の解析によって、原因遺伝子の存在する範囲を15kb程度領域に狭めることができていた。その領域には3つの遺伝子があるらしいことがシロイヌナズナの比較的長いゲノム断片を組み込んだ Bacterial Artificial Chromosome の解析から明らかになってきていた。さらに *bor1-1* 変異株が持つ変異も明らかになり、どうも原因遺伝子は膜タンパク質らしいということがわかってきた。この頃は、世の中で誰も知らない

原因遺伝子を自分（たち）だけが知っている、といった、いまになって思えばある種の独占欲を満たされた状態とでもいうべき、ある種の興奮状態にあって、毎日の研究はとても楽しかった。さらに優れた大学院生にも恵まれた。この変異株の原因遺伝子を確定させ論文を主に書いた高野順平さん（現大阪府立大学生命環境科学研究科）や酵母での活性実験を手伝ってくださった三輪京子さん（現北海道大学環境科学院）らと一緒に研究をする機会に恵まれた。同定したBOR1は排出型のホウ素の輸送体であり、ホウ素の輸送体としては生物界で初めて見出されたものであることを論文に発表することができた（Takano et al 2002）。

この論文は2002年にNatureに掲載されたのであるが、Natureから受理の返事がきた時に、喜んで内藤先生の携帯電話にお電話を差し上げたところ、たまたまお留守で留守電に受理された旨のメッセージを残したことが後日広まっていったことや、当時reprintが1部千円程度（高い！）の値段であったが、嬉しくてたくさん注文したこと、論文が掲載された新聞を近所のコンビニエンスストアを回って何部も買ったのを今のように覚えている。100年以上も歴史のある一般の人でも知っているような雑誌に論文が出た事は純粋に嬉しかった。多くの人からおめでとうと言われ、それも嬉しかったが、その一方でお祝いをいってくださる方の多くは実は論文を読んでいないのだなとも感じた。それだけに、論文を隅から隅まで読んでくださった方とお話するのはとても楽しかった。

当時はそこまでの思いは強くなかったのだが、この論文をきっかけに研究費申請が通りやすくなったような実感があったが、その一方で危険なものも感じ始めていた。というのも、こういった雑誌に論文が通ったことで研究費が得られる、ということはある意味で言えば論功行賞であり、過去に対する対価のようにも感じたからである。研究費というのはこれから面白い研究をしそうな人やテーマに与えるものではないかと思っていた当時の私は多少の違和感を感じていた。また、この論文発表から10年程度経ってから私はある研究費不正の調査に関わることになってしまったのだが、そこにみえたもの



は、役に立ったり面白い研究をやっている論文を書こう、という本来あるべき姿ではなく、良い論文を書くことによって研究費を獲得し、その獲得のためにはどんな手段を使っても（データを捏造したり解釈を勝手に変えたりしても）人が良いと思っている雑誌に論文を出すのだ、という姿勢であった。そのような態度は許せないが、もっと許せないことは、その中で、真実や研究に携わる人や貴重な研究費が犠牲になっていくことであり、不正は明らかなのに不正を認めない研究者に怒りと同時にみすぼらしさを感じたことも思い出される。残念ながら研究不正は無くなっていない。表面化しているものだけだと思っている人も少ないのではないかと思う。悲しいことである。この“良い雑誌に出ている論文”を評価してしまう状況は、論文をよまずに他人を評価しようとする人たち（主に研究者）が作り出したものであるにも関わらず、今も幅を聞かせており、こういった雑誌の編集者などを厚遇したりする研究者や組織は国際的に散見される。こういった雑誌は公的資金を研究者を通じて集めて莫大な利益を挙げており、その資金の多くは公的資金である。一方で、日本ではノーベル賞受賞者が基礎研究の重要性を説いても、ある政治家が日本にはもうそういう研究に資金提供するだけの余裕はないのだと反論し、そのあおりもあって若手ポストが増えない状況が生まれている。このような商業雑誌に公的資金が吸い上げられてしまっている現状を嘆かわしく感じているのは私だけではないことを祈りたい。

## 不思議な BOR1

これまで述べたように BOR1は偶然の重なりなくしては発見されなかったと思われるが、BOR1はさらに予想していなかった現象を教えてくれた。BOR1はハウ素が十分にあると急速に分解されるのである（Takano et al 2005）。この現象を高野さんが見つけた時に、ああ面白いと思ったが、同時に不思議な気持ちも強かった。BOR1は根から地上部へハウ素を輸送する輸送体であり、BOR1がなければ導管液のハウ素濃度は低下する。培地（土）にハウ素がたくさんあれば、地上部へ効率的に輸送する必要はないばかり

か、輸送しすぎれば地上部に高濃度のホウ素が蓄積してしまい、過剰害が出るかもしれないので、ホウ素が多くなってくればBOR1はいらぬばかりかむしろ邪魔になると考えられる。そういう意味ではホウ素濃度が高い時にBOR1が分解されるのは植物が培地（土）のホウ素濃度に関わらず体内のホウ素濃度を一定範囲に保つ上では利にならなかった反応だと思われる。しかし、なぜタンパク質の分解という遺伝子発現のプロセスでは最も最後の段階で制御というなぜそんな面倒なことをするのか、はよく理解できなかった。タンパク質を作るという反応は生物にはかなりコストを要する反応であり、mRNAを合成するにも、mRNAからタンパク質を合成するにも、細胞の持つエネルギーと物質的な資源を消費する。要りもしないタンパク質をわざわざ作ってから分解するという面倒なことをするのは何か理由があるだろうと思ったが当時はなかなか想像できなかった。

また、BOR1は細胞膜に局在する輸送体であるが、細胞膜に均一に分布せず、根の細胞ではその細胞の持つ細胞膜のうちの中心柱に近い細胞膜に偏在している (Takano et al 2010)。この偏在は、植物はよくできているなど感じさせるものだった。土から吸収された栄養素が地上部に運ばれるには根の表皮細胞などが栄養を吸収するだけでなく、吸収した栄養素を内側の細胞へと運んでいく必要がある。そのためには、細胞から細胞外へホウ素を輸送するBOR1は内側（中心に近側）の細胞膜にあった方が都合が良いと思われる。このBOR1の分解と局在のしくみについては、その後、高野さんらが精力的に研究を進めており、分解や局在に必要な配列や遺伝子が明らかにされつつある。

## NIP5;1の発見

BOR1が見つかった頃、生物の世界ではマイクロアレイという網羅的な遺伝子発現解析技術が普及しつつあった。こういった新しい技術は多くの場合海外で開発され論文が発表されてからしばらくしてから日本でも使えるようになる、という経過をたどることが多いが、マイクロアレイの場合も例外で

はなかった。当時アフィメトリクスという会社が、シロイヌナズナ用の解析チップ（ガラススライドに個々の遺伝子に対応したDNAプローブをはりつけたもの）を開発しつつある段階であったが、試用品を使えることになった。BORの発見もありホウ素の研究に重点を置きつつあったことから、ホウ素欠乏にさらしたシロイヌナズナの根のサンプルを使って解析することにした。その結果、当時解析が可能であった数千個の遺伝子のうち、一つだけがホウ素欠乏条件でmRNAの蓄積量が数倍増えていた。この遺伝子がNIP5;1をコードする遺伝子であった。NIPはアクアポリンに配列が似たタンパク質であるが、植物にしか存在しておらず、水は透過させにくいことから、当時、輸送基質が何か不明確であった。その後の研究で、NIP5;1はホウ酸を拡散させる活性を持つこと、*NIP5;1*が欠損すると低ホウ素条件での生育が極端にわるくなることなどがあきらかとなり、ホウ素が輸送基質であることがわかった（Takano et al 2006）。またさらに、NIP5;1はBOR1と同様、細胞膜に局在するタンパク質であるが、BOR1とは細胞内での局在は異なり、NIP5;1は根の表皮細胞の土壤に面した側（BOR1とは反対側）に局在していることが明らかになった（Takano et al 2010）。

### ホウ素欠乏、過剰に耐性な植物の作出とその応用

BOR1やNIP5;1が見つかったことで、これらを利用して植物の栄養特性を改善できるのではないかと考えた。これらのタンパク質は輸送体であり、人為的にその発現量を変化させることで、輸送特性が変化し、場合によっては栄養特性が変化するのではないかと考えた。

BOR1を発現させると植物は培地のホウ素濃度が低くなくても、成長し結実させることができることが明らかになった。また、BOR1に加えてNIP5;1をさらに発現させると、栄養欠乏条件により強くなることが明らかになった（Miwa et al 2006, Kato et al 2009）。このような効果は作物でも認められた（Uraguchi et al 2014）。

これらの結果は私にとってはとても喜ばしいものであった。学生時代から

植物の性質をよくするためのツールを手に入れたいと考えていたものの、当時は漠然と自分が仮に研究者としての道を歩んだとしても、そういったツールで実際に植物の特性を改善するのは一生かかるようなことなのではないかと感じていた。それが、ホウ素に関わる変異株が“降ってきて”、輸送体遺伝子というツールを手に入れ、それを使ってシロイヌナズナでの実験とはいえ、植物の栄養特性を改善することができたのである。思ったより随分早く実現できたと思うと同時に、この先何をやっていけばいいのだろうという気持ちにもなったことを思い出す。

### ホウ素輸送の“全容”解明

*BOR1*にはシロイヌナズナに*BOR1*以外に6つの相同遺伝子が存在している。また*NIP5;1*の相同遺伝子もあり、それらがホウ素を輸送しているのであれば、これらの輸送体の性質を一つ残らず明らかにする必要があると感じていた。多くの学生さんなどがこの相同遺伝子の研究に貢献し、現在では*BOR2*, *BOR3*, *BOR4*, *NIP6;1*, *NIP7;1*などがホウ素の輸送に重要であることが明らかにされている (Miwa et al 2007, 2013, 2014, Tanaka et al 2008)。また作物でも相同遺伝子の役割を明らかにしてきている (Nakagawa et al 2007, Tanaka et al 2013, Hanaoka et al 2014, Perez-Castro et al 2012, Leangthitikanjana et al 2013)。

また、*BOR4*はホウ素過剰耐性に関与しているのだが、*BOR4*の過剰発現植物が10 mMという生物にとってはかなり高濃度のホウ素を含む培地で成長しているのを三輪京子さんに見せてもらった時の驚きは忘れられない (Miwa et al 2007)。その驚くべき耐性に、この先何を目標にすればいいのか、とも感じたことを記しておきたい。これを使えば世界のホウ素過剰に貢献できるのではないかというより理性的な事柄はその後に強くなってきた様に思う。

### ホウ素の翻訳装置による感知

*NIP5;1*は*BOR1*とは異なり、その mRNA の蓄積量がホウ素条件によって

変化する。どのように制御が起るのかを、田中真幸さん（現東京大学大学院農学生命科学研究科特任助教）が明らかにしてきている。*NIP5;1* mRNAの蓄積を制御しているのはプロモータ領域ではなく、5'非翻訳領域であることが明らかになり（Tanaka et al 2011）、転写ではなく mRNA 分解が重要なステップであることが明らかになった。さらに、この非翻訳領域には AUGUAA という、開始コドンの直後に終止コドンが繋がった配列が2箇所存在していた。この AUGUAA という配列には、ホウ素濃度が高い条件ではリボソームが結合し停止していることが明らかになった。リボソームの停止は、*in vitro* の小麦胚芽の翻訳系にホウ素を加えることによって再現できたことから、リボソームはホウ素濃度に応じてその挙動を変えており、ホウ素濃度が高いと AUGUAA 上で停止する一方、ホウ素濃度が低いと停止が起りにくいことがわかった（Tanaka et al 2016）。AUGUAA 上でのリボソームの停止が *NIP5;1* の翻訳を抑制するとともに、mRNA の分解を引き起こすと考えられる。この実験結果は、ホウ素は実は細胞質でリボソーム（翻訳装置）によって感知されていることを示唆している。この研究は生物界で初めて AUGUAA という配列の生物学的役割を明らかにするとともに、リボソームによる栄養感知というこれまでにないプロセスを初めて明らかにしたものと考えている。ホウ素に限らず栄養条件を変えることで翻訳が網羅的に制御されることを見だしつつあり、今後翻訳制御が栄養条件に応じた遺伝子発現制御の重要な段階として認識されていくものと考えている。

## より統合的な理解へ

ホウ素輸送に関与する多くの遺伝子が明らかになり、その特徴的な発現の場所、活性やホウ素による発現の制御などのデータが集積していけばいくほど、これらの輸送体がどのように協同して、植物個体全体としてのホウ素の植物での恒常性が維持されているのかを、私自身の頭の中で考えようとしても難しくなったが、統合的な理解なくして、作物をより改善することも困難であろうと考えていた。2007年頃からこのような思いは強くなり、統合的な理

解には多くの要素の相互作用を計算することによって、一見して人間にはどのような制御なのかがわからなくても、数式やシミュレーションで表現できるのではないかと思ひ、数理生物学会に参加したり、数学者とやりとりをさせていただくことになっていった。このような流れの中で特にイギリスの Veronica Greiniesen 博士、Stan Maree 博士に多大なご支援をいただき、シロイヌナズナの根の中で輸送体の配置や、輸送体の基質（ホウ素）による発現制御がどのように多細胞系で実現されていくのかについての二つの解析を行った。一つは輸送体の空間配置に基づくホウ素濃度推定と検証であり、モデル化によって実験的に測定することが困難な根の断面を単位時間あたりに横切るホウ素の量などを推測することを通じて、根の位置によるこれまでに知られていない役割分担を推測することができた (Shimotono and Sotta et al 2015)。また、輸送体の基質依存的な発現制御を盛り込んだ動的輸送モデルも構築した。その結果、基質依存的な発現制御の応答を遅くすると、細胞内のホウ素濃度が周期的に高くなったり低くなったりを繰り返すことが明らかになった。ホウ素濃度の大幅な変化は植物にとっておそらく都合のよくないもので、それを防ぐためには輸送体を“速く”制御することが必要条件になってしまい、そのためにコストをかけながらも BOR1 の発現制御をタンパク質レベルで行っている可能性が考えられた (Sotta et al 2017)。

## ゲノム情報の利用

これまで述べてきた研究は生物（植物）の示す現象を制御する遺伝子を見だし、それを利用して生物を改善しよう、というアプローチである。生物を構成する個々の要素を明らかにすることを通じて、全体を理解しようという考えは多くの基礎研究者の興味を中心であり、私個人としてはこのような傾向が強いのはヒトが進化の過程で身につけて来た好奇心に基づいているのではないかと思っているが、人類の食糧生産を支えるためには、基礎的知見は必ずしも必要ではない。その証拠に、人類は科学が発展する遙か前から作物を改良し、肥料を与えることで増産を実現してきた歴史がある。科学はこ

の歩みを加速させると期待されている。

近年のゲノム科学の急速な進展によって、作物の改良を高速化する技術が開発されている。家畜改良などにはゲノミックセレクションと呼ばれる手法が使われてきている。この手法は、ゲノム配列にもとづいて、その生物（作物）の挙動（収量など）を推測するというもので、精度の良い推測が可能になれば、生物（作物）の挙動（収量など）を測定する実験をしなくても、良い系統を選抜することができる、という原理に基づくものである。精度の良い推測には、同種の生物について少しずつ性質の異なる系統を多数収集し、その性質を記述するとともに、ゲノム配列を解読し、紐付けする数式を推定する必要がある。この手法はゲノム上の個々の遺伝子の機能は明らかにすることなく、生物（作物）改良を可能にするものであり、植物栄養、肥料科学分野でも適用される日は近いと考えている。

### これからの肥料科学について

世界人口を支える食糧生産を支える上での肥料の重要性は今後も変わることはないと思われるが、肥料の環境負荷問題の解決は持続的な農業や社会の実現に向けて喫緊の課題である。植物栄養分野では栄養吸収、輸送、利用の仕組みの理解に伴って、本稿で述べた研究例以外にも無機栄養の要求性の低下した植物の作出が報告されてきている。このような成果は作物の育種に応用され、施肥量を減らしても生産性の低下しない品種が開発されていくと期待される。このような品種開発によって肥料利用が低減され、農業生産のコストダウンと環境負荷の低減につながっていくものと思われる。またいわゆる ITC 農業の実現により施肥の効率化はますます進められていくであろう。

こういった技術革新の一方で、肥料利用がもたらす問題の本質は、肥料成分が生態系で循環していないことにある。肥料資源から生産された肥料に含まれる肥料成分は作物に吸収され、人類が消費したのちに、肥料資源や肥料として再生されなければ、肥料資源は減少する一方であり、環境中に放出される肥料成分は増えていくことになってしまう。環境が肥料成分を循環させ

てくれれば良いが、多くの肥料成分がそうはならない。人類を含めた生態系での肥料成分の循環を確立していくことが不可欠である。このような循環システムの確立には、土壌、植物、肥料などについての科学だけではなく、経済的、文化的、社会的な面を考慮した対策や開発が不可欠である。幅広くかつ深い知識を持つ専門家と協調して問題解決に当たる事が重要である。植物栄養学に身を置くものの一人として、将来の問題解決へ向けた努力を続けるとともに、この問題解決を担う若い人材を支援し、より多くの優秀な若手の参画を促していきたいと考えている。肥料科学研究所でのお話の機会をいただいたことに改めて感謝するとともに、こういった講演会はより若者が参加しやすい場所や日時を選んで開催していただけるなど、若手の支援を是非ともお願いしたいと考える次第である。

## おわりに

本稿の準備に当たっては肥料科学研究所の尾和尚人博士に多大なご協力をいただいたことに感謝する。本稿に記した研究は本文中にご紹介させていただいた方々以外にも多くの方々や研究費のご支援のもと進めることができたものであり、この場を借りて改めてお礼申し上げたい。

## 文献

Rapid transporter regulation prevents substrate flow traffic jams in boron transport.  
Sotta, N., Duncan, S., Tanaka, M., Sato, T., Marée, A. F., Fujiwara, T., & Grieneisen, V. A.  
*eLife* 6:e27038 (2017)

The Minimum Open Reading Frame, AUG-Stop, Induces Boron-Dependent Ribosome Stalling and mRNA Degradation  
Tanaka, M., Sotta, N., Yamazumi, Y., Yamashita, Y., Miwa, K., Murota, K., Chiba, Y., Hirai, MY., Akiyama, T., Onouchi, H., Naito, S. and Fujiwara, T  
*Plant Cell* tpc.00481.2016. (2016)

Mathematical modeling and experimental validation of the spatial distribution of



boron in the root of *Arabidopsis thaliana* identify high boron accumulation in the tip and predict a distinct root tip uptake function.

Shimotohno A\*, Sotta N\*, Sato T., De Ruvo M., Maree AF., Grieneisen VA\* and Fujiwara, T.

*Plant Cell Physiol.* 56:620-630 (2015)

Generation of boron-deficiency-tolerant tomato by overexpressing an *Arabidopsis thaliana* borate transporter AtBOR1.

Uraguchi S., Kato Y., Hanaoka H., Miwa K. and Fujiwara, T.

*Front Plant Sci.*5:125. (2014)

*Arabidopsis thaliana* BOR4 is upregulated under high boron conditions and confers tolerance to high boron.

Miwa, K., Aibara, I. and Fujiwara, T.

*Soil Science and Plant Nutrition* 60: 349-355 (2014)

OsNIP3;1, a rice boric acid channel, regulates boron distribution and is essential for growth under boron-deficient conditions.

Hanaoka, H., Uraguchi, S., Takano, J., Tanaka, M. and Fujiwara, T.

*The Plant Journal* 78: 890-902 (2014)

Roles of BOR2, a Boron Exporter, in Cross Linking of Rhamnogalacturonan II and Root Elongation under Boron Limitation in *Arabidopsis*

Miwa K, Wakuta S, Takada S, Ide K, Takano J, Naito S, Omori H, Matsunaga T, Fujiwara, T.

*Plant Physiology* 163: 1699–1709 (2013)

Roles of Pollen-Specific Boron Efflux Transporter, OsBOR4, in the Rice Fertilization Process

Tanaka N, Uraguchi S, Saito A, Kajikawa M, Kasai K, Sato Y, Nagamura Y, Fujiwara, T.

*Plant Cell Physiol.* 54:2011-2019 (2013)

Differential expression of three BOR1 genes corresponding to different genomes in response to boron conditions in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.)

Leaungthitikanjana, S., Fujibe, T., Tanaka, M., Wang, S., Sotta, N., Takano, J. Fujiwara, T.

*Plant Cell Physiol.* 54:1056-1063 (2013)

VvBOR1, the Grapevine Ortholog of AtBOR1, Encodes and Efflux Boron Transporter That is Differentially Expressed Throughout Reproductive Development of *Vitis vinifera* L.

Perez-Castro,R., Kasai, K., Gainza-Cortes, F., Ruiz-Lara, S., Casaretto, J., Pena-Cortes, H., Tapia, J., Fujiwara, T. and Gonzalez, E.

*Plant Cell Physiol.* 53: 485-494 (2012)

Boron dependent degradation of *NIP5;1* mRNA for acclimation to excess boron conditions

Tanaka M, Takano J, Chiba Y, Lombardo F, Ogasawara Y, Onouchi H, Naito S, Fujiwara, T

*Plant Cell* 23: 3547-3559 (2011)

Polar localization and degradation of Arabidopsis boron transporters through distinct trafficking pathways.

Takano J, Tanaka M, Toyoda A, Miwa K, Kasai K, Fuji K, Onouchi H, Naito S, Fujiwara, T

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107:5220-5225 (2010)

Highly boron deficiency-tolerant plants generated by enhanced expression of NIP5;1, a boric acid channel

Kato Y, Miwa K, Takano J, Wada M, Fujiwara, T

*Plant Cell Physiol.* 50: 58-66 (2009)

NIP6;1 is a boric acid channel for preferential transport of boron to growing shoot tissues in *Arabidopsis thaliana*.

Tanaka M, Wallace I, Takano J, Roberts RM, Fujiwara, T

*Plant Cell* 20:2860-2875 (2008)

Plants tolerant of high boron levels.

Miwa K, Takano J, Omori H, Seki M, Shonozaki K, Fujiwara, T

*Science* 318:1417 (2007)

Cell-type specificity of the expression of Os *BOR1*, a rice efflux boron transporter gene, is regulated in response to boron availability for efficient boron uptake and xylem loading.

Nakagawa Y, Hanaoka H, Kobayashi M, Miyoshi K, Miwa K, Fujiwara, T

*Plant Cell* 19: 2624-2635 (2007)

Improvement of seed yields under boron-limiting conditions through overexpression of BOR1, a boron transporter for xylem loading, in *Arabidopsis thaliana*

Miwa K, Takano J, Fujiwara, T

*Plant J.* 46: 1084-1091 (2006)

The *Arabidopsis* major intrinsic protein NIP5;1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation

Takano J, Wada M, Ludewig U, Schaaf G, von Wirén N, Fujiwara, T  
*Plant Cell* 18: 1498-1509 (2006)

Endocytosis and degradation of BOR1, a boron transporter of *Arabidopsis thaliana*, regulated by boron availability

Takano J, Miwa K, Yuan L, von Wirén N, Fujiwara, T  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 12276-12281 (2005)

*Arabidopsis* boron transporter for xylem loading.

Takano J, Noguchi K, Yasumori M, Kobayashi M, Gajdos Z, Miwa K, Hayashi H, Yoneyama T, Fujiwara, T  
*Nature* 420: 337-340 (2002)

*bor1-1*, an *Arabidopsis thaliana* mutant that requires a high level of boron.

Noguchi K, Yasumori M, Imai T, Naito S, Matsunaga T, Oda H, Hayashi H, Chino M, Fujiwara, T  
*Plant Physiol.* 115:901-906 (1997)

Isolation of an *Arabidopsis thaliana* mutant, *mtol*, that over-accumulate soluble methionine.

Inaba K, Fujiwara, T, Hayashi H, Chino M, Komeda Y, Naito S  
*Plant Physiol.* 104: 881-887 (1994)

Effects of sulfur nutrition on expression of the soybean storage protein genes in transgenic petunia.

Fujiwara, T, Hirai-Yokota M, Chino M, Komeda Y, Naito S  
*Plant Physiol.* 99: 263-268 (1992)