

10. 鉄の輸送とその制御機構

小林高範

キーワード 鉄, トランスポーター, キレーター, 転写因子, ユビキチンリガーゼ

1. はじめに

鉄は全ての動植物とほぼ全ての微生物の必須元素であり、ヘムや鉄硫黄クラスター、あるいは二価鉄イオンの形態でタンパク質の補因子として機能している。鉄は好気的な環境では酸化されやすく溶解度がきわめて低いため、植物は根圏の鉄を還元またはキレート化することによって効率的に吸収する機構を持つ。種々の鉄キレーターとトランスポーターが鉄の吸収だけでなく、植物体内での鉄の輸送にも関わっている。これらの鉄の吸収・輸送に関わる遺伝子の多くは鉄欠乏条件で発現が強く誘導され、鉄十分条件で発現が抑制される。この鉄欠乏応答を制御する転写因子ネットワークや、他の因子による制御が近年明らかになってきた。本稿では、植物における鉄の吸収・体内輸送とその発現制御の分子メカニズムを、イネ (*Oryza sativa*) とシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) における知見を中心に紹介する。

2. 植物による鉄の吸収機構

鉄は地殻中の重量の5%を占め、地殻中に4番目に多く存在する元素であるが、好気的な環境ではほとんどが酸化されて難溶態の三価鉄となっており、容易には吸収できない。特に、世界の耕地土壌の3割を占める石灰質土壌では、pHの高さにより鉄の溶解度がますます低下し、植物は鉄欠乏による生育不良を起こす。これは作物の生産性と品質を低下させる深刻な問題となっている (Marschner, 1995; 中西, 2010)。

植物による鉄の吸収には、根における三価鉄から二価鉄への還元が必須であると旧来は考えられていたが、東北大学農学研究所 (当時) の高城成一は、イネが湛水により鉄欠乏クロロシスを起こすことを発見し、1959年に

日本土壤肥科学会で初めて発表した (高城, 1959)。この現象は、後にイネ科植物により合成され、根から分泌される三価鉄キレート物質であるムギネ酸類 (mugineic acid family phytosiderophores; MAs) の拡散によるものであったことが分かった。イネ科植物が三価鉄をキレート化して吸収することが Takagi (1976) により *Soil Sci. Plant Nutr.* 誌に発表され、1978年にこのキレート物質の正体はムギネ酸であると Takemoto らによって同定された (Takagi, 1976; Takemoto *et al.*, 1978)。これらの結果に基づき、世界の植物栄養学者により植物の鉄吸収機構の再検証が行われ、植物の種類によって鉄獲得吸収機構が Strategy I と Strategy II に区分された (Römheld and Marschner, 1986)。その後、現在までに明らかになった分子機構はこのモデルによく合致する (図 1A)。

Strategy I はイネ科以外の高等植物が持つ鉄獲得吸収機構であり、三価鉄から二価鉄への還元が重要であることから「還元戦略」とも呼ばれる (Römheld and Marschner, 1986; Kobayashi and Nishizawa, 2012; Tsai and Schmidt, 2017)。この還元は細胞膜に局在する三価鉄キレート還元酵素 FRO により触媒され、生じた二価鉄イオン (Fe^{2+}) は細胞膜上の二価金属イオントランスポーター IRT により吸収される。これらを補助するために、 H^+ -ATPase (HA) による H^+ の分泌により根圏が酸性化される。また、根で合成されて根圏へ分泌されるクマリン類 (iron-mobilizing coumarins; IMCs) やフラビン類などの小分子化合物が、根圏での難溶態三価鉄の可溶化や二価鉄への還元に寄与することが近年明らかになってきた (Sisó-Terraza *et al.*, 2016; Tsai and Schmidt, 2017)。いくつかの IMCs の分泌は PDR/ABCG サブファミリーのトランスポーターによることが明らかになったが、フラビン類など他の関連物質の分泌トランスポーターは同定されていない。

一方、Strategy II はイネ科植物が持つ鉄吸収機構であり、MAs の三価鉄キレート能力に依存することから「キレート戦略」とも呼ばれる。根で合成された MAs は分泌トランスポーター TOM により根圏へ分泌され、難溶態三価鉄をキレート化して可溶化する (Takagi, 1976; Nozoye *et al.*, 2011)。これにより生じた Fe(III)-MAs は YS1/YSL トランスポーターにより複合体のまま吸収され

Takanori KOBAYASHI: 10. Mechanism of iron transport and its regulation in plants

石川県立大学生物資源工学研究所 (921-8836 石川県野々市市末松1-308)

Corresponding Author: 小林高範 abkoba@ishikawa-pu.ac.jp

2020年8月4日受付・2020年8月19日受理

日本土壤肥科学雑誌 第92巻 第2号 p. 141~147 (2021)

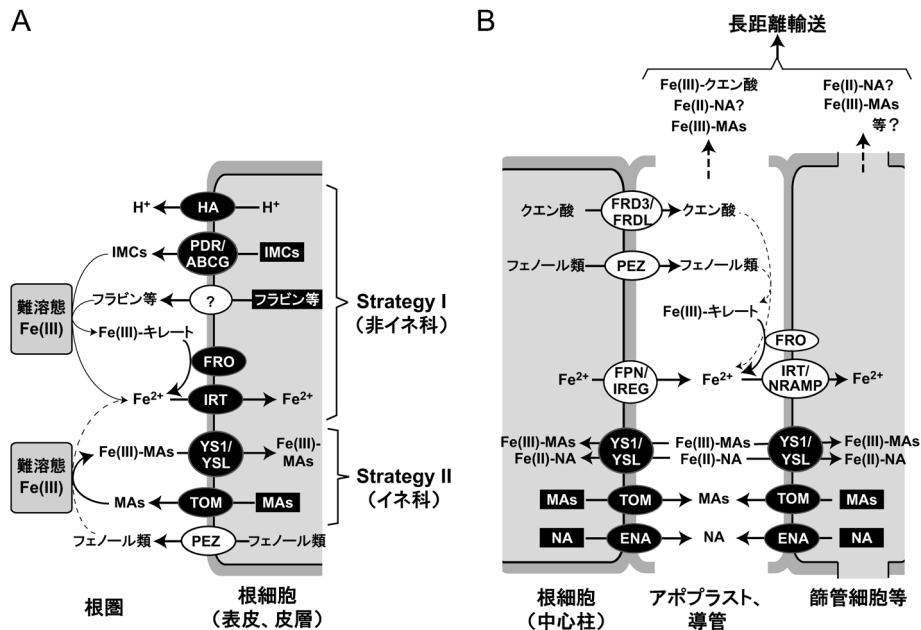


図1 植物による鉄の吸収(A)および体内輸送(B)の模式図

鉄欠乏により濃度が増加する物質および mRNA レベルでの遺伝子発現が上昇するタンパク質を黒地に白抜き文字で記す。

る (Curie *et al.*, 2009).

以上の鉄吸収機構に関わるトランスポーター、還元酵素および MAs, IMCs の生合成における鍵酵素は、植物体が鉄欠乏に陥ると根での発現が転写レベルで一斉に誘導され、根における鉄吸収活性が上昇する (図1A の白抜き文字)。また、鉄吸収を担うトランスポーターのうちシロイヌナズナの IRT (AtIRT1) とトウモロコシの YS1 (ZmYS1) は、根圏に接する外側の細胞膜に偏在する (Ueno *et al.*, 2009; Barberon *et al.*, 2014)。

このような分子機構は Römheld and Marschner (1986) のモデルを証明した一方で、非イネ科植物は Strategy I のみ、イネ科植物は Strategy II のみを持つとされた当初の想定に合わない例も見つかった。例えば、マメ科植物のピーナツ (*Arachis hypogaea*) は Strategy I により鉄を吸収するだけでなく、トウモロコシなどのイネ科植物と間作した場合には、後者が分泌した MAs の一種である 2'-デオキシムギネ酸 (2'-deoxymugineic acid; DMA) により鉄吸収が促進される。これはピーナツが根表皮に発現するトランスポーター AhYSL1 により Fe (III)-DMA を吸収できるためであることが示唆されている (Xiong *et al.*, 2013)。また、樹木のオリーブも体内に DMA を持つ (Suzuki *et al.*, 2016)。一方、イネは DMA を合成・分泌し、Strategy II により鉄を吸収するだけでなく、OsIRT1 などの二価鉄イオントランスポーターも持ったため、水田などで根圏に二価鉄が溶けている場合にはこれを吸収することができる (Ishimaru *et al.*, 2006)。これに加えてイネではプロトカテキ酸、カフェ酸といったフェノール類が MATE 型トランスポーター PEZ により根圏へ分泌され、IMCs やフラビン類と類似の働きを持つことが示唆されている (Bashir *et al.*, 2011a)。しかし、この

系は明確な鉄欠乏誘導を起こさず、鉄吸収にどの程度寄与するかは明らかになっていない。

3. 植物体内での鉄の輸送機構

鉄は植物体内で比較的転流しにくい元素であることが古くから知られており、植物の鉄欠乏は新葉における葉脈間クロロシスとして現れることが最も多い (Marschner, 1995; 中西, 2010)。植物体内における物質の輸送は、原則的には細胞内 (シンプラスト) から細胞外 (アポプラスト) への排出、死細胞である導管を介した長距離輸送、細胞内への再吸収、生細胞である篩管を介した長距離輸送や原形質連絡によるシンプラスト輸送の組み合わせによって行われている。前節で紹介した鉄の吸収に関わるトランスポーターや酵素の多くは根の表皮・外皮細胞だけでなく、カスパリー線によってこれらと隔てられた中心柱や地上部の葉などの細胞にも発現しているため、植物体内での鉄の輸送は鉄吸収機構と類似する部分が多いと考えることができる (図1B)。特に、イネなどの多くのイネ科植物においては MAs が鉄の体内輸送にも重要な役割を果たしており、MAs 生合成酵素 (NAS, NAAT, DMAS 等)、MAs 分泌トランスポーター TOM および Fe (III)-MAs 吸収トランスポーター YS1/YSL が鉄欠乏により根や葉の維管束組織などで発現誘導される (Kobayashi and Nishizawa, 2012; Kobayashi *et al.*, 2014)。これに応じて、植物体内における MAs 濃度は鉄欠乏により上昇する (Higuchi *et al.*, 2001; Kakei *et al.*, 2009)。

また、シロイヌナズナなどの非イネ科植物では、根の表皮・皮層以外の細胞でも三価鉄キレート還元酵素遺伝子 FRO が発現している (Wu *et al.*, 2005; Mukherjee *et al.*, 2006)。植物体内では FRO による三価鉄の還元が、

体内で発現している IRT や NRAMP などの二価鉄イオントランスポーターと共役することで鉄の体内輸送に関わっていると考えられる。

植物体内での鉄の輸送が外界からの鉄の吸収と決定的に異なる点として、体内輸送では細胞内から細胞外への鉄の放出が必要である点が挙げられる。植物においてこの鉄放出プロセスの実態はほとんど不明であるが、唯一明らかにされている分子がシロイヌナズナの二価金属放出トランスポーター AtFPN1/AtIREG1 である。これは動物の腸管から血液中への鉄の放出を担うトランスポーター Ferroporin (FPN) のホモログであり、根の中心柱の細胞膜に局在して、鉄をおそらく二価鉄イオンの形態で細胞外へ排出する (Morrissey *et al.*, 2009)。

鉄は植物体内においても沈殿しやすい一方で、二価鉄イオンはフリーラジカルの生成を促し、毒性を示すため、植物は生体内での鉄の移行性と安全性を保つために種々のキレーターと、それらを輸送するトランスポーターを利用している。導管における鉄のキレーターとして、特に非イネ科植物で主要なものがクエン酸であり、クエン酸放出トランスポーター FRD3/FRDL によって根中心柱の細胞から導管に分泌される (Durrett *et al.*, 2007; Yokosho *et al.*, 2009)。導管内ではクエン酸は三価鉄と複合体を形成し、地上部への鉄輸送に必須な役割を果たしている (Rellán-Álvarez *et al.*, 2010)。イネにおいては、Fe(III)-クエン酸と Fe(III)-DMA が導管内での主要な鉄の輸送形態と報告されている (Ariga *et al.*, 2014)。また、イネではプロトカテック酸、カフェ酸を PEZ トランスポーターが導管へ分泌し、アポプラストに沈着した鉄を溶解することで鉄の輸送を促進している (Bashir *et al.*, 2011a; Ishimaru *et al.*, 2011)。

篩管を介した鉄輸送に特に重要と考えられるキレーターは、MAs の前駆体でもあるニコチアナミン (nicotianamine; NA) である。NA は MAs を生合成しない非イネ科植物を含めた全ての植物で生合成され、二価鉄、三価鉄のほか多くの二価金属をキレート化する。NA は葉脈から葉脈間、あるいは生殖組織などへの鉄や亜鉛、銅などの金属輸送に必須である (Curie *et al.*, 2009)。植物体内の NA の濃度および NA 合成酵素 NAS の発現は、多くの植物で鉄欠乏により上昇する (Higuchi *et al.*, 2001; Kakei *et al.*, 2009)。イネの NA の放出トランスポーター ENA1 は鉄欠乏根の細胞膜で発現誘導され、NA を細胞外へ分泌する (Nozoye *et al.*, 2011, 2019)。しかしながら、ENA の鉄輸送への貢献は明らかになっていない。一方、Fe(III)-MAs トランスポーターとして同定された YS1 のホモログ YSL は非イネ科植物を含めた全ての植物に存在するファミリーであり、Fe(III)-MAs だけでなく Fe(II)-NA や他の金属-NA 複合体を細胞内へ輸送する (Curie *et al.*, 2009)。YS1/YSL の輸送基質特異性および発現の組織特異性や鉄欠乏応答性は、遺伝子種によって大きく異なっており、これらの性質によって植物体内の金属輸

送における役割を分担しているものと考えられる。例えば、イネには YSL ファミリートランスポーターが 18 種類存在する (Koike *et al.*, 2004)。これらのうち鉄欠乏により葉と根で発現が強く誘導される OsYSL2 は Fe(II)-NA および Mn(II)-NA を輸送基質とし、種子への鉄やマンガンの輸送に重要である (Koike *et al.*, 2004; Ishimaru *et al.*, 2010)。

これらの結果から NA が鉄の体内輸送に関わっていることは明らかであるが、イネの篩管液中では、鉄は主に Fe(III)-DMA の形態で存在すると報告されている (Nishiyama *et al.*, 2012)。NA は篩管液から周辺組織への鉄の積み下ろしに重点的に関与している可能性が考えられる。

本章で紹介した輸送は、実際には各組織の形態などの特徴に依存しており、これに応じたトランスポーターの発現局在がきわめて重要と考えられる。イネでは節において葉と穂への輸送が分子種ごとに適切に分配されており (Yamaji and Ma, 2017)、節で発現するクエン酸放出トランスポーター OsFRDL1 が穂への鉄の分配に寄与している (Yokosho *et al.*, 2016)。

4. 細胞内小器官への鉄の輸送機構

細胞内で鉄を多く必要とする小器官として代表的なものは、光化学系を持つ葉緑体などのプラスチドと、呼吸鎖を持つミトコンドリアである。さらに、プラスチドとミトコンドリアは鉄の機能形態である鉄硫黄クラスターやヘムの合成の場としても重要である。また、過剰の鉄は液胞に隔離されるほか、細胞種によってはプラスチドやミトコンドリアに存在する鉄貯蔵タンパク質フェリチンに格納される (Vigani *et al.*, 2019)。

細胞質からこれらの細胞内小器官へ鉄を輸送するトランスポーターとしては、プラスチド内膜を通してストロマへ鉄を輸送する PIC1 (Duy *et al.*, 2007)、ミトコンドリアのマトリックスへ鉄を輸送する MIT (Bashir *et al.*, 2011b)、液胞内へ鉄を輸送する VIT (Kim *et al.*, 2006) が主要なものと考えられている。一方、NRAMP トランスポーターのいくつかの分子種は、鉄を液胞から細胞質へ輸送する (Lanquar *et al.*, 2005)。これらの輸送基質は二価鉄イオンと推定されている (Vigani *et al.*, 2019)。また、プラスチドとミトコンドリアの膜には三価鉄キレート還元酵素 FRO のいくつかの分子種が局在しており、膜輸送のための二価鉄イオンを供給していると考えられる (Jain *et al.*, 2014)。これらのうち、シロイヌナズナのミトコンドリア膜に局在する AtFRO3 は鉄欠乏により葉と根で発現が強く誘導される (Wu *et al.*, 2005; Mukherjee *et al.*, 2006)。

5. 鉄輸送に関わる遺伝子の発現制御機構

前述したように、鉄の吸収や体内輸送に関わる遺伝子の多くは鉄欠乏誘導性の発現パターンを示す。この鉄欠乏応答は主に転写レベルで制御されており、さまざまな転写因

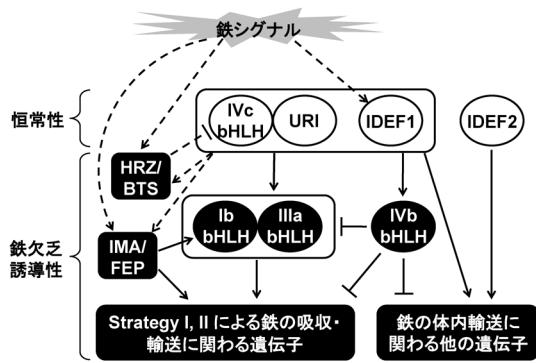


図2 鉄の吸収・輸送に関わる遺伝子の制御ネットワークの概略図

転写因子を楕円形で、それ以外の因子を角丸四角形で示す。鉄欠乏により mRNA レベルでの発現が上昇する遺伝子・タンパク質を黒地に白抜き文字で記す。未確定の経路を点線で示す。

子がネットワークを形成している。これに加えて、ユビキチンリガーゼなどによるタンパク質レベルでの制御の重要性が明らかになりつつある。イネとシロイヌナズナは別々の鉄吸収メカニズムを持つにもかかわらず、これらの制御因子の多くは両種で共通することが近年明らかになってきた (Grillet and Schmidt, 2019; Kobayashi, 2019; Schwarz and Bauer, 2020)。また、この制御因子自体にも鉄欠乏誘導性のもものと鉄栄養条件にかかわらず恒常的に発現しているものがあり、これらにより階層性を持った構造をしていると考えることができる (図2)。上位の階層を構成する因子は恒常的に発現する転写因子であり、サブグループ IVc bHLH 転写因子、URI, IDEF1, IDEF2 が含まれる。

サブグループ IVc bHLH 転写因子はイネ (Os**bHLH058/PRI2**, Os**bHLH059/PRI3**, Os**bHLH060/PRI1**)、シロイヌナズナ (At**bHLH34**, At**bHLH104**, At**bHLH105/ILR3**, At**bHLH115**)、リンゴ (Md**bHLH104**) 等で解析されており、下位の階層の制御因子を含めた多くの鉄欠乏応答性遺伝子の発現を誘導する (Kobayashi, 2019; Kobayashi *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020)。シロイヌナズナでは、この発現誘導がサブグループ IVb 転写因子の一つである At**bHLH121/URI** との結合 (ヘテロダイマーの形成) により促進されることが最近報告された (Kim *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2020)。At**bHLH121/URI** は鉄欠乏条件でリン酸化が促進され (Kim *et al.*, 2019)、あるいは自身の組織局在を変化させることにより (Gao *et al.*, 2020)、サブグループ IVc bHLH 転写因子を介して鉄シグナルを下位の階層へと伝達することが示唆されている。

一方、IDEF1 と IDEF2 はイネ科植物でのみ解析されている転写因子である (Kobayashi, 2019)。IDEF1 は主に鉄欠乏初期に、多くの鉄欠乏応答性遺伝子の発現を誘導する。また、IDEF1 は二価鉄および他の二価金属と可逆的に結合することから、鉄栄養状態を感知する鉄センサー分子である可能性が考えられる。IDEF2 は鉄の体内輸送に関わる Os**YSL2** などの発現を誘導する。IDEF1, IDEF2

の結合配列はイネだけでなくシロイヌナズナの鉄欠乏誘導性遺伝子のプロモーター領域にも高頻度で分布していることから (Kobayashi *et al.*, 2005; Schwarz *et al.*, 2020)、これらの転写因子の機能は広い植物種で保存されている可能性が考えられる。

下位の階層を構成する鉄欠乏誘導性の因子には、サブグループ Ib, IIIa, IVb bHLH 転写因子が含まれる。これらはいずれも広い植物種に存在し、イネとシロイヌナズナで幾らか機能の違いはあるものの、おおむね類似の機能を持つことが次第に明らかになってきた (Grillet and Schmidt, 2019; Kobayashi, 2019)。イネのサブグループ Ib bHLH 転写因子 Os**IRO2** は、Strategy II による鉄の吸収・輸送に関わる遺伝子群の発現を誘導する。シロイヌナズナでは、サブグループ Ib bHLH 転写因子 At**bHLH38**, At**bHLH39**, At**bHLH100**, At**bHLH101** がサブグループ IIIa bHLH 転写因子 FIT とヘテロダイマーを形成し、Strategy I による鉄の吸収に関わる遺伝子群の発現を誘導する。最近、イネの FIT ホモログである Os**bHLH156/OsFIT** が同様に Os**IRO2** とヘテロダイマーを形成し、後者の機能を支えることが報告された (Wang *et al.*, 2020a; Liang *et al.*, 2020)。

サブグループ IVb 転写因子のうち、シロイヌナズナの **PYE** は鉄の体内輸送に関わる遺伝子の発現を抑制する (Long *et al.*, 2010)。イネの Os**IRO3** は鉄の吸収と輸送に関与する多くの遺伝子の発現を抑制する (Zheng *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2020b)。一方、シロイヌナズナの At**bHLH11** は Strategy I による鉄吸収に関わる遺伝子の発現を抑制するが、**PYE** や Os**IRO3** の発現が鉄欠乏誘導性であるのに対して At**bHLH11** の発現は鉄欠乏で抑制される (Tanabe *et al.*, 2019)。また、前述した URI もサブグループ IVb 転写因子に含まれるが、URI の発現量は鉄栄養条件に大きな影響を受けない (Kim *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2020)。このようにサブグループ IVb 転写因子は種類によって自身の発現様式と転写促進/抑制の様式が異なるが、多くの場合、鉄欠乏応答の調節に重要な役割を担っていると考えられる。

以上のような転写因子による制御を調節する重要な因子として、鉄欠乏誘導性のユビキチンリガーゼ HRZ/BTS とペプチド IMA/FEP が挙げられる。HRZ/BTS とそのホモログである BTSL は、イネとシロイヌナズナの多くの鉄欠乏誘導性遺伝子の発現を転写レベルで負に制御する (Kobayashi, 2019; Rodríguez-Celma *et al.*, 2019a)。これらがユビキチン化して分解に導く基質タンパク質の候補として、イネとシロイヌナズナのサブグループ IVc bHLH 転写因子および、シロイヌナズナの URI, FIT が見いだされているが、いずれも完全には証明されていない (Kobayashi, 2019; Kim *et al.*, 2019; Rodríguez-Celma *et al.*, 2019a, b; Zhang *et al.*, 2020)。

一方、IMA/FEP は広い植物種に存在する鉄欠乏誘導性ペプチドであり、イネまたはシロイヌナズナで過剰

発現させると根においてサブグループ Ib bHLH 転写因子, Strategy-I, II による鉄吸収に関わる遺伝子などの発現が一斉に上昇することから, IMA/FEP は根における鉄欠乏誘導性を増強させる効果を持つと考えられる (Grillet *et al.*, 2018; Hirayama *et al.*, 2018; Kobayashi *et al.*, 2020). IMA/FEP が機能する分子メカニズムは全く知られていないが, 植物種間を超えた普遍的な鉄欠乏誘導に寄与していると考えられる。

興味深いことに, HRZ/BTS および IMA/FEP は鉄や他の金属と結合することから, IDEF1 と同様に鉄栄養状態を感知する鉄センサー分子である可能性が考えられる。とりわけ HRZ/BTS は, 鉄および亜鉛と結合する複数のドメインを持ち, 鉄栄養状態によって機能や性質が変化することから, 植物の細胞内鉄センサー分子の有力な候補と考えられる (Kobayashi, 2019; Rodríguez-Celma *et al.*, 2019a)。

これらの鉄欠乏応答制御とは別に, シロイヌナズナの Strategy-I 鉄吸収を担う二価鉄トランスポーター IRT1 に対する特異的な制御が知られている。IRT1 は細胞質側ドメインに亜鉛やマンガンなどの二価金属が結合することにより, CIPK23 によるリン酸化, IDF1 によるユビキチン化を経てエンドサイトーシスにより液胞へと輸送され, 分解される (Shin *et al.*, 2013; Barberon *et al.*, 2014; Dubeaux *et al.*, 2018)。この機構は, IRT1 の基質選択性が低いために鉄以外の金属を過剰に吸収してしまうことによる金属毒性を防ぐ役割があると考えられる。

6. おわりに

植物における鉄の輸送には, さまざまな分子が密接に関わっている。近年, これらの分子とその役割が, シロイヌナズナやイネを中心に分子生物学や遺伝学などの手法により解き明かされてきたが, 未解明の部分も多く残されている。例えば, 根圏への分泌物は Strategy I 植物を含めて多くの植物の鉄獲得に重要であることが明らかになりつつあるが, これらの分子の種間差とその機能, 関連する酵素やトランスポーター等の解析は今後の課題である。また, 植物体内の各組織における金属の分布や配位状態, その輸送機構には未だ不明な点が多い。遺伝子発現制御の上流における鉄感知の実体や, 発現制御の組織特異性についての知見は非常に少ない。今後の研究の進展により, これらの詳細が解明されることが期待される。

謝辞：本稿で記した内容の一部は科研費(基盤 B 18H02115)による補助を受けたものであり, ここに御礼申し上げます。

文 献

Ariga, T., Hazama, K., Yanagisawa, S., and Yoneyama, T. 2014. Chemical forms of iron in xylem sap from graminaceous and non-graminaceous plants. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **60**, 460–469.

Barberon, M., Dubeaux, G., Kolb, C., Isono, E., Zelazny, E., and Vert, G. 2014. Polarization of IRON-REGULATED TRANSPORTER 1 (IRT1) to the plant-soil interface plays crucial role in metal homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 8293–8298.

Bashir, K., Ishimaru, Y., Shimo, H., Kakei, Y., Senoura, T., Takahashi, R., Sato, Y., Sato, Y., Uozumi, N., Nakanishi, H., and Nishizawa, N.K. 2011a. Rice phenolics efflux transporter 2 (PEZ2) plays an important role in solubilizing apoplasmic iron. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **57**, 803–812.

Bashir, K., Ishimaru, Y., Shimo, H., Nagasaka, S., Fujimoto, M., Takanashi, H., Tsutsumi, N., An, G., Nakanishi, H., and Nishizawa, N.K. 2011b. The rice mitochondrial iron transporter is essential for plant growth. *Nat. Commun.*, **2**, 322.

Curie, C., Cassin, G., Couch, D., Divol, F., Higuchi, K., Le Jean, M., Misson, J., Schikora, A., Czernic, P., and Mari, S. 2009. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. *Ann. Bot.*, **103**, 1–11.

Dubeaux, G., Neveu, J., Zelazny, E., and Vert, G. 2018. Metal sensing by the IRT1 transporter–receptor orchestrates its own degradation and plant metal nutrition. *Mol. Cell*, **69**, 953–964.

Durrett, T.P., Gassmann, W., and Rogers, E.E. 2007. The FRD3-mediated efflux of citrate into the root vasculature is necessary for efficient iron translocation. *Plant Physiol.*, **144**, 197–205.

Duy, D., Wanner, G., Meda, A.R., von Wirén, N., Soll, J., and Philippar, K. 2007. PIC1, an ancient permease in *Arabidopsis* chloroplasts, mediates iron transport. *Plant Cell*, **19**, 986–1006.

Gao, F., Robe, K., Bettembourg, M., Navarro, N., Rofidal, V., Santoni, V., Gaymard, F., Vignols, F., Roschztardt, R., Izquierdo, E., and Dubos, C. 2020. The transcription factor bHLH121 interacts with bHLH105 (ILR3) and its closest homologs to regulate iron homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **32**, 508–524.

Grillet, L., Lan, P., Li, W., Mokkaapati, G., and Schmidt, W. 2018. IRON MAN is a ubiquitous family of peptides that control iron transport in plants. *Nat. Plants*, **4**, 953–963.

Grillet, L., and Schmidt, W. 2019. Iron acquisition strategies in land plants: Not so different after all. *New Phytol.*, **224**, 11–18.

Higuchi, K., Watanabe, S., Takahashi, M., Kawasaki, S., Nakanishi, H., Nishizawa, N.K., and Mori, S. 2001. Nicotianamine synthase gene expression differs in barley and rice under Fe-deficient conditions. *Plant J.*, **25**, 159–167.

Hirayama, T., Lei, G.J., Yamaji, N., Nakagawa, N., and Ma, J.F. 2018. The putative peptide gene FEP1 regulates iron deficiency response in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.*, **59**, 1739–1752.

Ishimaru, Y., Kakei, Y., Shimo, H., Bashir, K., Sato, Y., Sato, Y., Uozumi, N., Nakanishi, H., and Nishizawa, N.K. 2011. A rice phenolic efflux transporter is essential for solubilizing precipitated apoplasmic iron in the plant stele. *J. Biol. Chem.*, **286**, 24649–24655.

Ishimaru, Y., Masuda, H., Bashir, K., Inoue, H., Tsukamoto, T., Takahashi, M., Nakanishi, H., Aoki, N., Hirose, T., Ohsugi, R., and Nishizawa, N.K. 2010. Rice metal-nicotianamine transporter, OsYSL2, is required for the long-distance transport of iron and manganese. *Plant J.*, **62**, 379–390.

Ishimaru, Y., Suzuki, M., Tsukamoto, T., Suzuki, K., Nakazono,

- M., Kobayashi, T., Wada, Y., Watanabe, S., Matsuhashi, S., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., and Nishizawa, N.K. 2006. Rice plants take up iron as an Fe³⁺-phytosiderophore and as Fe²⁺. *Plant J.*, **45**, 335–346.
- Jain, A., Wilson, G.T., and Connolly, E.L. 2014. The diverse roles of FRO family metalloreductases in iron and copper homeostasis. *Front. Plant Sci.*, **5**, 100.
- Takei, Y., Yamaguchi, I., Kobayashi, T., Takahashi, M., Nakanishi, H., Yamakawa, T., and Nishizawa, N.K. 2009. A highly sensitive, quick, and simple quantification method for nicotianamine and 2'-deoxymugineic acid from minimum samples using LC/ESI-TOF-MS achieves functional analysis of these components in plants. *Plant Cell Physiol.*, **50**, 1988–1993.
- Kim, S.A., LaCroix, I.S., Gerber, S.A., and Guerinot, M.L. 2019. The iron deficiency response in *Arabidopsis thaliana* requires the phosphorylated transcription factor URI. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 24933–24942.
- Kim, S.A., Punshon, T., Lanzirrotti, A., Li, L., Alonso, J.M., Ecker, J.R., Kaplan, J., and Guerinot, M.L. 2006. Localization of iron in *Arabidopsis* seed requires the vacuolar membrane transporter VIT1. *Science*, **314**, 1295–1298.
- Kobayashi, T. 2019. Understanding the complexity of iron sensing and signaling cascades in plants. *Plant Cell Physiol.*, **60**, 1440–1446.
- Kobayashi, T., Itai, R.N., and Nishizawa, N.K. 2014. Iron deficiency responses in rice roots. *Rice (N.Y.)*, **7**, 27.
- Kobayashi, T., Nagano, A.J., and Nishizawa, N.K. 2020. Iron deficiency-inducible peptide-coding genes OsIMA1 and OsIMA2 positively regulate a major pathway of iron uptake and translocation in rice *J. Exp. Bot.*, in press.
- Kobayashi, T., and Nishizawa, N.K. 2012. Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **63**, 131–152.
- Kobayashi, T., Ozu, A., Kobayashi, S., An, G., Jeon, J.S., and Nishizawa, N.K. 2019. OsbHLH058 and OsbHLH059 transcription factors positively regulate iron deficiency responses in rice. *Plant Mol. Biol.*, **101**, 471–486.
- Kobayashi, T., Suzuki, M., Inoue, H., Itai, R.N., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., and Nishizawa, N.K. 2005. Expression of iron-acquisition-related genes in iron-deficient rice is co-ordinately induced by partially conserved iron-deficiency-responsive elements. *J. Exp. Bot.*, **56**, 1305–1316.
- Koike, S., Inoue, H., Mizuno, D., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., and Nishizawa, N.K. 2004. OsYSL2 is a rice metal-nicotianamine transporter that is regulated by iron and expressed in the phloem. *Plant J.*, **39**, 415–424.
- Lanquar, V., Lelièvre, F., Bolte, S., Hamès, C., Alcon, C., Neumann, D., Vansuyt, G., Curie, C., Schröder, A., Krämer, U., Barbier-Brygoo, H., and Thomine, S. 2005. Mobilization of vacuolar iron by AtNRAMP3 and AtNRAMP4 is essential for seed germination on low iron. *EMBO J.*, **24**, 4041–4051.
- Liang, G., Zhang, H., Li, Y., Pu, M., Yang, Y., Li, C., Lu, C., Xu, P., and Yu, D. 2020. *Oryza sativa* FER-LIKE FE DEFICIENCY-INDUCED TRANSCRIPTION FACTOR (OsFIT/OsbHLH156) interacts with OsIRO2 to regulate iron homeostasis. *J. Integr. Plant Biol.*, **62**, 668–689.
- Long, T.A., Tsukagoshi, H., Busch, W., Lahner, B., Salt, D., and Benfey, P.N. 2010. The bHLH transcription factor POPEYE regulates response to iron deficiency in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell*, **22**, 2219–2236.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants, 2nd ed. Academic Press, London.
- Morrissey, J., Baxter, I.R., Lee, J., Li, L., Lahner, B., Grotz, N., Kaplan, J., Salt, D.E., and Guerinot, M.L. 2009. The ferroportin metal efflux proteins function in iron and cobalt homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **21**, 3326–3338.
- Mukherjee, I., Campbell, N.H., Ash, J.S., and Connolly, E.L. 2006. Expression profiling of the *Arabidopsis* ferric chelate reductase (FRO) gene family reveals differential regulation by iron and copper. *Planta*, **223**, 1178–1190.
- 中西啓仁 2010. 植物栄養学 第2版, p. 133–143. 文永堂出版, 東京.
- Nishiyama, R., Kato, M., Nagata, S., Yanagisawa, S., and Yoneyama, T. 2012. Identification of Zn-nicotianamine and Fe-2'-deoxymugineic acid in the phloem sap from rice plants (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol.*, **53**, 381–390.
- Nozoye, T., Nagasaka, S., Kobayashi, T., Takahashi, M., Sato, Y., Sato, Y., Uozumi, N., Nakanishi, H., and Nishizawa, N.K. 2011. Phytosiderophore efflux transporters are crucial for iron acquisition in graminaceous plants. *J. Biol. Chem.*, **286**, 5446–5454.
- Nozoye, T., von Wirén, N., Sato, Y., Higashiyama, T., Nakanishi, H., and Nishizawa, N.K. 2019. Characterization of the nicotianamine exporter ENA1 in rice. *Front. Plant Sci.*, **10**, 502.
- Rellán-Álvarez, R., Giner-Martínez-Sierra, J., Orduna, J., Orera, I., Rodríguez-Castrillón, J.Á., García-Alonso, J.I., Abadía, J., and Álvarez-Fernández, A. 2010. Identification of a tri-iron (III), tri-citrate complex in the xylem sap of iron-deficient tomato resupplied with iron: New insights into plant iron long-distance transport. *Plant Cell Physiol.*, **51**, 91–102.
- Rodríguez-Celma, J., Chou, H., Kobayashi, T., Long, T.A., and Balk, J. 2019a. Hemerythrin E3 ubiquitin ligases as negative regulators of iron homeostasis in plants. *Front. Plant Sci.*, **10**, 98.
- Rodríguez-Celma, J., Connorton, J.M., Kruse, I., Green, R.T., Franceschetti, M., Chen, Y.T., Cui, Y., Ling, H.Q., Yeh, K.C., and Balk, J. 2019b. *Arabidopsis* BRUTUS-LIKE E3 ligases negatively regulate iron uptake by targeting transcription factor FIT for recycling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 17584–17591.
- Römheld, V., and Marschner, H. 1986. Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophore in roots of grasses. *Plant Physiol.*, **80**, 175–180.
- Schwarz, B., Azodi, C.B., Shiu, S.H., and Bauer, P. 2020. Putative cis-regulatory elements predict iron deficiency responses in *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol.*, **182**, 1420–1439.
- Schwarz, B., and Bauer, P. 2020. FIT, a regulatory hub for iron deficiency and stress signaling in roots, and FIT-dependent and-independent gene signatures. *J. Exp. Bot.*, **71**, 1694–1705.
- Shin, L.J., Lo, J.C., Chen, G.H., Callis, J., Fu, H., and Yeh, K.C. 2013. IRT1 degradation factor1, a ring E3 ubiquitin ligase, regulates the degradation of iron-regulated transporter1 in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **25**, 3039–3051.
- Sisó-Terraza, P., Rios, J.J., Abadía, J., Abadía, A., and Álvarez-Fernández, A. 2016. Flavins secreted by roots of iron-deficient *Beta vulgaris* enable mining of ferric oxide via reductive mechanisms. *New Phytol.*, **209**, 733–745.
- Suzuki, M., Nozoye, T., Nagasaka, S., Nakanishi, H., Nishizawa, N.K., and Mori, S. 2016. The detection of endogenous 2'-deoxymugineic acid in olives (*Olea europaea* L.) indicates the biosynthesis of mugineic acid family phytosiderophores in

- non-graminaceous plants. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **62**, 481–488.
- 高城成一 1959. 稲の湛水適応性に関する栄養生理的研究 第1報 稲の湛水クロロシスについて. 東北大学農学研究所彙報, **11**, 125–144.
- Takagi, S. 1976. Naturally occurring iron-chelating compounds in oat- and rice-root washing. I. Activity measurement and preliminary characterization. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **22**, 423–433.
- Takemoto, T., Nomoto, K., Fushiya, S., Ouchi, R., Kusano, G., Hikino, H., Takagi, S., Matsuura, Y., and Kakudo, M. 1978. Structure of mugineic acid, a new amino acid possessing an iron-chelating activity from roots washings of water-cultured *Hordeum vulgare* L. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B, Phys. Biol. Sci.*, **54**, 469–473.
- Tanabe, N., Noshi, M., Mori, D., Nozawa, K., Tamoi, M., and Shigeoka, S. 2019. The basic helix-loop-helix transcription factor, bHLH11 functions in the iron-uptake system in *Arabidopsis thaliana*. *J. Plant Res.*, **132**, 93–105.
- Tsai, H.H., and Schmidt, W. 2017. Mobilization of iron by plant-borne coumarins. *Trends Plant Sci.*, **22**, 538–548.
- Ueno, D., Yamaji, N., and Ma, J.F. 2009. Further characterization of ferric-phytosiderophore transporters ZmYS1 and HvYS1 in maize and barley. *J. Exp. Bot.*, **60**, 3513–3520.
- Vigani, G., Solti, Á., Thomine, S., and Philippar, K. 2019. Essential and detrimental—an update on intracellular iron trafficking and homeostasis. *Plant Cell Physiol.*, **60**, 1420–1439.
- Wang, S., Li, L., Ying, Y., Wang, J., Shao, J.F., Yamaji, N., Whelan, J., Ma, J.F., and Shou, H. 2020a. A transcription factor OsbHLH156 regulates Strategy II iron acquisition through localizing IRO2 to the nucleus in rice. *New Phytol.*, **225**, 1247–1260.
- Wang, F., Itai, R.N., Nozoye, T., Kobayashi, T., Nishizawa, N.K., and Nakanishi, H. 2020b. The bHLH protein OsIRO3 is critical for plant survival and iron (Fe) homeostasis in rice (*Oryza sativa* L.) under Fe-deficient conditions. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **66**, 579–592.
- Wu, H., Li, L., Du, J., Yuan, Y., Cheng, X., and Ling, H.Q. 2005. Molecular and biochemical characterization of the Fe(III) chelate reductase gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, **46**, 1505–1514.
- Xiong, H., Kakei, Y., Kobayashi, T., Guo, X., Nakazono, M., Takahashi, H., Nakanishi, H., Shen, H., Zhang, F., Nishizawa, N.K., and Zuo, Y. 2013. Molecular evidence for phyto-siderophore-induced improvement of iron nutrition of peanut intercropped with maize in calcareous soil. *Plant Cell Environ.*, **36**, 1888–1902.
- Yamaji, N., and Ma, J.F. 2017. Node-controlled allocation of mineral elements in Poaceae. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **39**, 18–24.
- Yokosho, K., Yamaji, N., and Ma, J.F. 2016. OsFRDL1 expressed in nodes is required for distribution of iron to grains in rice. *J. Exp. Bot.*, **67**, 5485–5494.
- Yokosho, K., Yamaji, N., Ueno, D., Mitani, N., and Ma, J.F. 2009. OsFRDL1 is a citrate transporter required for efficient translocation of iron in rice. *Plant Physiol.*, **149**, 297–305.
- Zhang, H., Li, Y., Pu, M., Xu, P., Liang, G., and Yu, D. 2020. *Oryza sativa* POSITIVE REGULATOR OF IRON DEFICIENCY RESPONSE 2 (OsPRI2) and OsPRI3 are involved in the maintenance of Fe homeostasis. *Plant Cell Environ.*, **43**, 261–274.
- Zheng, L., Ying, Y., Wang, L., Wang, F., Whelan, J., and Shou, H. 2010. Identification of a novel iron regulated basic helix-loop-helix protein involved in Fe homeostasis in *Oryza sativa*. *BMC Plant Biol.*, **10**, 166.