

植物と根粒菌の主従逆転

— 根粒菌がジベレリンを合成し、宿主の根粒数を制御する仕組みを発見 —

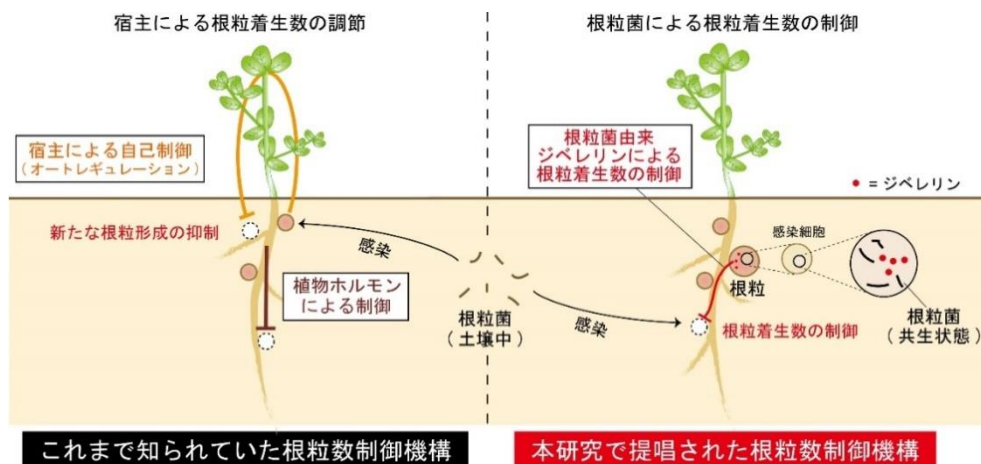
概要

根粒菌はマメ科植物と共生し、根粒を形成し、その中で窒素固定を行います。根粒は多ければ良いというものではなく、数の調節はマメ科植物の健全な生長に極めて重要です。これまで、根粒数の調節は宿主によって行われるとされてきました。

本研究では、プロテオミクスというタンパク質発現につきまして、我々が開発してきました網羅的解析手法により同定したミヤコグサ根粒菌 *Mesorhizobium loti* (以下、*M. loti*) の共生状態でのみ発現する遺伝子群に着目しました。この遺伝子群を破壊した株では、宿主と共生させた際に根粒数が有意に増加することを発見しました。さらに、その遺伝子群により植物ホルモンであるジベレリンが合成されることも発見し、*M. loti* でどのようにジベレリンが合成されるのか、その経路も決定しました。微生物におけるジベレリン合成遺伝子と合成経路を特定したのは世界初です。

M. loti がジベレリンを合成することで根粒数を一定の数に規定し、最適な窒素固定環境を構築することも発見しました。さらに、この根粒数調節機構は一部の根粒菌と対応するマメ科植物の間で共進化的に獲得されてきた形質であるという示唆も得ました。本研究で同定された根粒数制御機構は、マメ科植物—根粒菌相互作用の主従を考え直す必要を暗示し、農作物の効率的な栽培技術への応用に進展する可能性が考えられます。

本成果は Nature Publishing Group 社の学術誌 *Scientific Reports* に 6 月 16 日 18 時付け（日本時間）で掲載されました。



1. 背景

根粒菌はマメ科植物の共生微生物です。根粒菌との共生下においてマメ科植物は根粒¹を形成します。その中で宿主は根粒菌にエネルギーを供給し、根粒菌は窒素固定により植物に窒素源を供給します。根粒の過剰形成は、宿主の過度なエネルギー消費による生育阻害を引き起こすため、根粒数は適切に調節されている。これまで発見されてきた根粒数調節機構は植物自身の合成する植物ホルモンによるものや、オートレギュレーション²と呼ばれるものであり、双方とも宿主によって行われる根粒数調節機構でした。一方で、根粒菌による根粒数調節機構はこれまで報告されていませんでした。

2. 研究手法・成果

本研究では、ミヤコグサ根粒菌 *M. loti* が共生状態特異的にジベレリン³という植物ホルモンを合成することを発見し、合成したジベレリンで宿主の根粒数を負に制御していることを世界で初めて明らかにしました。

我々は、以前の *M. loti* のプロテオミクスの結果から、ミヤコグサと共生しているときのみ発現する 9 つ遺伝子から成るオペロン⁴に注目していました。その遺伝子を破壊した *M. loti* STM 変異株⁵を用いて共生実験を行ったところ、野生株を接種した宿主では接種後 4 週間で根粒数が一定の値に落ち着くのに対し、STM 変異株を接種した宿主では接種後 4 週間で根粒数が増加しました。さらに、根粒あたりの窒素固定能の減少も確認しました。

次に、オペロンの機能を確認しました。まず、目的のオペロンを人工的に誘導できるように遺伝子改変した *M. loti* 変異株を構築し、その培養上清にのみ生産される分子の特定を行いました。その結果、このオペロンの機能が、ジベレリンの合成であることを発見しました。さらに、このオペロン内の各遺伝子の機能も解明し、根粒菌のジベレリン合成経路を同定しました。さらに、*M. loti* STM 変異株を接種した宿主にジベレリンを外部から接種すると、根粒が標準的な個数まで減少したことから、ジベレリンの根粒形成抑制作用も確認しました。これらの結果から、根粒を形成した根粒菌がジベレリンを合成することで新たにできる根粒数を調節していることが明らかになりました。

また、このジベレリン合成オペロンが特定の根粒菌にのみ存在していること明らかにしました。マメ科植物には、有限根粒(Determinate nodule)を形成する種と、無限根粒(Indeterminate nodule)を形成する種に分類できます。そして有限根粒を作る植物においての

¹ 根粒菌との共生によってマメ科植物の根に生じるこぶのこと。根粒菌は这其中で宿主と細胞内共生し、窒素固定を行う。

² 宿主植物が、自らの生育状態に合わせて根粒の着生数を調節する機構。植物ホルモンによる局所的な根粒形成制御と異なり、全身的に根粒形成数を調節する。

³ 種子の発芽、茎および葉の伸長、花成や果実の肥大など様々な植物の生長プロセスを制御する植物ホルモン。これまでに 136 種類のジベレリン分子種が確認されている。

⁴ 一つの転写因子によって同時に発現が制御される複数の遺伝子が存在するゲノム上の領域、あるいはその複数の遺伝子の組のこと。

⁵ Signature Tagged Mutagenesis を用いてトランスポゾン挿入した変異株。

み、ジベレリンによる根粒数抑制効果があることが知られていました。これまでにゲノムが解析されている根粒菌について、ジベレリン合成遺伝子を保持しているかを調べると、少なくとも有限根粒を形成する宿主に感染できる根粒菌においてのみ、ジベレリン合成遺伝子を保持していることが分かりました。この結果は、根粒菌のジベレリン合成遺伝子が、有限根粒を形成する宿主との共進化によって獲得されたことを強く示唆しています。

最後に、ジベレリンを生産できる野生株と、ジベレリンを生産しない STM 変異株を同一の宿主に接種したところ、宿主に共生する STM 変異株の割合が減少しました。このことは、根粒菌の生産するジベレリンが、根粒内での根粒菌の健全な生育にとって重要であるということを示唆しています。

まとめると、本研究では根粒菌が根粒内でジベレリンを合成し、宿主の根粒形成数を制御していることが明らかにしました。また、細菌でのジベレリン合成遺伝子・合成経路を世界で初めて同定しました。さらに、根粒菌が主体的に宿主の根粒数を変化させるという従来の説とは「主従逆転」の現象を発見しました。

3. 波及効果

本研究の結果は、根粒菌の新たな機能を発見し、その共進化的な獲得を示したことから、マメ科植物—根粒菌相互作用の更なる理解に貢献すると考えております。また、根粒菌の改変により根粒数を人工的に調節できることを示していることから、より宿主の生育を促進する根粒菌を作出し、これまで夢でもありました各種農作物の効率的な生産にも応用できる可能性が出てきました。

<書誌情報>

掲載誌： *Scientific Reports* 6:27998; DOI:10.1038/srep27998

タイトル： Rhizobial gibberellin negatively regulates host nodule number

著者：立上 陽平 (たつかみ ようへい) 日本学術振興会特別研究員(DC1))、博士課程 3 年

京都大学大学院農学研究科

植田 充美 (うえだ みつよし) 教授

京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻生体高分子化学分野