

トマト根に定着する細菌からトマトの毒を分解する酵素を発見

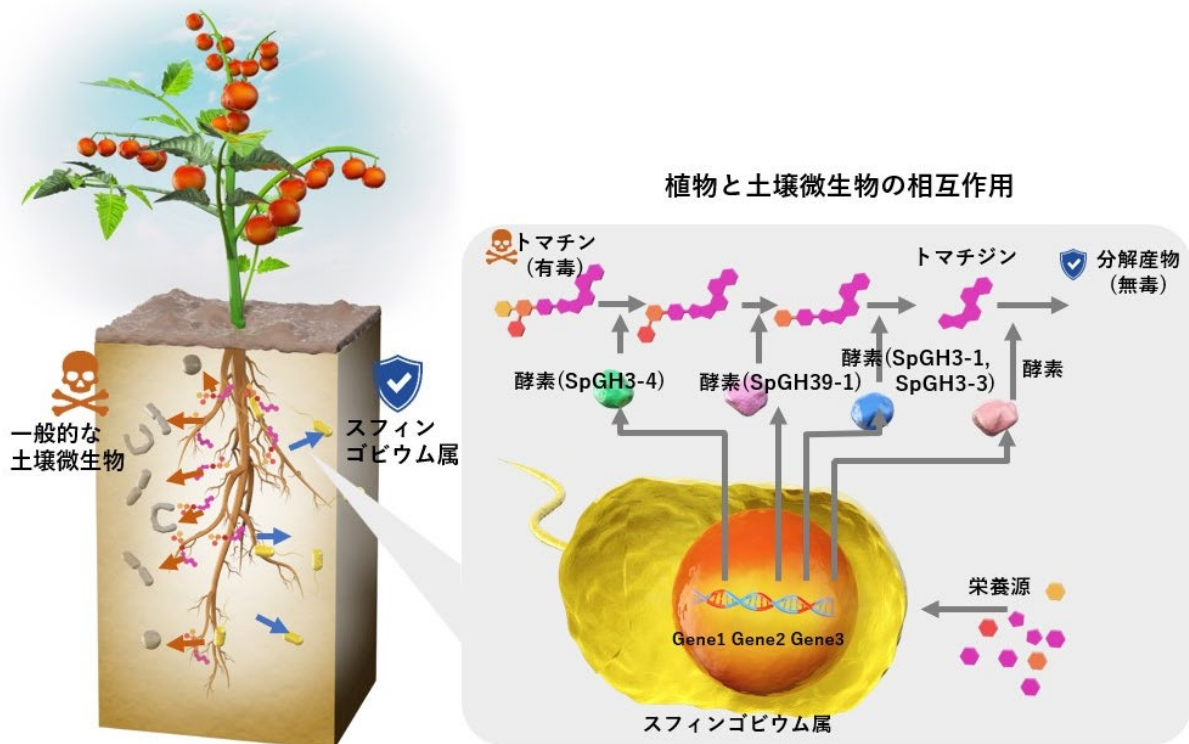
— 土壌微生物が植物の分泌する有害成分を解毒するメカニズムの理解に貢献 —

概要

トマチンはサポニン的一种であり、トマトが生産する主要な植物特化代謝産物として植物体全体に蓄積します。トマチンは苦味・有毒物質であるため、病原菌や捕食者からの防御に関わることが知られていました。さらに、私たちのグループは、近年、トマチンが根から土壤中に分泌され、スフィンゴモナス科を増加させて根の周りの微生物コミュニティを変化させる機能を持つことを見出しました (<https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2021-02-26-3>)。しかし、トマト根圏に増加するスフィンゴモナス科の細菌がどのように有毒なトマチンに対処しているのかは不明でした。

京都大学 中安大 生存圏研究所特任助教、杉山暁史 生存圏研究所准教授、高松恭子 農学研究科博士課程学生、青木裕一 東北大学講師、山崎真一 同研究員、白須賢 理化学研究所グループディレクター、増田幸子 同研究員らの研究グループは、トマト根やトマチンを添加した土壌から多数のスフィンゴモナス科スフィンゴビウム属の細菌を単離し、ゲノム解析、トランスクリプトーム解析と大腸菌で発現させた酵素を用いた活性測定を行うことによりスフィンゴビウム属の細菌がトマチンを加水分解して解毒する一連の糖加水分解酵素を有することを明らかにしました。さらに、トマチンが加水分解されて生じるアグリコンのトマチジンを変換する酵素も明らかにしました。本研究成果は、土壌微生物が植物由来の有害成分に対処して根圏に生息するメカニズムの一端を明らかにしたものであり、植物と土壌微生物の相互作用の理解や、代謝物や根圏微生物の機能を農業に活用する研究につながります。

本研究成果は、現地時間 2023 年 9 月 29 日午前 11:00 時に国際学術誌「mBio」にオンライン掲載されました。

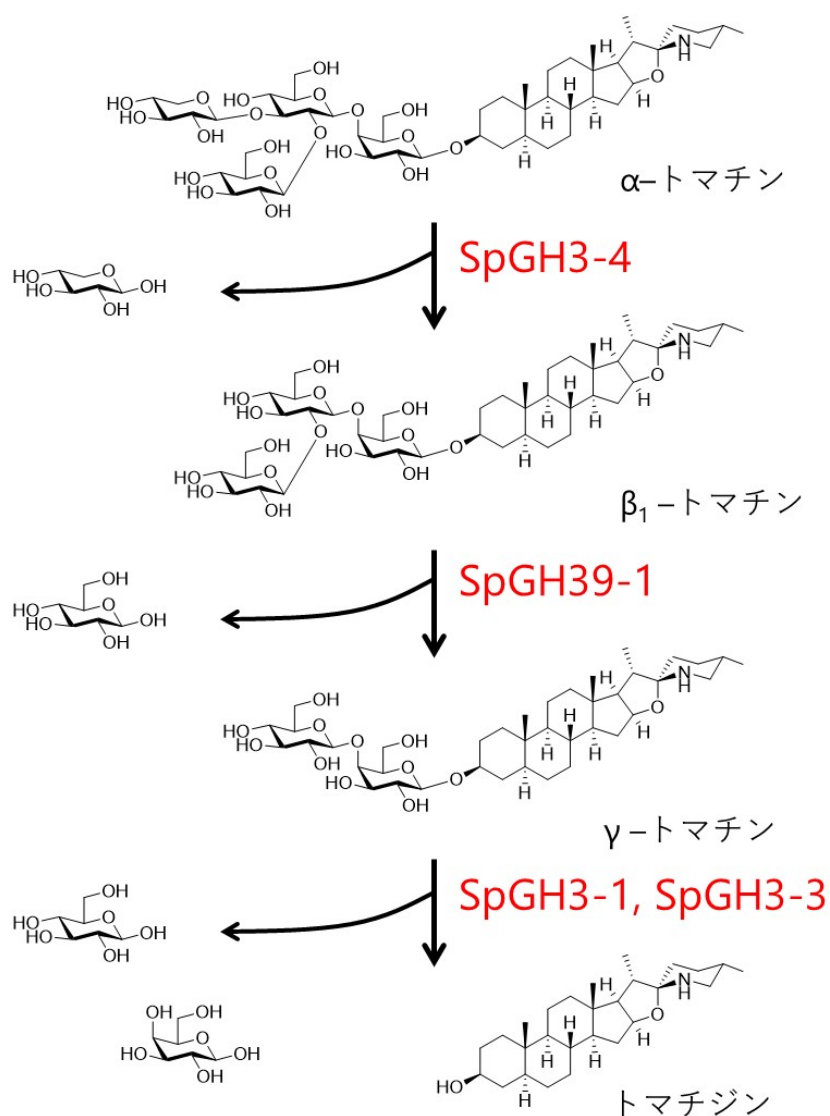


1. 背景

植物は根から多様な代謝物を分泌し、それらは根近傍領域である根圏に生息する微生物への栄養分やシグナルとして機能します。根から分泌される植物特化代謝産物（植物二次代謝産物）は、植物の生育に大きく影響を与える根圏微生物のコミュニティ（微生物叢）形成にも関わることが知られています。世界で最も生産されている野菜であるトマトにおいては、ステロイドグリコアルカロイドの一種であるトマチンが緑色果実や葉、根などに蓄積しトマトを外敵から守ることが知られています。さらに、トマチンは根から土壤中に分泌されスフィンゴモナス科の細菌を増加させることでトマト根圏微生物叢を形成することが明らかになりました。しかし、トマト根圏に増加するスフィンゴモナス科の細菌がどのようにトマトの有毒成分であるトマチンに対処しているのかは明らかにされていませんでした。本研究は植物特化代謝産物を介した植物-根圏微生物の相互作用を分子レベルで解明し、持続的社会の基盤となる持続可能な農業の確立を目指すものであります。

2. 研究手法・成果

これまでの研究でトマチンが根圏にスフィンゴモナス科スフィンゴビウム属の細菌を増加させることが明らかにされてきました。本研究では、トマト根やトマチンを添加して培養した土壌から、トマチンを分解できるスフィンゴビウム属の細菌を単離することとしました。トマト根やトマチン添加土壌から複数のトマチン分解菌が得られ、それらはスフィンゴビウム属に属することが明らかとなりました。これらの細菌のゲノム配列を決定し、トマチンが存在する条件で発現が増加する遺伝子をトランスクリプトーム解析により明らかにしました。その結果、糖加水分解酵素ファミリー（GHファミリー）に属する複数の遺伝子がトマチンの存在する条件で発現が高くなることを見出しました。つづいて、これらの遺伝子の機能を明らかにするために、大腸菌の中でそれぞれの遺伝子がコードする酵素タンパク質を発現させ、試験管内でトマチンを分解するかを調べました。トマチンには4つの糖がついており、それらが順番に分解されると考えられていましたが、今回、候補とした遺伝子の



うち **SpGH3-4**、**SpGH39-1**、**SpGH3-1**、**SpGH3-3** が協調して働くことでトマチンからトマチジンに加水分解されることが明らかになりました。

サポニンから糖が外れたアグリコンの構造はサポゲニンと総称されます。トマチンは有毒なため私たちは口にすることはほとんどありませんが、サポニンの仲間であるダイズのソヤサポニンやカンゾウのグリチルリチ

ンなどサポニンを摂取すると腸内細菌の働きにより加水分解され、糖の外れたサポゲニンの構造となり、体内へ吸収されることが知られています。土壌中ではサポニンはサポゲニンに分解されたのち、さらに分解されることが知られていましたが、その変化に関する遺伝子は未解明でした。今回、トマチンを与えた条件で発現が上昇する遺伝子の中から、ステロイドの代謝遺伝子と相性の高いものが複数見出され、これらの遺伝子を大腸菌で発現させたところ、トマチジンを変換する機能を有することが明らかになりました。サポゲニンの変換に関わる遺伝子としては初めてのものです。

スフィンゴビウム属の細菌のゲノム配列は公共のデータベースにも登録されています。今回、私たちが単離したスフィンゴビウム属細菌のゲノム配列と、それらのゲノム配列を比較したところ、トマチンの分解に関わる遺伝子はスフィンゴビウム属細菌に広く保存されているのではなく、トマト根やトマチンを添加した土壌から単離した菌株に多く見つかることが明らかになりました。また、データベースに登録されていた細菌の中でトマチン分解に関わる遺伝子セットを有する菌株をストックセンターから取り寄せて解析したところ、実際にトマチンを分解する活性が認められました。これらの結果から、スフィンゴビウム属細菌の中で、トマト根に定着する細菌はトマトの生産する有毒成分であるトマチンを分解する遺伝子を持つことが明らかになり、植物と土壌微生物の植物特化代謝産物を介した相互作用の一端を明らかにすることができました。

3. 波及効果、今後の予定

根圏微生物叢は植物の生育や作物生産に重要な役割を担うと考えられていますが、植物がどのように根圏微生物叢を形成するのかは十分理解されておらず、農業現場での根圏微生物の機能の活用に向けても課題となっています。トマチンを介したトマトとスフィンゴビウム属細菌の相互作用を解明することで、被子植物に広く存在するトマチン以外のサポニン類についても成果を展開することが期待されます。今後は、サポニン分解遺伝子を有することが植物と微生物の相互作用にどのように影響するのかを解析し、植物の根圏微生物叢が形成されるメカニズムを明らかにしたいと考えています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会科学研究費基盤研究 (B)「根圏ホロビオント代謝ネットワークの理解による植物生育促進効果の解明」、JST CREST「環境変動に対する植物の頑健性の解明と応用に向けた基盤技術の創出」、生存圏研究所ミッション研究 (Misson 1、Mission5-1) 等の支援を受けて行われました。

<用語解説>

根圏

植物の根から影響を受ける領域と定義されている、根の近傍の土壌のこと。

サポニン

ラテン語の石鹼を意味する「サポ」を語源とする化合物群であり、疎水性骨格に糖鎖が結合した両親媒性構造を持つことにより界面活性作用を示します。

植物特化代謝産物

ほぼ全ての生物に共通して存在する一次代謝産物以外の、ある特定の植物に限ってみられる代謝物。植物の環境適応や自己および他者の制御に関わり、生物活性を有するものが多い。それぞれの特化代謝物が持つ色や香り、味、薬理作用などの特性が、染料や香料、医薬品原料などとして私たちの生活に役立てられています。

微生物叢（細菌叢）

微生物の集合・コミュニティ。土壌に生息する微生物には細菌、菌類、藻類、線虫などが存在する。ヒトの健康状態と腸内細菌叢、植物の生育と根圏微生物叢の関連性が近年注目されており、盛んに研究されています。

<研究者のコメント>

いくつかの植物特化代謝産物は、植物病原菌からの防御や植物生育促進微生物との共生に寄与します。近年、植物の健全な生育にとって重要な根圏微生物叢の形成に関わるものも複数報告されてきました。本研究が植物と根圏微生物の相互作用メカニズムの理解、持続可能な農業の実現へと波及されることを願っています。

（中安大）

<論文タイトルと著者>

タイトル：Tomato root-associated *Sphingobium* harbors genes for catabolizing toxic steroidal glycoalkaloids（トマト根に生息するスフィンゴビウム細菌は有毒なステロイドグリコアルカロイドを分解する遺伝子を持つ）

著者：Masaru Nakayasu, Kyoko Takamatsu, Keiko Kanai, Sachiko Masuda, Shinichi Yamazaki, Yuichi Aoki, Arisa Shibata, Wataru Suda, Ken Shirasu, Kazufumi Yazaki, Akifumi Sugiyama

掲載誌： *mBio* DOI：10.1128/mbio.00599-23