

平成 30 年 8 月 10 日

報道機関 各位

東北大学大学院生命科学研究科

## 根粒菌とマメ科植物のせめぎ合いのメカニズム

### 根粒菌分泌タンパク質が共生を流産させる仕組みの発見

#### 【発表のポイント】

1. 長年未解明だった特定のダイズ品種と特定の根粒菌株が共生できない現象（共生不和合性：注1）は、根粒菌の3型分泌タンパク質（注2）の一つである NopP（ノップピー）のアミノ酸変異が原因であることを発見しました。
2. 微生物への植物の免疫系や根粒菌の共進化機構の解明とマメ科作物の持続的栽培における根粒菌利用への貢献が期待されます。

#### 【概要】

根粒菌はマメ科植物の根に根粒を形成し、共生窒素固定を行う土壌細菌で、窒素循環の上で大変重要な位置を占めています。しかし、特定のダイズ品種と特定の根粒菌株が共生できない現象（共生不和合）が知られており、そのメカニズムは未解明のままでした。

東北大学大学院生命科学研究科の菅原助教と南澤教授らのグループは、農業・食品産業技術総合研究機構の梅原洋佐 上級研究員、鹿児島大学の鶴丸博人 助教、九州大学の山川武夫 准教授と共同で、共生不和合の仕組みを報告しました。根粒菌の分泌タンパク質の一つである NopP（ノップピー）のアミノ酸変異が原因となり、ダイズ宿主植物の R タンパク質（注3）の一種である Rj2（ラージアールジェーツー）タンパク質を介して強力な宿主免疫系が起動され、根粒菌の初期感染過程を抑えることを明らかにしました。本研究の成果は、微生物に対する高等生物の免疫系や共生微生物の進化に関する基礎研究とマメ科作物の持続的栽培における根粒菌利用への貢献が期待される重要な報告です。本研究結果は、Springer Nature (UK)発行の科学誌『ネイチャー・コミュニケーションズ』（Nature Communications）のオンライン版において、2018年8月7日午後6時（日本時間）に公開されました。本研究は、文部科学省科学研究費補助金の支援を受けて行われました。

### 【詳細な説明】

*Rj2* 遺伝型のダイズ品種は、特定の根粒菌 USDA122 株の感染による根粒形成を特異的に抑えることが 1960 年代から知られていました。2010 年にダイズの *Rj2* 遺伝子が抵抗性 R タンパク質をコードすることが明らかにされ、植物病原応答と類似するシステムにより特異的な根粒菌による根粒形成を制限すると推測されてきましたが、その分子機構は不明でした。

本研究では、USDA122 株の *nopP* 遺伝子産物 (NopP) (ノッピー) が *Rj2* (ラージールジェーツー) ダイズに共生不和合性を誘導する 3 型分泌エフェクタータンパク質であることを、共生和合性を示す根粒菌突然変異体のゲノム解析というエレガントな手法で発見しました。しかし、NopP をコードする遺伝子 (*nopP*) は、*Rj2* ダイズに根粒を形成する和合性の菌株を含め、全ての *Bradyrhizobium* 属ダイズ根粒菌 (注 4) のゲノム上に見出される遺伝子であり、USDA122 株の NopP アミノ酸配列と和合性の USDA110 株との間で *nopP* 遺伝子の交換を行ったところ、USDA122 株タイプの配列を有する株にのみ *Rj2* ダイズに対して根粒形成が起きませんでした (図 1)。USDA122 株と USDA110 株の間の NopP 遺伝子を比較すると 4 つの特異的なアミノ酸残基 (R60/R67/H173/F271) の相違が認められました (図 1)。そこで、この 4 つのアミノ酸残基を標的とした計 16 種類の NopP 点変異株の根粒形成能の比較により、*Rj2* 共生不和合性の誘導には NopP の R60/R67/H173 が重要なアミノ酸残基であることがわかりました。さらに、*Rj2* 遺伝子のダイズへの導入実験等により、不和合性 NopP タンパク質が *Rj2* 遺伝子産物を介して、根粒菌接種後 2 日目にダイズの防御応答マーカー遺伝子 *PR-2* の発現を誘導し、根粒菌の感染初期に形成される感染糸密度が減少することを確認しました。以上の結果より、ダイズは R タンパク質を介して根粒菌 3 型エフェクター NopP をモニターし、特異的な変異を NopP に持つ根粒菌との共生 (根粒形成) を拒絶していることが明らかになりました (図 2)。

それでは、共生窒素固定菌である根粒菌が、何故宿主とのせめぎ合いを起こしてまで NopP タンパク質を宿主根に打ち込んでいるのでしょうか？共生和合性のダイズ根粒菌を緑豆に接種したところ、NopP を持つ菌株の方が根粒を多く形成しました。したがって、本来、根粒菌 NopP は種々のマメ科植物に共生を促進する効果があったものが、*Rj2* 遺伝子を持つマメ科植物には不和合性 NopP を持つ根粒菌のみ共生を流産させるようになったものと考えられます。この共生不和合性は NopP や *Rj2* タンパク質の 1 次配列の数残基の相違によってオン・オフが決まっており、未だに相互作用機構が不明な病原菌エフェクターと植物抵抗性 R タンパク質の解明に波及することが期待されております。また、土着根粒菌を排除して優良接種根粒菌だけが共生するという夢の根粒菌利用への展開も期待されています。

### 【用語説明】

**注 1 共生不和合性**：本来は共生窒素固定が可能な菌と植物であるにも関わらず、特定の遺伝型のマメ科植物と特定の根粒菌株が共生できない現象で、研究が進んでいたダイズとダイズ根粒菌では 1966 年に発見されているが今までそのメ

カニズムはほとんど分からなかった。

**注2 3型分泌タンパク質：**3型タンパク質分泌系より分泌されるタンパク質であり、エフェクターとも呼ばれる。3型タンパク質分泌系は細菌から高等動植物の細胞へ直接タンパク質を撃ち込む装置であり、鞭毛と起源を一にし、赤痢菌や植物病原菌が宿主に病原因子などを撃ち込むことから、通称「毒針」と言われる。共生菌である根粒菌も3型タンパク質分泌系とエフェクターを保有しているが、その理由は十分明らかになっていない。

**注3 Rタンパク質：**植物に病害を与える病原菌は、植物細胞内にエフェクターと呼ばれるタンパク質を注入して植物の防御機構を攪乱・回避することにより感染を可能にしている。これに対し植物は、抵抗性タンパク質(Rタンパク質)を含む複合体による、病原菌の特異的認識と抵抗性発現により耐性を獲得する機構を備えている。近年、Rタンパク質複合体構成因子の単離と生化学的解析を基盤として、その活性化メカニズムの解明が進行中である。

**注4 Bradyrhizobium 属根粒菌：**ダイズ根粒菌などの *Bradyrhizobium* 属の根粒菌で、酸性および中性土壌に生息している。ダイズ根粒菌として、*B. diazoefficiens*, *B. japonicum*, *B. elkanii* の3種がよく知られている。

【図】

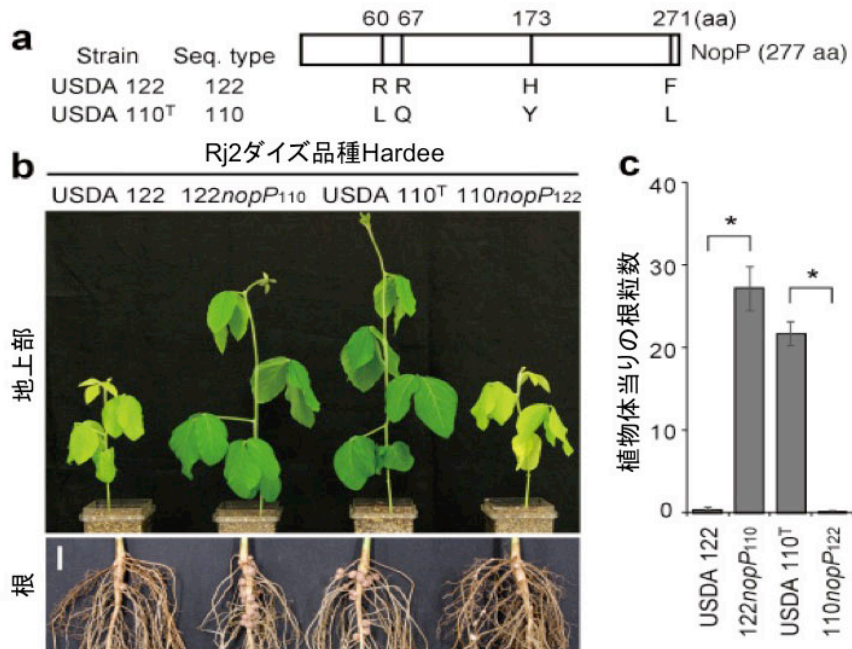


図1. NopP タンパク質のアミノ酸残基の相違が Rj2 ダイズとの共生に及ぼす影響

(a) NopP のアミノ酸残基の *B. diazoefficiens* USDA 122 株と USDA110 株との

間の相違。(b)USDA 122,110<sup>T</sup>およびそれらの *nopP* 交換株 (122*nopP*<sub>110</sub>, 110*nopP*<sub>122</sub>) 接種後 28 日目の *Rj2* ダイズ Hardee の地上部および根 (c) 接種 28 日後に根に形成された根粒数

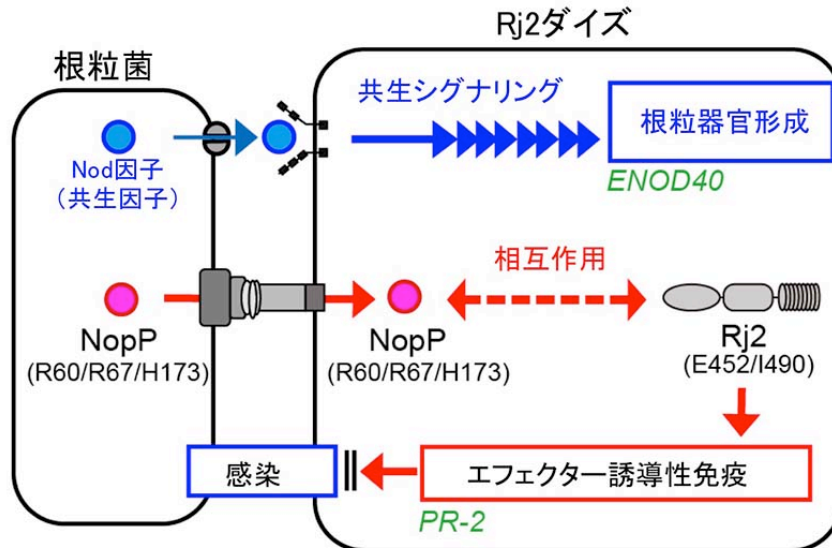


図 2. 根粒菌と *Rj2* ダイズの共生不和合性メカニズム

根粒菌は根粒器官形成をもたらす共生シグナル系を活性化するための Nod 因子を産生する。一方、*Rj2* ダイズとの相互作用において、不和合性根粒菌は、R60、R67、H173 残基を有する NopP エフェクターを 3 型分泌系から宿主の根細胞に注入する。この NopP は、宿主 *Rj2* タンパク質と相互作用し、感染をブロックするエフェクター誘発性免疫を活性化する。*ENOD40* と *PR-2* は、それぞれ共生シグナルおよび植物防御応答のマーカー遺伝子で、いずれも共生不和合性株接種で高く発現する。

### 【論文題目】

題目： Variation in bradyrhizobial NopP effector determines symbiotic incompatibility with *Rj2*-soybeans via effector-triggered immunity

著者： Masayuki Sugawara, Satoko Takahashi, Yosuke Umehara, Hiroya Iwano, Hirohito Tsurumaru, Haruka Odake, Yuta Suzuki, Hitoshi Kondo, Yuki Konno, Takeo Yamakawa, Shusei Sato, Hisayuki Mitsui, Kiwamu Minamisawa

雑誌： Nature Communications

DOI:10.1038/s41467-018-05663-x

### 【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院生命科学研究科

担当 教授 南澤 究 (みなみさわ きわむ)

助教 菅原雅之 (すがわら まさゆき)

電話番号: 022-217-5684

Eメール: kiwamu@ige.tohoku.ac.jp (南澤)

msugawara@ige.tohoku.ac.jp (菅原)

(報道に関すること)

東北大学大学院生命科学研究科広報室

担当 高橋 さやか (たかはし さやか)

電話番号: 022-217-6193

Eメール: lifsci-pr@grp.tohoku.ac.jp