

# 大豆と納豆菌のせめぎ合いの仕組みを解明

—生きた大豆は納豆菌を嫌い、納豆菌は死んだ大豆が好き—

## 概要

京都大学大学院農学研究科 杉浦春香 修士課程学生（研究当時）、橋本渉 同教授らの研究グループは、生きた大豆は納豆菌の増殖を抑制し、納豆菌は死んだ大豆を栄養源として増殖する仕組みの一端を明らかにしました。

納豆菌は枯草菌の一種で、枯れた草（枯死体）などの中に生存しています。本研究では、生きた大豆と死んだ大豆のそれぞれに納豆菌を接種して、納豆菌の増殖を調べました。その結果、生きた大豆では納豆菌の増殖が顕著に抑制されましたが、納豆菌は死んだ大豆で良好に生育し、納豆に変化させました。生きた大豆は納豆菌の増殖を抑制する抗菌物質を分泌することが示唆されます。一方、納豆菌は死んだ（蒸）大豆の細胞壁成分を感知し、それを栄養源として増殖することがわかりました。

本研究は、自然界での植物—微生物間の生存戦略の理解及び抗菌物質の開発に繋がると期待されます。

本成果は、2020年10月29日に英国の国際学術誌「Scientific Reports」にオンライン掲載されました。

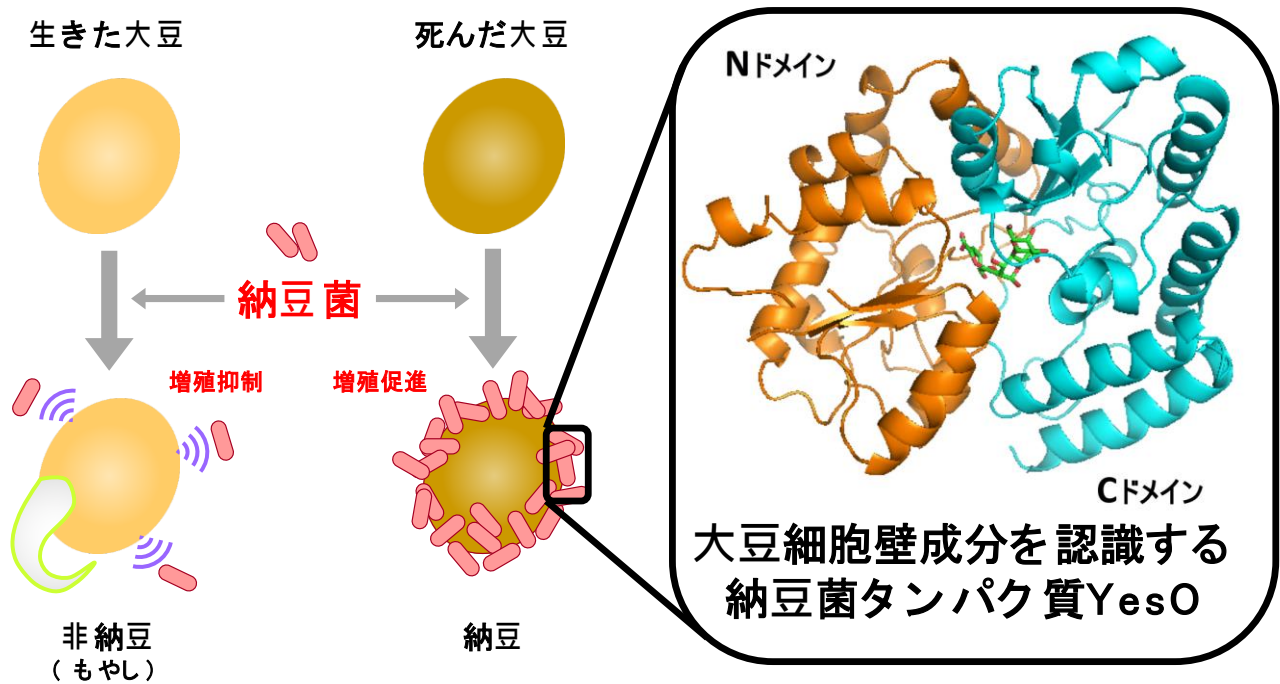


図. 納豆菌は生きた大豆では増殖抑制を受け、死んだ大豆上では積極的に増殖し納豆に変化させる

## 1. 背景

細菌と植物との相互作用様式には、共生、感染、及び腐生の三種類が存在します（図1左）。腐生とは、細菌が植物の枯死体に作用する様式を表します。枯草菌の一種である納豆菌はイネ藁などの枯れた植物体に存在し、その植物腐生性を利用して納豆が製造されています。原料である大豆は蒸されているため、既に発芽能を喪失し枯死体となっています。このような発芽能を失った蒸大豆に対する納豆菌の分子応答、または発芽能を示す生きた大豆の納豆菌への作用には、不明な点が多くあります。そこで、本研究では、発芽能を示す生きた大豆と発芽能を喪失した死んだ大豆を用いて（図1右）、それぞれに納豆菌を接種し、両者の相互作用を調べることが目的としました。具体的には、大豆に対する納豆菌の増殖特性と分子応答、並びに大豆による納豆菌への作用を解析することにより、納豆菌と大豆との相互作用を分子レベルで明らかにすることを目指しました。

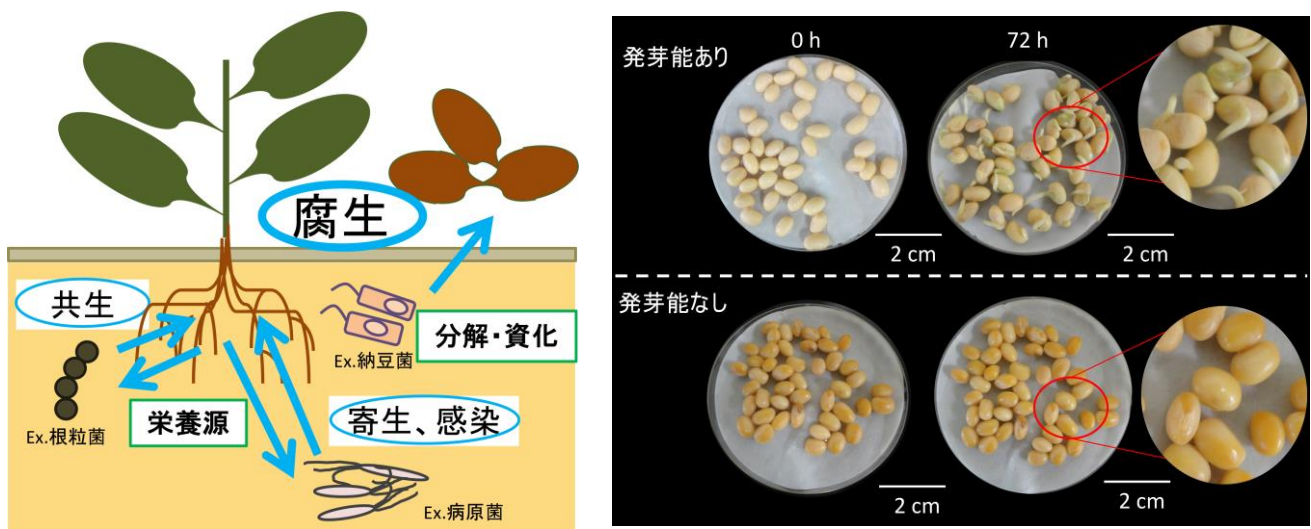


図1. (左)細菌と植物の相互作用(共生、寄生・感染、腐生)、(右)大豆の発芽能の有無

## 2. 研究手法・成果

新鮮な大豆は発芽能を示しますが、常温で数ヶ月保存した大豆では発芽能が自然に消失します。そこで、新鮮な大豆を発芽能ありの生きた大豆とし、発芽能なしの大豆を死んだ大豆として用いました。それぞれの大豆を水に浸漬し、吸水させた後、納豆菌を接種し、37°Cで保温しました。経時的に大豆表面に存在する納豆菌を生理食塩水で洗い出し、その菌懸濁液を細菌用寒天培地に塗布・培養しました。その後、生育するコロニー数（菌数）を計測することにより、大豆上の納豆菌の増殖曲線を作成しました。その結果、発芽能なしの死んだ大豆では、納豆菌は良好に生育し（図2左：赤線）、48時間後には粘質（ネバネバ）成分の分泌も確認でき、大豆は納豆に変化していました（図3左）。また、増殖につれて、納豆菌の細胞表層構造に大きな変化（洞穴の形成）が認められます。一方、発芽能ありの生きた大豆は、死んだ大豆と比較すると、納豆菌の増殖を顕著に（百分の一程度まで）抑制し（図2左：青線）、大豆表面にネバネバ成分は認められませんでした（図3右）。また、発芽能ありの生きた大豆は、枯草菌の増殖も抑制しました（図2右）。したがって、生きた大豆は納豆菌と枯草菌の増殖を抑制する抗菌物質を分泌していることが示唆されます。

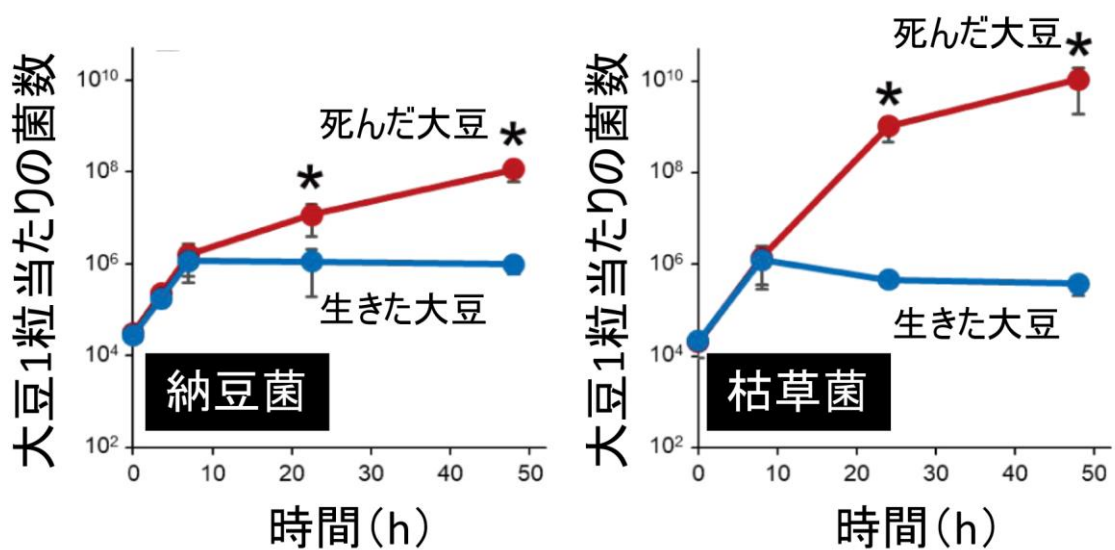


図2. (左)大豆上での納豆菌数、(右)大豆上での枯草菌数

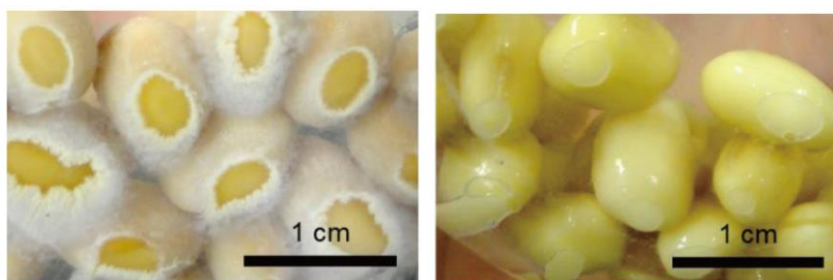


図3. (左)死んだ大豆+納豆菌、(右)生きた大豆+納豆菌

納豆製造過程における死んだ蒸大豆への納豆菌の作用を調べるため、蒸大豆及び大豆を模した細菌用培地上での納豆菌の遺伝子発現を比較しました。その結果、大豆表面で発現が上昇していた納豆菌遺伝子の中には、大豆細胞壁成分の取り込みと代謝系、細胞外酵素を分泌する輸送系、tRNA合成やタンパク質合成など細胞成長、及び鉄輸送に関わる遺伝子群が多く含まれていました(図4)。このことから、納豆菌は死んだ蒸大豆にตอบสนองして大豆を栄養源として生育するために、遺伝子発現を変化させていることがわかりました。また、発現が顕著に上昇している遺伝子の内、大豆細胞壁多糖(ペクチン)の構成成分[ラムノガラクトツロナン-I(RG-I)オリゴ糖]の取り込みに関わるタンパク質YesOの構造と機能との相関を明らかにし(図5左)、納豆菌が大豆細胞壁多糖を栄養源とするモデルを提唱しました(図5右)。

本研究により、生きた植物はある種の細菌の増殖を抑える一方で、枯死体となると細菌の分解作用を受けるという、細菌による植物への腐生に関わる分子機構の一端を明らかにすることができました。これは、自然界では多種多様な生物種が複雑に相互作用していることの理解を促し、生態系を構築する生物の仕組みを解明するのに重要な視座を与える成果です。特に、生態系の物質循環における分解者としての微生物の役割を示している点で生物学的に意義深いと考えられます。したがって、本研究成果は、循環型社会の構築などの持続的な開発目標(SDGs)に資することが期待されます。

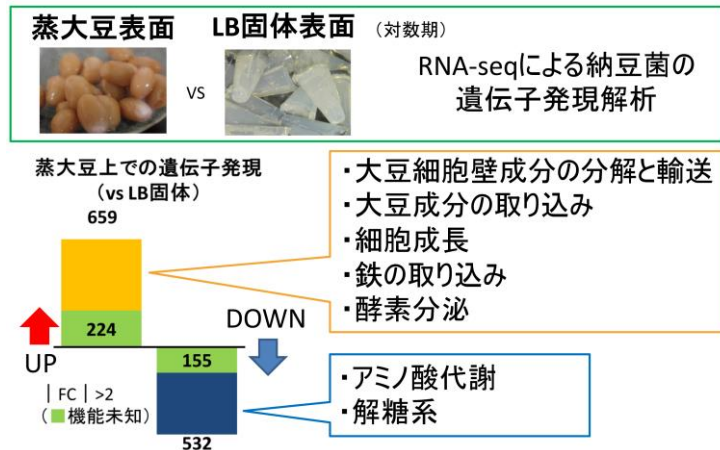


図 4. 死んだ大豆上での納豆菌の遺伝子発現解

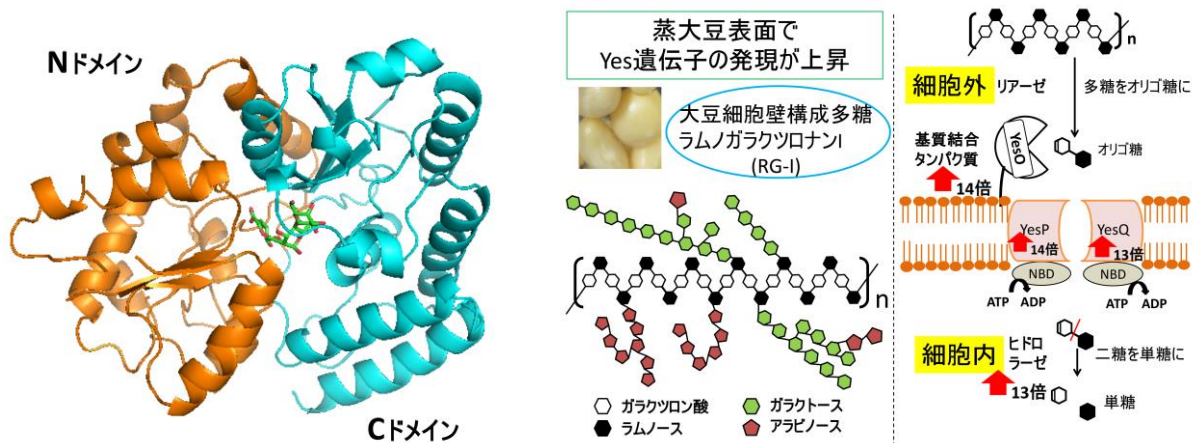


図 5. (左)RG-I オリゴ糖結合 YesO の立体構造、(右)RG-I の構造と納豆菌取り込みモデル(赤矢印)遺伝子発現上昇率

### 3. 波及効果、今後の予定

本研究により、大豆は納豆菌・枯草菌の増殖を抑える抗菌物質を産生していることが示唆されます。足のおいの原因として、枯草菌などの細菌の存在が指摘されています。今後は、大豆から抗菌物質を単離同定し、どのような細菌に対して抗菌活性を示すのかを明らかにすることにより、大豆抗菌物質の薬剤への応用が期待されます。一方、蒸大豆に対する納豆菌の生理作用を追究し、その成果を高品質な納豆の製造に繋げる予定です。また、納豆菌の細胞表層構造の変化に伴う洞穴の形成機構を解析することにより、細胞の膜ダイナミクスと洞穴の生理的意義を明らかにします。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は下記の機関より支援を受けました。

日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究 (B))

公益財団法人不二たん白質研究振興財団

### <研究者のコメント>

肉眼では見えない微生物も、動物や植物を始めとする様々な生物と関わりをもって生きています。その微生物の巧みな生存戦略を紐解いて、学術的成果を積み重ねることは勿論のこと、その成果をわたしたちの暮らしを豊かにすることに繋げる所存です。

### <用語解説>

**腐生**：一般に、微生物が動植物の死体を栄養源として増殖する様式のことです。

**納豆菌**：学名 *Bacillus subtilis*。枯草菌の仲間であり、原核微生物である細菌の一種です。

**コロニー**：寒天培地上で1個の細胞が分裂増殖を繰り返すことにより、視認できる集落のことです。

**粘質（ネバネバ）成分**：いわゆる納豆の糸。グルタミン酸の $\gamma$ -グルタミル結合により重合化した高分子が主成分となります。

**ペクチン**：植物の細胞壁を構成する主要な水溶性多糖であり、ホモガラクトツロナン及びラムノガラクトツロナン-IとIIからなります。

### <論文タイトルと著者>

タイトル：Bacterial inducible expression of plant cell wall-binding protein YesO through conflict between *Glycine max* and saprophytic *Bacillus subtilis*

著者：Haruka Sugiura, Ayumi Nagase, Sayoko Oiki, Bunzo Mikami, Daisuke Watanabe, and Wataru Hashimoto

掲載誌：Scientific Reports DOI：10.1038/s41598-020-75359-0