

ダイズ根圏へのイソフラボン供給量を増やす酵素を発見

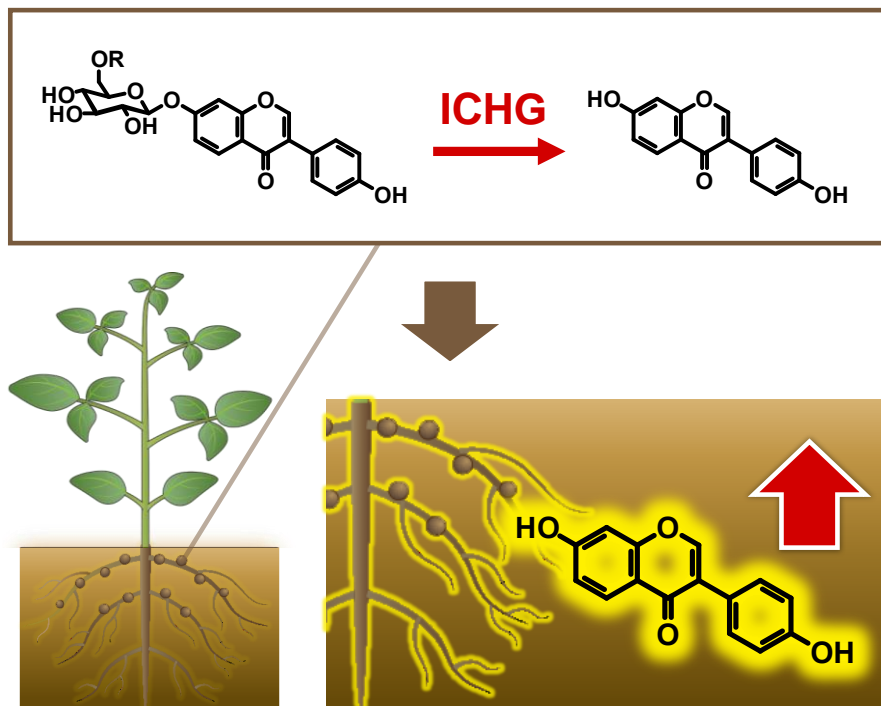
—植物が機能性成分を根から土壌へ分泌するメカニズムの理解に貢献—

概要

イソフラボン類は、豆腐や味噌などのダイズ食品に含まれている、私たちにとって身近な植物が生産する代謝物です。ダイズの植物体にとってのイソフラボン類は、窒素栄養の少ない土壌で窒素固定をする根粒菌と共生したり、病原菌から身を守ったりするなど、自然環境を生き抜くために必要な物質であることが知られています。しかし、ダイズの細胞の中で生産されるイソフラボン類が、実際に機能する根の外側の土壌領域（=根圏）までどのように運ばれるのかについてはこれまで十分に明らかにされていませんでした。

杉山暁史 京都大学生存圏研究所准教授、松田陽菜子 農学研究科博士課程学生、中安大 生存圏研究所特任助教らの研究グループは東北大学、京都先端科学大学、東京農工大学、龍谷大学、農業・食品産業技術総合研究機構の研究者と共同で、ダイズの根に存在する酵素の働きが、ダイズ根圏へのイソフラボン類の分泌に関与していることを明らかにしました。一般に、ダイズの根の細胞の中では、大部分のイソフラボン類は配糖体として存在することが知られています。本研究では、このイソフラボン配糖体を根圏で機能する形態である非配糖体（アグリコン）に変換する ICHG 酵素に着目し、その機能を失った変異体を用いて実験を行いました。その結果、ICHG 酵素が正常に機能する野生型個体と比べて、変異体の根圏土壌ではイソフラボン類の含有量が減少していることが明らかになり、ICHG 酵素の働きによりダイズ根圏へのイソフラボン類の供給量が増加することが明らかになりました。ダイズのイソフラボン類だけでなく、多くの植物が多様な代謝物を根外へ分泌しています。本研究成果は、植物が細胞内で生産した代謝物を根外へ分泌するメカニズムの一端を明らかにしたものであり、植物根圏で機能する有用物質を農業へ活用する研究につながります。

本研究成果は、2023年1月31日に国際学術誌「Plant and Cell Physiology」にオンライン掲載されました。



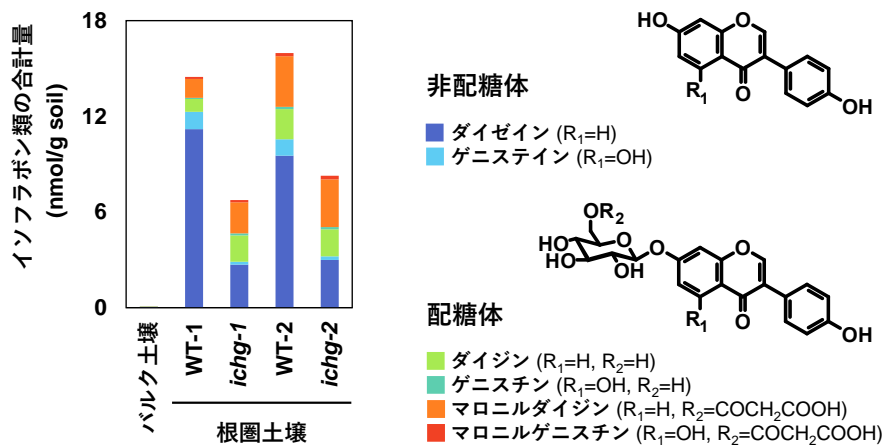
1. 背景

植物の根は土壌中の水や栄養素を吸収するだけでなく、体内で生産した多様な代謝物を土壌中へ放出しています。根から分泌される代謝物には、糖やアミノ酸、有機酸などの一次代謝産物や、特定の植物が環境適応の過程で獲得した二次代謝産物（植物特化代謝産物）が含まれます。根のすぐ近くの領域である根圏に分泌される植物特化代謝産物の中には、植物の栄養不足の改善や、土壌中の微生物の誘引および忌避に関わる働きがあることが知られています。本研究の実験材料であるダイズは、土壌中に生息する根粒菌と共生関係を築き、空气中の窒素を栄養源として利用できることが古くから知られてきました。ダイズと根粒菌の共生関係構築のために、ダイズの根から分泌される主要な植物特化代謝産物であるイソフラボン類が根粒菌へのシグナルとして機能することが 30 年以上前から知られてきました。さらに近年、イソフラボン類が植物の生育に大きく影響を与える根圏の細菌類のコミュニティの形成に関与することも見出しました (<https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2020-01-14>)。このように、ダイズ根圏においてイソフラボン類は複数の重要な役割を担っていますが、そもそもダイズの根で生産されたイソフラボン類が根圏へどのように運ばれているのかについては十分に明らかにされていませんでした。

2. 研究手法・成果

根の細胞内に含まれるイソフラボン類は主に配糖体ですが、ダイズ根圏では主に非配糖体として存在します。本研究では根外へのイソフラボン類の分泌に関与する酵素として、ダイズの根の細胞間隙や細胞壁に存在し、イソフラボン配糖体の糖鎖を切断し非配糖体と糖に分解する isoflavone conjugate-hydrolyzing β -glucosidase (ICHG) に着目しました。先行研究で、ICHG 酵素をコードする遺伝子の転写量と根外へのイソフラボン非配糖体の分泌量の増減パターンには類似性があることも報告されており、ICHG が根外へのイソフラボン類の分泌に関与することが示唆されていました。そこで、私たちはダイズの変異体ライブラリーから ICHG 活性が完全に失われた *ichg* 変異体を得て、その解析を通して ICHG のイソフラボン類分泌への関与を調べました。

まず、水耕栽培したダイズ根の細胞外画分を解析した結果、*ichg* 変異体において非配糖体量が減少し、配糖体量が増加しており、ICHG がダイズ根の細胞間隙や細胞壁においてイソフラボン配糖体の糖鎖を切断して非配糖体を生成することが植物体内で初めて実験的に示されました。さらに、圃場で栽培した *ichg* 変異体の根と根圏土壌の解析を行ったところ、根と根圏土壌のどちらにおいても非配糖体の量が減少していたのに対し、配糖体の量については野生型個体との違いは認められませんでした。*ichg* 変異体の根圏土壌では、非配糖体が減少したことにより、イソフラボン類の総量も減少しました (図)。以上の結果から、ICHG は根外へのイソフラボン類の分泌に関与しており、ダイズ根圏におけるイソフラボン類の蓄積量を増加させることが明らかになりました。一方、*ichg* 変異体の根内および根圏の細菌類のコミュニティや、根粒菌共生における野生型個体との違いは見出されませんでした。これは、*ichg* 変異体の根圏土壌においても生物間相互作用に十分な量のイソフラボン類が存在していることを示唆しています。イソフラボン類の根圏への分泌には、ICHG が関わる経路に加えて、輸送体が非配糖体を植物体内から直接根圏へ分泌することも知られています。イソフラボン類は根圏で重要な植物特化代謝産物であるため、植物は複数の経路を持っているのかもしれませんが。



バルク土壌：根から離れた土
根圏土壌：根のすぐ近くの土

WT-1 & WT-2 : ICHGの機能が正常な個体
ichg-1 & ichg-2 : ICHGの機能を失った変異体

図 *ichg* 変異体では根圏土壌に含まれるイソフラボン類の合計量が減少する

3. 波及効果、今後の予定

本研究は、植物根の細胞間隙や細胞壁に存在する β -グルコシダーゼによる脱糖化反応が植物特化代謝産物の根外分泌に関与することを初めて示しました。今回見出された分泌メカニズムは、他の植物の別の植物特化代謝産物にも共通している可能性が高いと考えられます。そのため本研究成果は、今後の研究で「植物特化代謝産物の根圏への分泌機構」や「根圏での植物特化代謝産物の機能」について理解を深めることにつながり、将来的に根圏代謝物の機能を活用した作物の育種や農業資材の開発へ応用されることが期待されます。

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特別研究員奨励費「代謝物間の相互作用に着目したダイズ根圏微生物叢形成プロセスの解明」、基盤研究 (B)「根圏メタボロダイナミックスの分子・数理基盤」、基盤研究 (B)「根圏ホロビオン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」、農林水産省「ゲノム情報を活用した農産物の次世代生産基盤技術の開発プロジェクト」等の支援を受けて行われました。

<用語解説>

イソフラボン類

ダイズなどのマメ科植物が多く含有するフラボノイド化合物のグループ。フラボノイドはベンゼン環に複数のヒドロキシ基がついた分子構造を持つポリフェノールの一種で、他にはブルーベリーのアントシアニンやお茶のカテキンなどが知られています。

根圏

植物の根から影響を受ける領域と定義されている、根のすぐ近くの土壌のこと。本研究では、刷毛で根から擦り落とした土を根圏土壌と定義しています。

配糖体

糖と糖以外の有機化合物が結合した物質の総称。本研究ではイソフラボンの基本構造の7位に糖の一種であるグルコースが結合した配糖体のグループを解析対象としました。

非配糖体（アグリコン）

配糖体から糖が外れた化合物の総称。

変異体ライブラリー

生物のDNAに人為的に突然変異を引き起こすことにより得られた変異体のコレクション。本研究では農業・食品産業技術総合研究機構らのグループにより構築されたダイズの変異体ライブラリー（Tsuda et al., 2015, *BMC Genet.*）を用いました。

ICHG

Isoflavone Conjugate-Hydrolyzing β -Glucosidase の略称。2006年に東北大学中山亨教授らのグループから公開された論文（Suzuki et al., 2006, *J. Biol. Chem.*）で、イソフラボン配糖体を加水分解して非配糖体にする機能があることが示されています。また、ダイズの細胞間隙（根の細胞と細胞の間のスペース）や細胞壁の中に存在することが知られています。その機能と存在する場所から、ダイズ根外へのイソフラボン類の分泌に関与すると予想されてきましたが、これまで証明されていませんでした。

<研究者のコメント>

自ら動くことのできない植物は、多様な代謝物を駆使して過酷な自然環境を生き抜いています。植物の生存戦略への理解を深め、植物が元来持つ力を最大限利用することができれば、肥料や農薬に過度に依存しない持続可能な農業の実現につながると期待しています。本研究成果は、実験室での実験だけでなく、実際にダイズが栽培されている圃場で行われた実験の結果によりもたらされた点でも価値があると考えています。今後も実験室と圃場の実験の両方を行い、農業現場での応用を意識した研究に取り組んでいきます。（松田陽菜子）

<謝辞>

本プレスリリースの図に含まれるダイズのイラストは比留川治子様に作成いただきました。

<論文タイトルと著者>

タイトル: Apoplast-localized β -Glucosidase Elevates Isoflavone Accumulation in the Soybean Rhizosphere
(アポプラスト局在の β -グルコシダーゼがダイズ根圏のイソフラボン蓄積量を増やす)

著者: Hinako Matsuda, Yumi Yamazaki, Eiko Moriyoshi, Masaru Nakayasu, Shinichi Yamazaki, Yuichi Aoki, Hisabumi Takase, Shin Okazaki, Atsushi J Nagano, Akito Kaga, Kazufumi Yazaki, Akifumi Sugiyama

掲載誌: Plant and Cell Physiology

DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcad012>