

# 根圏での二次代謝産物の動態と機能に関する研究

杉山 暁史 (京都大学生存圏研究所)

akifumi\_sugiyama@rishi.kyoto-u.ac.jp

根圏は、「植物根から影響を受ける領域」と定義される根の周りの微小な領域であり、植物の生育、作物生産に重要である。近年、植物の健全な生育に関与する根圏微生物叢の研究が世界的に盛んである。しかし、植物と根圏微生物の相互作用のカギを握る低分子化合物、特に二次代謝産物（特化代謝産物）については、根圏での動態や機能の多くが未解明である。私たちは、根圏での植物微生物相互作用を活用した環境保全型農業を実現するために、根圏代謝物の動態と機能を分子レベルで理解することが不可欠であると考え、ダイズのイソフラボンモデルとして実験室と圃場で研究を進めてきた<sup>1-13)</sup>。

## 根圏への二次代謝産物の分泌

ダイズの分泌するダイゼインやゲニステインは、根から土壤に分泌される主要な二次代謝産物であり、根粒形成過程の最初のシグナルとなる。従前、これらの代謝物は受動的に根から土壤中へ放出されていると考えられてきた。ダイズ根の細胞膜ベシクルを用いた生化学的な輸送解析により、ダイズ根から根圏へのゲニステインの分泌が、ATP-Binding Cassette (ABC) 型の輸送体による能動輸送であることを明らかにした<sup>13)</sup>。さらに、水耕栽培を用いた解析により、ダイズ根からのイソフラボン分泌は栄養条件や生育ステージにより変動し、窒素欠乏下においてはダイゼインやゲニステイン分泌が10倍以上上昇すること、栄養生長期ではアグリコンであるダイゼインが主に分泌されるのに対し、開花期以降、ダイゼイン分泌は急激に減少することなど、根からのイソフラボン分泌が多面的に調節されることを明らかにした (図1)。このような生育初期に顕著に見出される根圏への特化代謝産物の分泌は、ダイズのイソフラボン分泌のみならず、ダイズ根からのソヤサポニン類の分泌についても認められた<sup>8)</sup>。生育初期の代謝物分泌はダイズ以外の植物種にも見出され、植物が生育初期に代謝物を介して根圏を形成することが推測された。

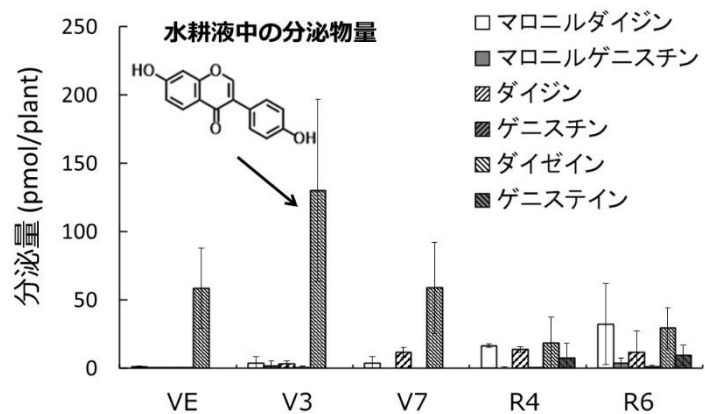


図1. 生育過程でのイソフラボン分泌の変動

## 根圏の代謝物動態のシミュレーションと実証

根から分泌された植物代謝物の根圏でどのように分解、拡散されるのかは十分理解されておらず、根圏で機能するこれら代謝産物の動態解明は重要な課題である。まず、根圏でのダイゼインの動態をモデル化することを試みた。ダイズ水耕栽培により得られた各生育段階でのダイゼイン分泌量と、標品のダイゼイン及び配糖体 (マロニルダイジン、ダイジン) の分解速度から土壤での安定性を求めた。ダイゼイン分泌量が減少する生殖成長期においては、ダイゼインの安定性に

より、圃場での生育期間を通して根圏のダイゼイン濃度がほぼ一定に保たれることが示唆された。実際にダイズ圃場での根圏ダイゼイン量は、生殖成長期においても栄養成長期と同程度の蓄積が認められた<sup>9)</sup>。さらに、根圏域での代謝物の動態を詳細にシミュレーションするため、これまで土壤物理学分野で水やイオンの動態解析に用いられてきた流体モデルを取り入れた。移流分散方程式を用いたダイゼイン移動の支配方程式に、ダイゼインの土壤分配実験や圃場の土壤物理性解析により得られたパラメータを導入することにより、根圏におけるダイゼインの移動をシミュレーションした。その結果、ダイゼインの移動は根から数ミリの極めて微小な領域にとどまることが示唆された。この結果を実証するため、ダイズを根箱で栽培した結果、ダイゼインの移動は根から2 mm以内の微小な領域のみに認められ、このシミュレーション結果が正しいことが確かめられた(図2)<sup>2)</sup>。この結果は、移流分散方程式によって根圏代謝物の動態をシミュレーションすることが可能であることを示しており、他の植物代謝物の根圏での動態解析にも広く用いることができるため、今後根圏での様々な代謝物の動態と機能解明への活用が期待される。本研究は土壤物理学と農芸化学を融合した新規な研究領域であり、今後より発展させていきたい。

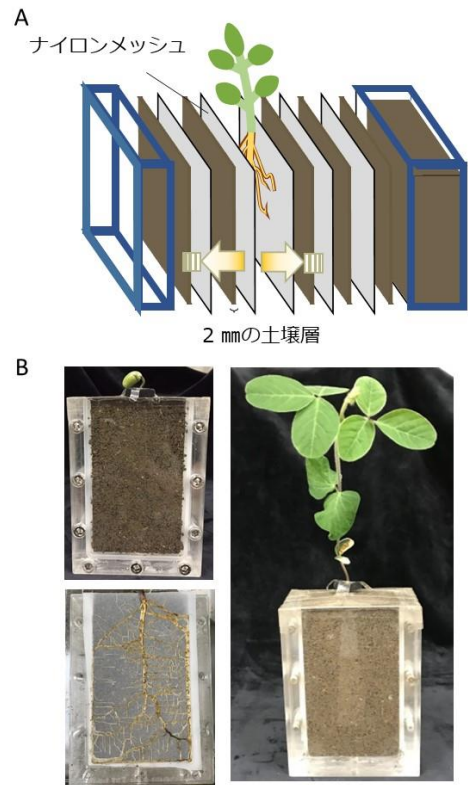


図2. 根箱でのダイズ栽培  
A. 土の層の模式図  
B. 実際の栽培の様子

### 植物二次代謝産物の根圏微生物叢形成能

ダイゼインはダイズ根から分泌され、根粒形成のシグナルとして機能することが1987年に報告された。生育期間を通じた根圏イソフラボン分泌の研究により、根圏のダイゼイン濃度は根粒形成がほとんど起こらない生育後期まで維持されることが明らかになった。そのため、ダイゼインにはダイズ根圏において根粒形成シグナル以外にも機能があると推測し、根圏微生物叢への影響を調べることにした。圃場土に根圏と同濃度となるようにダイゼインを経時的に添加して、疑似的な根圏環境を試験管内に作成し、その微生物叢を圃場で栽培したダイズの根圏微生物叢と比較したところ、ダイゼイン処理土壤の微生物叢はダイズ根圏の微生物叢に近づくことが明らかになった。ダイゼイン処理によって $\alpha$ 多様性は減少した。コマモナス科はダイゼイン処理によって顕著に増加することが示された。コマモナス科はダイズ根圏においても増加することが示されており、これらの結果から、ダイズがダイゼインの分泌を介してダイズ根圏微生物叢を形成することが示唆された<sup>2)</sup>。

### 根圏メタボローム解析によるオカラミンの発見

これまで、ダイズの分泌するイソフラボンやソヤサポニン等、主要な二次代謝産物について研究してきたが、土壤には無数の代謝物機能があり、これまで明らかにされているのは氷山の一角である。新たな根圏代謝物を探索するために、根圏土壤のメタボローム解析に取り組んだ。数種の土壤を用いてメタボローム解析を行い、ヘアリーベッチ根圏に特徴的なピークを見出した。精

密質量から推定された候補化合物は、オカラミン類であった。オカラミンは、オカラ培地で培養した *Penicillium simplicissimum* が生合成する殺虫活性物質として 1980 年代に報告されていたが、自然界では報告がなかった。幸運にもオカラミン標品を入手することができ、ヘアリーベッチ根圏に見出されたピークがオカラミン A、B、C であると同定した。オカラミン類が自然界で見出されたのはこれが初めてである。ヘアリーベッチはマメ科の緑肥作物であるが、オカラミンはヘアリーベッチの後作で栽培したダイズの根圏においても検出された (図 3)。このことは、ヘアリーベッチ根圏からダイズ根圏へと殺虫活性物質の生合成能力が受け渡されることを示しており、根圏微生物の代謝物が植物を守るという働きが植物種を超えて「遺産」として引き継がれることが推測された<sup>3)</sup>。

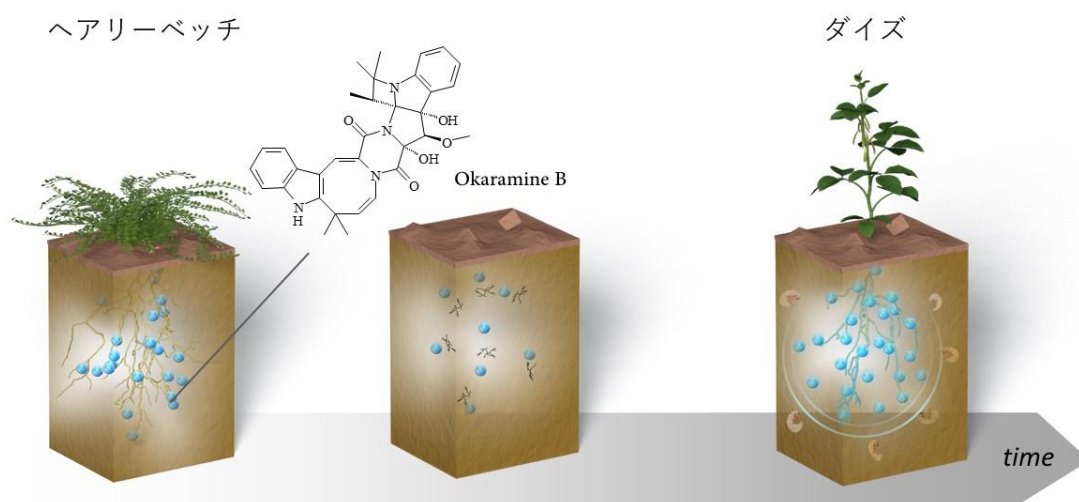


図 3. ヘアリーベッチからダイズへ受け渡されるオカラミン

## おわりに

根圏は植物の生育に重要であり、根圏に形成される特徴的な微生物叢が植物を様々な生物学的、非生物学的ストレスから守ることが示唆されてきた。私たちのグループでは根圏での植物と微生物のコミュニケーションを介在する二次代謝産物に着目して研究を進めてきた。本稿で紹介したように、ダイゼイン、ソヤサポニン、オカラミンなどの二次代謝産物の機能が明らかになりつつある。しかし、これらの二次代謝産物がどのような分子メカニズムで機能を発現するのかについては未解明であり、今後、その分子実体に迫る研究を進めていきたい。農業上の大きな課題として、根圏微生物の機能を実圃場で十分に発揮できていないということが挙げられる。根圏微生物のメタゲノム解析やメタボローム解析等の包括的な解析と、遺伝子やタンパク質レベルでの分子メカニズムの解明を両輪として推進することにより、根圏微生物の作用機序を明らかにすることができれば、根圏微生物の機能の農業への活用に大きく貢献すると期待される。

## 謝辞

本章の受賞にあたり、公益社団法人日本農芸化学会よりご推薦いただきました。学会の先生方に心より感謝申し上げます。本研究の遂行にあたり、京大生存圏研究所の矢崎一史教授をはじめ、多くの先生方にご指導、ご鞭撻を賜りました。実験室から圃場へと、根圏代謝物を巡る研

究を様々な分野の先生方との共同研究で取り組みました。全ての方々のお名前を挙げることはできませんが、多くの困難な場面でも親身に相談に乗って頂いた先生方、並びに、実験材料や実験設備を提供して頂いた先生方に心から御礼申し上げます。また本研究を支えてくださいました研究室のスタッフならびに共に研究を行ってきた研究室のメンバーに厚く御礼お礼申し上げます。

## 引用文献

- 1) Matsuda H., Nakayasu M., Aoki Y., Yamazaki S., Nagano A.J., Yazaki K., Sugiyama A. *Plant Direct* (in press)
- 2) Okutani F., Hamamoto S., Aoki Y., Nakayasu M., Nihei N., Nishimura T., Yazaki K., Sugiyama A. *Plant Cell Environ.* 43, 1036–1046 (2020).
- 3) Fujimatsu T., Endo K., Yazaki K., Sugiyama A. *Plant Direct* 4, e00259 (2020).
- 4) Sakurai N., Korrani H. M., Nakayasu M., Matsuda K., Ochiai K., Kobayashi M., Tahara Y., Onodera T., Aoki Y., Motobayashi T., Komatsuzaki M., Ihara M., Shibata D., Fujii Y., Sugiyama A. *Front. Genet.* 11, 114 (2020).
- 5) 杉山暁史、中安大 *バイオサイエンスとインダストリー* 78, 4 (2020)
- 6) 杉山暁史 *日本農薬学会誌* 45, 2 (2020)
- 7) Sugiyama A. *Journal of Advanced Research* 19, 67–73 (2019).
- 8) Tsuno, Y., Fujimatsu, T., Endo, K., Sugiyama A., Yazaki, K. *Plant Cell Physiol.* 59, 366–375 (2018).
- 9) Sugiyama A., Yamazaki, Y., Hamamoto, S., Takase, H., Yazaki, K. *Plant Cell Physiol.* 58, 1594–1600 (2017).
- 10) Sugiyama A., Yamazaki, Y., Yamashita, K., Takahashi, S., Nakayama, T., Yazaki, K. *Biosci. Biotech. Biochem.* 80, 89–94 (2016).
- 11) 杉山 暁史, 矢崎 一史 *化学と生物* 53, 576-577 (2015).
- 12) Sugiyama A., Ueda, Y., Zushi, T., Takase, H., Yazaki, K. *PLoS ONE* 9. e100709 (2014).
- 13) Sugiyama A., Shitan, N., Yazaki, K. *Plant Physiol.* 144, 2000–2008 (2007).