

イネ科牧草 に共生するエンドファイトの共生確立に必要な遺伝子を発見 ー共生菌を用いた植物保護技術への応用に期待ー

【ポイント】

- ・ 植物共生糸状菌が植物と共存する為のメカニズムの一端が明らかとなった。
- ・ 糸状菌の活性酸素生成酵素の新たな制御因子を単離した。
- ・ 共生菌の共生維持のメカニズムを明らかにすることで、共生菌のもつ植物を守る特性を応用する技術の確立が期待される。

【背景】

植物体内で共生的に生活している糸状菌や細菌などはエンドファイトと総称されている。*Epichloë festucae* は牧草、芝草の地上部組織の細胞間隙で伸長し、共生関係を保っている糸状菌エンドファイトである(図1)。*Epichloë* (エピクロエ) エンドファイトは植物内で種々の生理活性物質を生成することで、動物や昆虫による補食を抑制したり、耐乾性、耐病性を向上するなどの効果をもたらすことが知られている。*Epichloë* エンドファイトが生成する生理活性物質として、動物の神経毒である(植物にとっては補食の抑制物質である)ロリトレムBやエルゴバリン、昆虫に摂食障害をもたらすペラミン、ロリンといった物質が知られている。これら生理活性物質は宿主植物に感染している時にのみ特異的に合成され、宿主植物の外敵に対する防御に有効な二次代謝産物であると考えられる。

このような特性から、エンドファイトが感染することによって様々な環境ストレス耐性が向上した芝草の種子が広く利用されている。また近年では家畜毒性がなく耐虫性活性のある*Epichloë* エンドファイト菌株が見出され、牧草へも応用されている。例えば、神経毒は生産しないが耐虫性物質を生産する*E. festucae* 菌株が、現在のニュージーランドの牧草用ライグラスの70-80%に導入されている。

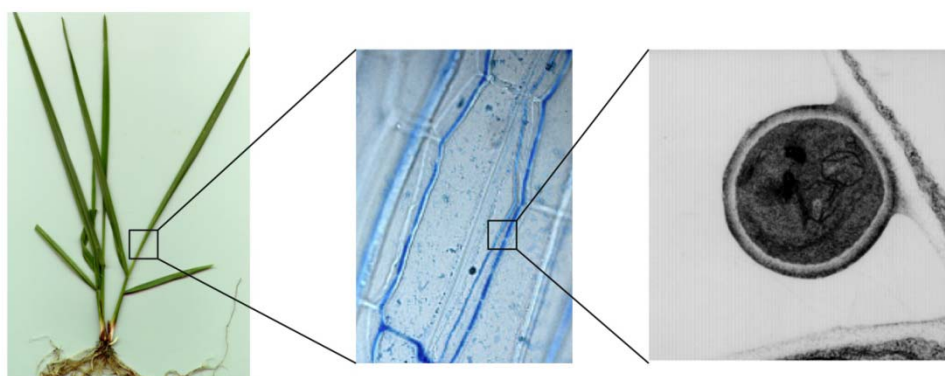


図1 ペレニアルライグラスへの *Epichloë* エンドファイトの感染。植物の細胞と細胞の間で生育し、耐虫物質などを生産することで植物を守っている。

【研究の内容】

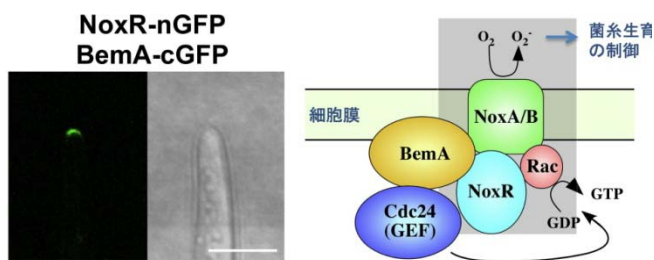
通常、植物が微生物と遭遇すると、微生物を異物と認識した植物は、抗菌物質を生産するなど、微生物を排除する反応を誘導する。一方、植物と共生菌の関係では、植物は目立った反応を示さず、“静かな共存関係”が保たれている(図1)。この植物と共生菌(*Epichloë* エンドファイト)の特殊な関係がいかんにして確立されているか、これまで全く解っていなかった。

我々の研究グループは、これまでの研究で活性酸素生成酵素 NoxA やその制御活性化制御因子 NoxR を失ったエンドファイト変異株が、植物内で過剰に生育し、植物を矮化・枯死させてしまうことを見出していた(図2)。この“共生菌の病原菌化”には、野生株と比較して変異株では植物内での菌糸伸長や分岐が増加していることが関係していた。

今回の論文では、エンドファイトの活性酸素生成の新たな制御因子 BemA および Cdc24 を単離し、これら因子が局所的な活性酸素生成を司ることを示唆する結果を発表した。BemA および Cdc24 は、菌糸の先端部位に局在し、

Nox 活性化の中心的制御因子である NoxR と相互作用することで、菌糸の先端における局所的活性酸素生成を促し、その結果、菌糸の先端成長や分岐の調節が行われると考えられる。

本研究および関連する一連の研究によって、エンドファイトが活性酸素生成を介して自らの生育を適度に抑制することで宿主植物にストレスを与えない、という「共生菌に独特な生育制御機構」があることが明らかとなった。



【成果の意義】

Epichloë エンドファイトは、既に牧草や芝草の病虫害防除に実用的に用いられているが、感染できる植物種が非常に限られていることから、応用できる植物の範囲が狭いという問題がある。今回の研究成果により、エンドファイトが植物と共生する為のメカニズムの一端が明らかにされた。今後の研究でさらに共生確立機構の解明が進めば、エンドファイトの植物を守る特性を幅広い作物に応用する技術を確立できると期待される。

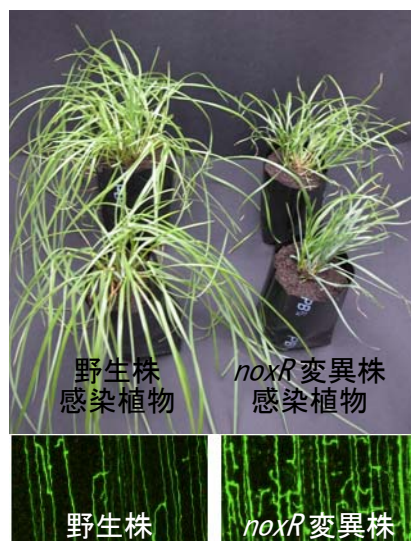


図2 野生株のエンドファイトが感染した植物(左)と比較して活性酸素生成能を失った変異株(*noxR* 欠損株)が感染した植物は(右)、健全な生育が著しく阻害される。

下段は、GFP を発現するエンドファイトの植物内での菌糸生育の顕微鏡写真

図3 (左) BiFC 法を用いた NoxR と BemA 相互作用の検出。菌糸先端での結合が検出された。

(右) 活性酸素生成酵素 (NoxA/B) とその活性化制御因子の相互作用のモデル。本研究で BemA と Cdc24 が糸状菌の新たな Nox 活性化制御因子として単離された。

【用語説明】

エンドファイト

植物の内部に生息する微生物の総称。ギリシャ語の「endo(内部の)」と「phyte(植物)」との合成語。本研究で用いた *Epichloë/Neotyphodium* 属エンドファイトは、イネ科イチゴツナギ亜科 (*Pooideae*) の牧草、芝草に感染する。

活性酸素

O_2^- (スーパーオキシドアニオン)、 H_2O_2 (過酸化水素) など化学的に活性状態になった反応性の高い酸素種。一般に、酸素呼吸における副産物として、あるいは紫外線を浴びた細胞において生成された活性酸素が老化などの一因であると認知されている。しかし、近年の研究で活性酸素が様々な生命現象を制御する細胞内シグナルとして機能することが解っている。

NADPH oxidase (Nox)

NADPH 酸化酵素。副産物としてではなく、活性酸素の生成を主目的とする酵素。古くから、ヒト好中球が Nox2 (gp91^{phox}) の生成する活性酸素によって、捕捉した細菌類を殺菌することが知られていた。近年、多数の Nox 遺伝子が動物、植物、糸状菌などで見つかっており、Nox が生成する活性酸素が生体防御だけではなく、形態形成やストレス応答など、様々な現象を制御する情報伝達因子としての役割を持つことが明らかとなっている。

BemA, Cdc24

本研究で、活性酸素生成酵素の制御因子 NoxR と相互作用するタンパク質として単離された因子。相同遺伝子である出芽酵母の Bem1 および Cdc24 は、酵母が出芽する際に、出芽する部位（細胞極性）の決定に中心的役割を担っていることが知られている。今回の研究により、糸状菌の活性酸素生成の活性化機構と極性決定機構が密接に関係していることが示された。

【論文名】

Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America

“Polarity proteins Bem1 and Cdc24 are components of the filamentous fungal NADPH oxidase complex.” (細胞極性を決定するタンパク質 Bem1 および Cdc24 は、糸状菌の活性酸素生成酵素コンプレックスの構成因子である)

Daigo Takemoto, Sachiko Kamakura, Sanjay Saikia, Yvonne Becker, Ruth Wrenn, Aiko Tanaka, Hideki Sumimoto and Barry Scott

本研究は、名古屋大学大学院生命農学研究科の竹本大吾助教、九州大学大学院医学研究院の住本英樹教授、ニュージーランド、マセイ大学の Barry Scott (バリー スコット) 教授の各研究グループの共同研究の成果です。