



## 土壌から吸収する？ それとも 微生物からもらう？ ～硝酸イオン輸送からひもとくマメ科植物の窒素栄養獲得戦略～

マメ科植物は根粒と呼ばれる器官を形成することで根粒菌と共生関係（根粒共生）を築き、空中窒素を肥料として利用することができます。このことは、窒素栄養の乏しい土壌環境への進出を可能にするなど多くの利益がありますが、植物から根粒菌へのエネルギー提供が必要です。このため植物は、不必要なエネルギーの消費を防ぐため、硝酸など窒素栄養が豊富な土壌では根粒共生を停止し、窒素栄養を直接土壌から得ることが知られています。近年、関連遺伝子の相次ぐ発見により、この現象の制御に関わる仕組みの理解が進んできましたが、窒素栄養と根粒共生を結びつける具体的な仕組みは未解明のままです。

本研究では、マメ科のモデル植物ミヤコグサを用い、硝酸イオン輸送体の一つであるLjNRT2.1タンパク質が、硝酸イオンの量に応じた根粒共生の抑制制御を仲介する機能を持つことを明らかにしました。高濃度の硝酸イオンを植物が感知すると、LjNLP1転写因子の働きでLjNRT2.1遺伝子の発現が上昇します。さらに、LjNRT2.1タンパク質を介した細胞内への硝酸イオンの流入でLjNLP4転写因子が核へ移動し、根粒形成に関わるさまざまな遺伝子の発現が調節される可能性が示唆されました。

また、根粒共生時に働くLjNIN転写因子によってLjNRT2.1遺伝子の発現が減少し、これが硝酸イオンの取り込み量の調節に関連することも明らかになりました。

これらの発見は、窒素栄養の獲得源を土壌から根粒にシフトする、根粒共生を行うマメ科植物ならではの生存戦略を示唆しています。

本研究により、環境に応じて器官形成や栄養の獲得様式を変化させるという植物の巧妙な生存戦略の一端が明らかになりました。今後、植物の環境適応の仕組みの全容解明や、微生物共生を活用した持続可能な農業実現への貢献が期待されます。

### 研究代表者

筑波大学生命環境系

壽崎 拓哉 准教授



## 研究の背景

窒素は核酸やタンパク質の主要な構成成分で、あらゆる生物にとって生きていくために必須の栄養素です。植物は硝酸態やアンモニア態として土壤中に存在する窒素栄養を根から取り込み、利用しています。ところがマメ科に代表される一部の植物は、土壤中の窒素栄養だけでなく大気中の窒素も利用することができます。根に根粒と呼ばれる器官を形成し、根粒の中に窒素固定<sup>注1)</sup>細菌の根粒菌をすまわせているからです。この現象は根粒共生<sup>注2)</sup>と呼ばれ、マメ科植物の光合成生産物が根粒形成や根粒菌のエネルギー源として消費されます。

根粒共生は窒素栄養の乏しい土壌で植物が生育する上では非常に有用です。しかし、窒素栄養が豊富に存在する土壌では、植物は根粒共生を行わなくても窒素栄養を得られます。そこでマメ科植物は、窒素栄養が豊富な土壌では、根粒に依存した窒素栄養獲得戦略から土壌中の窒素栄養を直接得る戦略に切り替えることで、根粒共生に伴う不必要なエネルギーの消費を防いでいます。

本研究グループはこれまでに、マメ科のモデル植物ミヤコグサ<sup>注3)</sup>を用いて「窒素栄養の豊富な環境下で植物が根粒共生をやめる仕組み」を研究し、その制御において中心的な働きを持つ NLP と呼ばれるタイプの二つの転写因子<sup>注4)</sup> (LjNLP1、LjNLP4) を同定してきました。LjNLP4 転写因子の研究から、硝酸イオンの濃度の変化に応じて LjNLP4 が根粒形成関連遺伝子の発現を調節し、根粒共生をコントロールすることを明らかにしてきました。しかし、この仕組みにおいて硝酸イオンの感知や取り込みがどのように行われ、それがどのように遺伝子発現の制御に結びつくのかは未解明のままでした。

## 研究内容と成果

高濃度の硝酸イオンが存在する土壌では、野生型植物は根粒形成が抑制されます。本研究では、硝酸イオンによる根粒形成抑制がみられない新たな突然変異体 (*nrsym3*変異体) を単離しました (図1)。さらに、その変異の原因が硝酸イオン輸送体<sup>注5)</sup>の一つである LjNRT2.1 をコードする遺伝子にあることを突き止めました。実際に、*nrsym3*変異体では硝酸イオンを取り込む能力が低下していたことから、LjNRT2.1 による硝酸イオンの取り込みと根粒形成の制御の関連が示されました。

次に、根に硝酸イオンを与えることで、*LjNRT2.1* 遺伝子の発現がどう変化するかを調べました。その結果、野生型植物では硝酸イオンに応答して *LjNRT2.1* 遺伝子の発現が上昇するのに対して、LjNLP1 の機能が失われた変異体 (*Ljnlp1* 変異体) では、*LjNRT2.1* 遺伝子の発現上昇が起こらないことが分かりました。さらに、*LjNLP1* 遺伝子を一過的に発現させると、それに合わせて *LjNRT2.1* 遺伝子の発現も上昇することが分かりました。これらの結果は、LjNLP1 転写因子が *LjNRT2.1* 遺伝子を発現させるための必要かつ十分な機能を持つことを示しています。

本研究グループの先行研究により、硝酸イオンが存在すると LjNLP4 転写因子が核へ移動し、標的遺伝子の発現を調節することが明らかになっています。本研究では、LjNLP1 や LjNRT2.1 の機能が失われた変異体では、硝酸イオンが存在しても、LjNLP4 が核へ移動しないことが新たに分かりました。この結果は、LjNLP4 転写因子が核へ移動するためには LjNLP1 と LjNRT2.1 が必要であることを示唆しています。これらの結果を総合し、高濃度の硝酸イオンがどのようにして根粒形成を制御するか、その仕組みを説明するモデルを提唱しました。(図2)。

また、本研究では、根粒形成時に特異的に働く LjNIN 転写因子が LjNLP1 転写因子による *LjNRT2.1* 遺伝子の発現誘導を阻害することも明らかになりました。さらに、根粒菌を接種した植物は、接種していない植物と比較して土壌からの硝酸イオンの取り込み量が少なくなることが分かりました。これらの知見を踏まえ、マメ科植物は根粒形成の進行に伴って、窒素栄養の獲得源を土壌中から根粒に依存したものにシフトしていく可能性が示唆されました。

今回の研究によって、根粒共生を行うマメ科植物ならではの窒素栄養獲得戦略の仕組みの一端が明らかになりました。

### 今後の展開

本研究で着目している硝酸イオン輸送体 NRT2.1 はあらゆる陸上植物に存在します。研究の進んでいるシロイヌナズナでは、NRT2.1 が低濃度の硝酸イオンの取り込みを司る一方で、高濃度の硝酸イオンの取り込みには別の硝酸イオン輸送体が関与していることが知られています。本研究により、マメ科植物では初めて NRT2.1 の機能が明らかになりました。ミヤコグサでは LjNRT2.1 が低・高濃度に関係なく硝酸イオンの取り込みに関わることや、LjNRT2.1 の機能欠損の影響が高濃度の硝酸イオン存在下で顕著にみられることが分かりました。これらのことは、マメ科植物では NRT2.1 の機能が独自なものに進化している可能性を示唆しています。硝酸イオン輸送体の機能や使い方を変えることで、根粒共生を行う植物はその生き様に適した窒素栄養の獲得戦略を発達させた可能性が考えられます。今後、NRT2.1 や他の硝酸イオン輸送体の機能の違いをさまざまな植物種で比較解析していくことで、植物の栄養環境適応の仕組みの共通性や多様性が明らかになることが期待されます。また、窒素栄養に応答した根粒共生の抑制の仕組みを理解することは、窒素肥料と根粒共生による窒素栄養の獲得を両立させるために重要であり、今後の研究の進展は、大豆に代表されるマメ科作物の効率的な肥料管理など、持続可能な農業の実現に貢献することが期待されます。

### 参考図

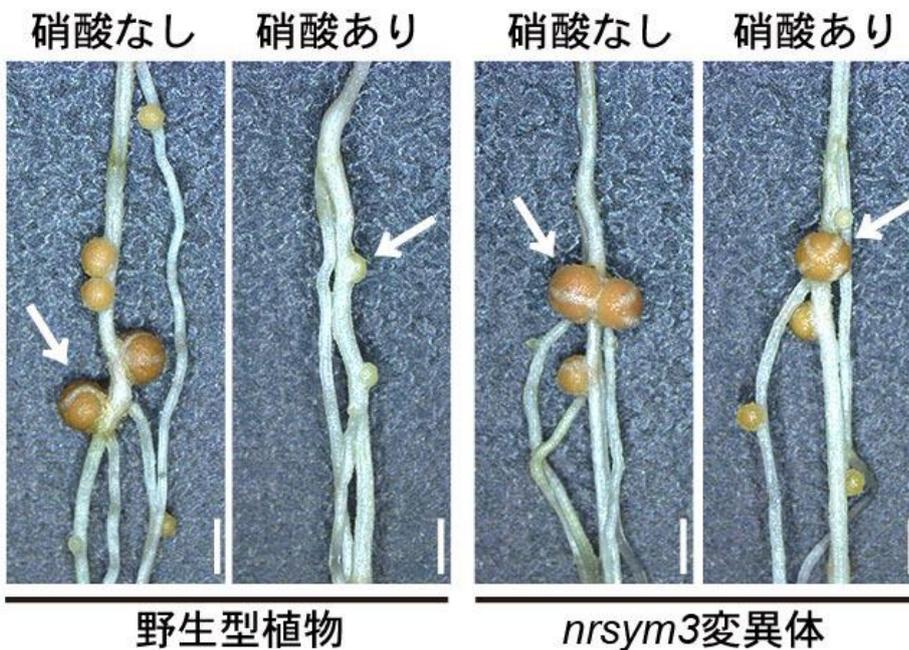


図1. ミヤコグサの野生型植物と *nrsym3*変異体の表現型

野生型植物では高濃度の硝酸が存在すると未熟な根粒が形成されるが、*nrsym3*変異体では硝酸の有無に関係なく成熟した根粒が形成される。矢印は根粒を示す。スケールバー：1 mm

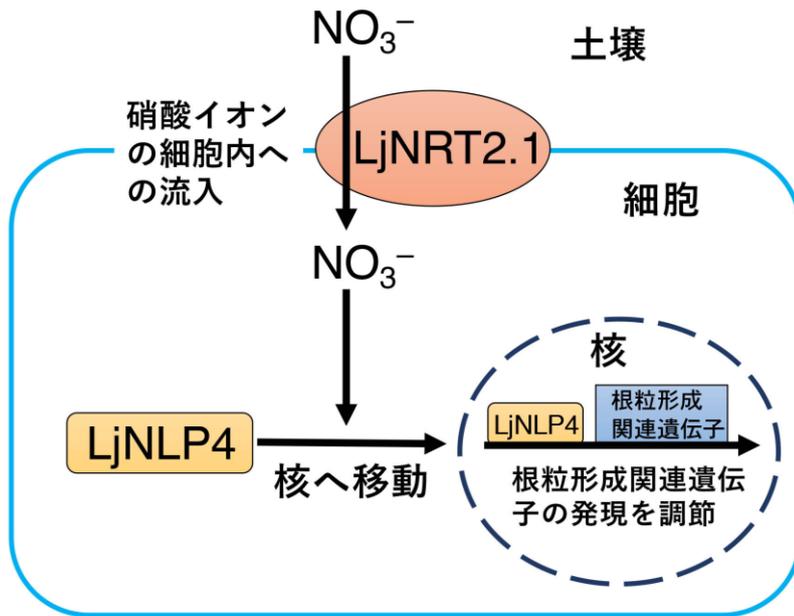


図 2. 硝酸イオン ( $\text{NO}_3^-$ ) の取り込みを介した根粒形成関連遺伝子の発現調節モデル

土壤中の硝酸イオンは LjNRT2.1 タンパク質によって細胞内に取り込まれ、それによって LjNLP4 転写因子が核へ移動する。核へ移動した LjNLP4 転写因子は根粒形成関連遺伝子の DNA 配列に結合し、遺伝子の発現を調節する。

#### 用語解説

##### 注 1) 窒素固定

大気中の窒素を植物が利用できるアンモニアの形に変換する反応。根粒共生においては、根粒に細胞内共生する根粒菌が行っている。

##### 注 2) 根粒共生

マメ科植物は、土壤中に存在する根粒菌との相互作用により、根に根粒と呼ばれる器官を形成する。根粒の中には根粒菌が共生しており、大気中の窒素を固定する。宿主植物は根粒菌から固定された窒素源を受け取る代わりに、エネルギー源として光合成生産物を根粒菌に与える。

##### 注 3) ミヤコグサ

マメ科のモデル植物。学名は *Lotus japonicus*。ゲノムサイズが比較的小さく、室内での栽培が可能、形質転換法が確立されているなどの理由から遺伝学実験に適しており、植物微生物相互作用の研究材料として広く利用されている。

##### 注 4) 転写因子

DNA 配列に特異的に結合し、標的となる遺伝子の発現を調節する機能を持つタンパク質の総称。

##### 注 5) 硝酸イオン輸送体

一般的に自然界における硝酸イオンの濃度は体内よりも低く、また、体内では細胞の内外で硝酸イオンの濃度が異なる。植物はこのような濃度勾配に逆らって硝酸イオンを土壤から取り込み、体内の適切な組織や器官に硝酸イオンを輸送することができる。このときに働くのが硝酸イオン輸送体 (Nitrate transporter) で、略して NRT と呼ぶ。NRT2.1 は NRT2 ファミリーに属する NRT タンパク質の一つ。

## 研究資金

本研究は、科研費・基盤研究（B）（JP19H03239）、学術変革領域研究（A）「不均一環境と植物」・計画研究（JP20H05908）、科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業 総括実施型研究（ERATO）「野村集団微生物制御プロジェクト」（JPMJER1502）の一部によって実施されました。

## 掲載論文

【題名】 Nitrate transport via NRT2.1 mediates NIN-LIKE PROTEIN-dependent suppression of root nodulation in *Lotus japonicus*

（ミヤコグサの硝酸イオン輸送体 NRT2.1 は NIN-LIKE PROTEIN 依存的な根粒形成の抑制を仲介する）

【著者名】 Misawa F<sup>1, #</sup>, Ito M<sup>1, #</sup>, Nosaki S<sup>1</sup>, Nishida H<sup>2</sup>, Watanabe M<sup>1</sup>, Suzuki T<sup>3</sup>, Miura K<sup>1</sup>, Kawaguchi M<sup>4</sup>, Suzaki T<sup>1</sup> (#Co-first author)

三澤文香<sup>1, #</sup>、壽崎（伊藤）百代<sup>1, #</sup>、野崎翔平<sup>1</sup>、西田帆那<sup>2</sup>、渡部将弘<sup>1</sup>、鈴木孝征<sup>3</sup>、三浦謙治<sup>1</sup>、川口正代司<sup>4</sup>、壽崎拓哉<sup>1</sup> (#共同第一著者)

<sup>1</sup>Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba（筑波大学生命環境系）、<sup>2</sup>Institute of Agrobiological Sciences, National Agriculture and Food Research Organization（農業・食品産業技術総合研究機構）、<sup>3</sup>College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University（中部大学応用生物学部）、<sup>4</sup>Division of Symbiotic Systems, National Institute for Basic Biology（基礎生物学研究所共生システム研究部門）

【掲載誌】 The Plant Cell

【掲載日】 2022年2月11日（現地時間）

【DOI】 10.1093/plcell/koac046

## 問合わせ先

【研究に関すること】

壽崎 拓哉（すぎき たくや）

筑波大学 生命環境系／つくば機能植物イノベーション研究センター（T-PIRC）准教授

TEL: 029-853-4674

E-mail: [suzaki.takuya.fn@u.tsukuba.ac.jp](mailto:suzaki.takuya.fn@u.tsukuba.ac.jp)

URL: <https://trios.tsukuba.ac.jp/researcher/0000003814>

【取材・報道に関すること】

筑波大学 広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: [kohositu@un.tsukuba.ac.jp](mailto:kohositu@un.tsukuba.ac.jp)

科学技術振興機構 広報課

TEL: 03-5214-8404

E-mail: [jstkoho@jst.go.jp](mailto:jstkoho@jst.go.jp)

【JSTの事業に関すること】

科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部 ICT／ライフィノベーショングループ

今林 文枝 (いまばやし ふみえ)

TEL: 03-3152-3528

E-mail: eratowww[at]jst.go.jp