

2023年9月6日

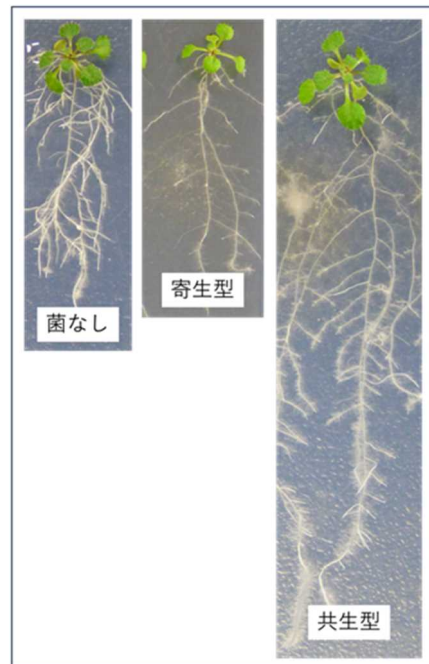
東京大学

科学技術振興機構（JST）

紙一重で菌は植物の敵にも味方にもなる ——糸状菌の共生と寄生、対照的な戦略を分かť分子機構の発見——

発表のポイント

- ◆ 植物に定着する糸状菌の共生から寄生への感染戦略の切り替えに必要な菌二次代謝物合成遺伝子クラスターを明らかにしました。
- ◆ たť一つの菌遺伝子クラスターが共生から寄生への移り変わりを支えていることを発見したものであり、寄生菌と共生菌の違いが実は紙一重であることを示しています。
- ◆ 微生物そのものは殺さず、植物にとって悪い行動の元になる菌因子の活性だけを抑える防除法の開発につながることを期待されます。



植物に寄生する菌（寄生型菌）と共生する菌（共生型菌）が植物成長に与える影響

発表概要

東京大学大学院総合文化研究科の晝間敬准教授と、同大学院新領域創成科学研究科の岩崎涉教授、同大学院農学生命研究科の田野井慶太郎教授、大森良弘准教授、北海道大学大学院理学研究院の南篤志准教授、理化学研究所環境資源科学研究センターの岡本昌憲チームリーダー、薬用植物資源研究センターの佐藤豊三客員研究員、奈良先端科学技術大学院大学の西條雄介教授らによる研究グループは、植物に定着する内生糸状菌（カビ）が有する一つの菌二次代謝物合成遺伝子クラスター（注 1）が共生から寄生への多彩かつ連続的な菌の感染戦略を支えていることを明らかにしました。

植物と相互作用する糸状菌は植物に病気を引き起こす寄生菌や、植物成長を促進する共生菌など実に多様です。しかし、一見対照的な性質を示す寄生や共生の違いを説明する分子基盤は明らかではありませんでした。今回、本研究グループは、同種の糸状菌が同一植物に対して、ある菌株は共生性、別の菌株は寄生性を示すことを発見しました（図1）。また、両菌株がそれぞれ感染している植物根での比較トランスクリプトーム解析（注2）の結果から、寄生型株のみが感染中にテルペン（注3）の一種の二次代謝物を合成する菌遺伝子クラスターを活性化して、それが寄生型株の宿主根への感染および植物成長阻害に必要であることを発見しました。さらに、本遺伝子クラスターの活性化状態は周囲の温度環境の軽微な変動によっても影響を受け、22℃から26℃に変化した際にはクラスターの活性が消失し、それに伴い可溶性リンが枯渇した環境下で寄生型株が植物成長を促す共生型へと変貌することを見出しました。

最後に、寄生型株の該当クラスターを破壊した菌変異体を作成して植物に接種したところ、共生型株と同等レベルで植物成長を促すことを発見しました。これらの結果から、一つの菌遺伝子クラスターの活性化状態が一日の中での温度変化などの微細な環境変動で変化し、それが微生物の共生から寄生、寄生から共生への対照的な方向性の移り変わりを支えていることが考えられます。興味深いことに、共生型株も本遺伝子クラスターを保持しているものの全く発現が誘導されませんでした。

今後、本遺伝子クラスターの制御機構をさらに突き詰め、クラスターの活性化を制御する技術を開発することで、寄生菌の悪い行動だけを抑えつつ、共生菌の効用を最適化する技術の開発にもつながっていくことが期待されます。

本研究成果は、2023年9月6日（英国夏時間）に英国科学誌「Nature Communications」に掲載されます。

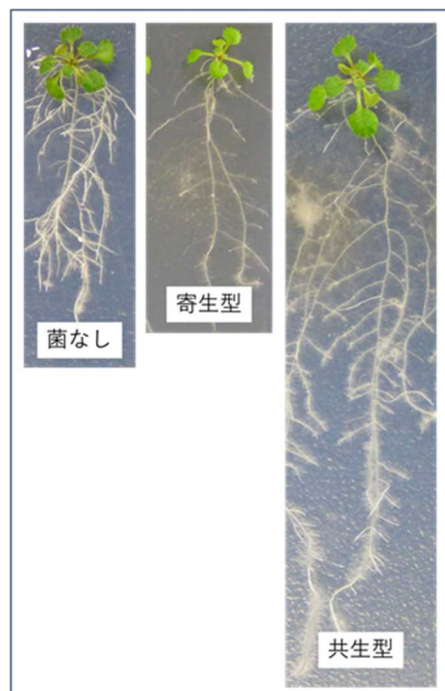


図1：寄生型と共生型の糸状菌株

同一植物に対して一方は植物成長を阻害する寄生型、他方は植物成長を促す共生型として振る舞う同種糸状菌株。何が両者の差を分けているのだろうか？

発表内容

〈研究の背景〉

植物は多様な微生物と共存しています。微生物の中には、植物に病気や成長阻害を引き起こす寄生菌、もしくは植物の成長を促したり、植物を病原から保護したりする共生菌が存在しています。寄生菌と共生菌は植物に好対照なアウトプットをもたらすことから、大きく異なる存在として認識されており、特に寄生性もしくは共生性を支えるメカニズムを遺伝子レベル以上で明らかにしようとする分野では、これまで別々の研究領域として研究が進んできました。しかし近年、植物に内生する機能未知の微生物への注目が集まるにつれ、近縁種の共生菌と病原菌が同一植物に対して好対照な感染戦略を示すことが明らかになってきました。また、一つの菌においても、周囲の環境条件や植物の状態に応じて共生から寄生へと連続的に変化しうることが主に生態学の知見等から示唆されています。一方で、その共生と寄生の違いや共生から寄生へと連続的に変化していく際に必要な菌の分子的基盤は明らかではありませんでした。

〈研究の内容〉

本研究では、糸状菌 *Colletotrichum tofieldiae* (Ct、注 4) の同種菌株を世界中から入手し、それらが植物に与える影響を調査しました。その結果、同種菌株のほとんどは、可溶性リンが枯渇した環境下で植物成長を促し、仮に単離された場所や植物が異なっても、植物成長促進機構は Ct 株の中で保存された性質であることが考えられました。一方で、調査した Ct 株の一つは他の共生型の Ct 株とは異なりモデル植物のシロイヌナズナやコマツナの植物成長を著しく阻害する寄生菌として振る舞うことが判明しました。

共生型と寄生型 Ct 株の植物感染中のトランスクリプトームの比較解析により、この共生性と寄生性を分かつ分子基盤が同定できると着想し、トランスクリプトーム解析を行ったところ、寄生型の Ct 株感染時のみに植物のアブシシン酸 (ABA) 応答経路 (注 5) に関する因子が活性化し、植物の ABA 応答経路が寄生型 Ct 株の植物生長阻害効果に必要なことが判明しました。次に、なぜ、寄生型 Ct 株の感染時のみに植物の ABA 応答が活性化するかを調査するために、菌側のトランスクリプトーム解析を行いました。その結果、ABA (もしくはその前駆物質や類縁化合物) と botrydial (注 6) の二次代謝物の生合成を行うと予測された生合成遺伝子群が、寄生型の一つのゲノム領域にまとまってクラスター化 (ABA-BOT クラスタ) しており、寄生型 Ct 株が植物根に感染中に活性化することを見出しました (図 2・a)。一方で、共生型の Ct 株も同様のクラスターを有しているものの感染中に誘導されなかったことから、寄生型 Ct 株による植物 ABA 応答の活性化や植物成長阻害に関連していることが示唆されます。そこで、ABA-BOT クラスタに座乗する ABA 合成酵素や botrydial 合成酵素を欠損した菌遺伝子欠損体株を作出して、植物へと接種したところ、野生株では認められた植物の ABA 応答の活性化が認められなくなることを発見しました。

また、代謝解析を行ったところ、寄生型の Ct 株は botrydial 関連代謝物を botrydial 合成遺伝子依存的に生成していたことから、これまで毒素生産に関わると考えられてきた botrydial の合成経路が植物の ABA 応答を活性化させる機能を有することが示唆されました。さらに、変異株に関してはシロイヌナズナの根にうまく定着できないことから、これらの合成遺伝子は寄生型 Ct 株が植物の根に感染するために必要であることが判明しました。興味深いことに、本クラスターが活性化すると植物の根にスクロースなどの糖が高蓄積することから、菌は植物に糖を蓄積させ、それを感染に利用している可能性が考えられます。さらに、驚くべきことに、ABA-BOT クラスタが機能しなくなった菌変異体は可溶性のリン酸が枯渇した環境下で他の共生型 Ct 株と同等レベルで植物の地上部成長を促しました (図 2・b)。この事実から、

たった一つの二次代謝物生合成クラスターの有無が、共生と寄生を分かつ要因であることが明らかになりました。

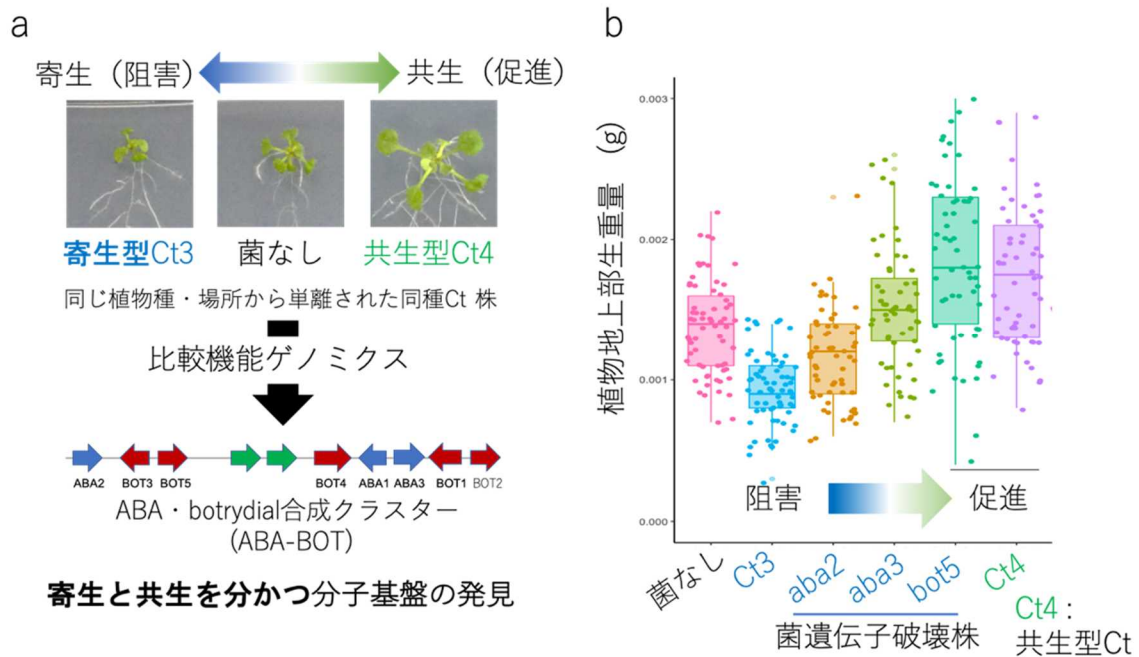


図 2：寄生と共生を分かつ菌因子 ABA-BOT の発見

寄生型と共生型の Ct 株の比較解析を行なったところ、寄生型 Ct 株 (Ct3) のみが植物感染中に ABA-BOT を活性化させそれが寄生性発揮に重要であることが判明した。ABA 合成遺伝子欠損菌変異体 *aba2*、*aba3* においては野生型の Ct3 では認められた植物成長阻害効果がなくなり、BOT 合成遺伝子が欠損した変異体 *bot5* においては共生型の Ct4 と同等レベルで植物成長を促すことが植物の地上部生重量を測定した結果から明らかになった。

最後に、ABA-BOT クラスターの活性化度合いは外部の温度変化に影響を受けることを発見しました。具体的には、通常のシロイヌナズナの生育温度である 22°C から 26°C へと温度を上昇させた場合に、該当クラスターの合成遺伝子の発現が認められなくなり、それに伴い寄生型 Ct 株が可溶性リンの枯渇した環境下で植物成長を促す共生型へと変貌しました (図 3)。さらに、植物のリン枯渇応答を制御する転写因子が欠損したシロイヌナズナ変異体においては、26°C であっても寄生型 Ct 株は二次代謝物クラスターの活性化を通じて植物成長を阻害することが明らかになりました。以上から、寄生型 Ct 株は一日の中でも認められる温度変化や植物の遺伝的な背景に応じてクラスターの活性化を連続的に変えており、その連続的な発現変化が寄生型 Ct 株の示す寄生から共生と多彩かつ連続的な植物感染戦略を支えていることが想定されます。

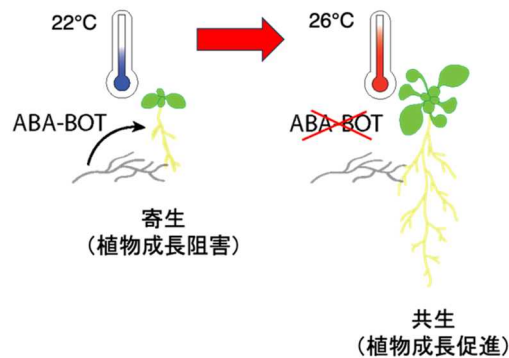


図 3：温度変化によって寄生から共生へと変貌する寄生型菌
 22℃では ABA-BOT が活性化して植物成長を阻害する。
 一方で、26℃では ABA-BOT が活性化されず植物の成長を促す。

〈今後の展望〉

植物の共生菌と寄生菌が全く異なる存在でなく、実は両者は連続的につながった存在であることが判明しました。これは、これまでの寄生菌と共生菌とを異なる存在としてラベル化してきた現状の考え方を变えるものだと考えています。今後、植物定着糸状菌が持つ共生性と寄生性を分かつ ABA-BOT クラスターの制御機構を理解しその理解に基づいて制御することで、共生菌も潜在的に秘めている寄生性発揮機構を抑止することが可能となり、将来的により安定的に植物成長を促す微生物資材として活用する術が得られることが期待されます。また、今回同定した二次代謝物生合成遺伝子クラスターは活性化することで植物成長が阻害される負の一面はあるものの、植物組織に糖を蓄積させる有用形質も示しうることが明らかになりました。その制御機構がわかることで、植物の成長を害さない適切なタイミングで糖を高蓄積させた作物の生産にもつなげられると期待しています。

発表者

東京大学

大学院総合文化研究科 広域科学専攻

晝間 敬（准教授）

比嘉 毅（特任研究員）

ユニアル デフィ ウタミ（東京大学特別研究員）〈日本学術振興会 特別研究員〉

椎名 昭斗（修士課程）

中村 雅未（学術専門職員）

大学院新領域創成科学研究科

岩崎 涉（教授）

青木 誠志郎（客員共同研究員）

大学院農学生命科学研究科

田野井 慶太郎（教授）

大森 良弘（准教授）

北海道大学 大学院理学研究院
及川 英秋（研究当時：教授）
南 篤志（准教授）
瀧野 純矢（特任助教）

理化学研究所 環境資源科学研究センター
岡本 昌憲（チームリーダー）
〈研究当時：宇都宮大学 バイオサイエンス教育研究センター（准教授）〉

名古屋大学 アイソトープ総合センター
杉田 亮平（講師）

奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科
西條 雄介（教授）
川邑 菜々美（研究当時：修士課程）

薬用植物資源研究センター
佐藤 豊三（客員研究員）
〈研究当時：農業・食品産業技術総合研究機構 農研機構遺伝資源センター（研究専門員）〉

論文情報

〈雑誌〉 Nature Communications
〈題名〉 A fungal sesquiterpene biosynthesis gene cluster critical for mutualist-pathogen transition in *Colletotrichum tofieldiae*
〈著者〉 Kei Hiruma*, Seishiro Aoki, Junya Takino, Takeshi Higa, Yuniar Devi Utami, Akito Shiina, Masanori Okamoto, Masami Nakamura, Nanami Kawamura, Yoshihiro Ohmori, Ryohei Sugita, Keitaro Tanoi, Toyozo Sato, Hideaki Oikawa, Atsushi Minami, Wataru Iwasaki, Yusuke Saijo
〈DOI〉 10.1038/s41467-023-40867-w
〈URL〉 <https://www.nature.com/articles/s41467-023-40867-w>

研究助成

本研究は、科研費「新学術領域研究（課題番号：16H06279）」、「若手研究（課題番号：18K14466）」、「新学術領域研究（課題番号：18H04822）」、「新学術領域研究（課題番号：19H05688）」、「基盤研究（B）（課題番号：20H02986）」、「学術変革（B）（課題番号：21H05150）」、「基盤研究（B）（課題番号：22H02204）」、科学技術振興機構（JST）「戦略的創造研究推進事業さきがけ（課題番号：JPMJPR16Q7）」、「戦略的創造研究推進事業 CREST（課題番号：JPMJCR19S2）」、「戦略的国際共同研究プログラム SICORP（課題番号：JPMJSC1702）」、「創発的研究支援事業（課題番号：JPMJFR200A）」の支援により実施されました。

用語解説

- (注1) 二次代謝物生合成遺伝子クラスター：糸状菌のゲノム上には特定の二次代謝物を合成する合成遺伝子や制御因子が一つの領域に集積してクラスター化していることが多い。
- (注2) トランスクリプトーム解析：植物や菌に蓄積する RNA の総体をトランスクリプトームと呼び、それ全体を解析し、特定の刺激を与えた際に有意に蓄積もしくは減少する RNA およびそこにコードされる遺伝子を同定する方法。
- (注3) テルペン：イソプレンを構成単位とする炭化水素で、植物や昆虫、菌類、細菌などによって作り出される生体物質。
- (注4) *Colletotrichum tofieldiae* (Ct)：野外環境で生息するシロイヌナズナから単離された内生糸状菌。2016年に、晝間敬准教授と Richard O'Connell 博士、Paul Schulze-Lefert 教授らによる研究グループが、Ct がシロイヌナズナの根に病気を引き起こすことなく定着し、可溶性リンが枯渇した環境下では菌糸を介してリンを宿主植物へと供給して植物成長を促すことを明らかにしている。(Hiruma et al., Cell 2016)
- (注5) アブシシン酸 (ABA) 応答経路：ABA は植物の主要な植物ホルモンの一つで、乾燥ストレスや低温ストレスに植物が立ち向かう上で重要なホルモン応答経路である。
- (注6) botrydial：糸状菌由来のセスキテルペン型二次代謝物で、先行研究で高濃度に植物に処理した際に細胞死を誘発することから毒素と考えられた。

問合せ先

〈研究に関する問合せ〉

東京大学大学院総合文化研究科

准教授 晝間 敬 (ひるま けい)

Tel : 03-5454-6631 E-mail : hiruma[at]g.ecc.u-tokyo.ac.jp

〈JST 事業に関する問合わせ〉

科学技術振興機構 創発的研究推進部

内山 浩幹 (うちやま ひろき)

Tel : 03-5214-7276 E-mail : souhatsu-inquiry[at]jst.go.jp

〈報道に関する問合せ〉

東京大学大学院総合文化研究科 広報室

Tel : 03-5454-6306 E-mail : pro-www.c[at]gs.mail.u-tokyo.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

Tel : 03-5214-8404 E-mail : jstkocho[at]jst.go.jp