

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「植物の機能と制御」

研究課題
「共生ネットワークの分子基盤」

研究終了報告書

研究期間 平成14年11月～平成20年3月

研究代表者：川口 正代司
(東京大学大学院・理学系研究科・准教授)

1 研究実施の概要

陸上植物と土壤微生物の最も普遍的な共生は、アーバスキュラー菌根菌との共生である。菌根共生のルーツは古く、植物が海から陸上に進出した4億年前とされ、コケ、シダ、裸子植物を含め、現在の陸上植物のおよそ8割が共生していると言われる。菌根菌は外生菌糸を介して土壤中のリン酸を吸収し宿主に提供する一方、宿主から光合成産物を受け取ることによって増殖し共生関係を成立させている。菌根菌が根に感染すると、皮層細胞内に樹枝状体(アーバスキュール)と呼ばれる枝分かれの多い独特の細胞内器官が形成され、ここで養分が交換されていると考えられている。菌根菌は多くの陸上植物と共生することができるが、例外的にシロイヌナズナを含むアブラナ科等では共生することができないため、共生の分子メカニズムはほとんど明らかにされてこなかった。しかしながら近年、根粒菌が分泌する根粒形成シグナル Nod factor の受容系が破綻したマメ科植物の根粒非着生変異体 Nod⁻の多くは、菌根菌との共生系も破綻している Myc⁻変異体であることが判明し、根粒菌や菌根菌との共生に少なからぬ共通のシグナル伝達経路が存在することが明らかになった。これを共生の Common Signaling Pathway と呼ぶ。

本研究プロジェクトでは、日本に自生するマメ科のモデル植物ミヤコグサ *Lotus japonicus* を用い、植物と菌根菌の共生に関わるシグナル物質の分子同定を試みると共に、菌類や窒素固定細菌と共生するために進化させてきた植物側遺伝子、そして両者をつなぐ Common Signaling Pathway の遺伝子を明らかにすることを目的とした。これは、植物が4億年以上の時をかけて築いてきた土壤微生物との共生ネットワークの分子基盤を解明する試みでもある。

(1) 植物とアーバスキュラー菌根菌のシグナル物質を介したコミュニケーション

植物とアーバスキュラー菌根菌(菌根菌)との共生はそれぞれが生産するシグナル物質の相互認識から始まる。植物と菌根菌の生産する共生シグナルはそれぞれ branching factor (BF), Myc factor (MF)と呼ばれている。BF は菌根菌の宿主認識反応である菌糸分岐を誘導する物質で、根から分泌される脂溶性の低分子化合物であることが分かっていたが、未だ単離されていなかった。

一方 MF については、その存在に対する実験的証拠さえなかった。しかし、菌根共生と根粒共生との間で共生初期のシグナル伝達経路 Common Signaling Pathway が存在することや、根粒菌やその共生シグナルである Nod factor によって誘導される初期ノジュリン遺伝子が菌根菌の感染初期にも誘導されることから、MF が実在することは確実視されていた。秋山グループはこれら共生シグナルの単離・同定を目指して研究を行った。具体的にはまず、菌根菌や根粒菌によって活性化される *LjCbp1* プロモーターに GUS 遺伝子が挿入されたミヤコグサ T90 形質転換体を被検植物として用いる MF アッセイを新規に構築した。本アッセイにおいて、菌根菌 *Gigaspora margarita* や *Glomus intraradices* の孢子抽出物に強い活性が存在することを見出した。T90 と *sym15-2* 変異体との交配により得られた植物を用いたアッセイ結果から、この活性物質は Common Signaling Pathway 依存的に *LjCbp1* プロモーターを活性化することが明らかになった。

(2) 菌根菌と根粒菌の共生を支える Common Signaling Pathway

アーバスキュラー菌根菌は菌類で独自のクレードを形成する真核生物であるのに対し、根粒菌は原核生物であり、細胞のつくりや共生様式に顕著な違いが認められる。しかしながら驚くべき事に、これら2種の共生菌の初期感染プロセスには少なからぬ共通の植物因子が存在することが判明し、これは冒頭で述べたように Common Signaling Pathway と呼ばれている。川口らによって単離されたミヤコグサ根粒形成変異体 *sym71*, *sym73*, *sym74*, *sym79*, *sym80*, *sym82*, *sym84*, *sym85*, *sym86* についてカルシウムスパイクを含む表現型解析を行い、原因遺伝子の同定などの知見からこれら共生変異体について、*sym71* は *castor*, *sym73* と *sym85* は *nup85*, *sym74* は *alb1*, *sym79* は *crinkle*, *sym82* は *cyclops*, *sym86* は *pollux* と命名された。このうち *castor*, *pollux*, *cyclops*, *nup85*, については根粒形成の菌根形成の双方が破綻した Common Signaling Pathway 上の因子であることが菌根菌の感染実験より確認された。そこで、林グループ、Parniske グループ、斉藤グループ、梅原グループ、川口グループは研究連絡を密にし、優先的にこれら遺伝子座のポジショナルクローニングを試み、原因遺伝子を特定した。さらに特定した原因遺伝子の細胞内局在や因子間の相

相互作用を詳細に解析した。

(3) 菌根菌との共生に特異的な宿主因子の探索

Common Symbiosis Pathway の存在によって、根粒菌と菌根菌の双方の共生に必要とされる宿主因子のみならず、根粒菌との共生に特化した因子が明らかとなってきた。しかしながら、菌根形成に特異的な共生変異体は、肉眼で識別可能な根粒共生変異体とは異なり、根の内部の菌糸や樹枝状体を染色して顕微鏡観察によって選抜する必要があり、いまだに菌根菌との共生に特異的に働く変異体の報告はない。しかしながら、この因子の発見は共生シグナル伝達経路の全体図を描くために欠くことのできない重要な要素である。大友グループは、ミヤコグサを用いて菌根特異的な変異体の単離を試み、4年間で約2万株の M2 個体を一次選抜に供し、そこから菌根非感染の形質に再現性があり、かつその形質が M3に遺伝する菌根特異的な共生変異体を4株得ることに成功した。この選抜試験では、他に27株の菌根共生／根粒共生に共通する変異株も得られた。また、他の研究グループが分離した根粒共生変異体の菌根共生に関する表現型解析を行い、13株を新たに根粒共生・菌根共生共通の変異体として同定した。

アーバスキュラー菌根菌は大部分の陸上植物と共生関係を結び、宿主から光合成産物を得る代わりにリン酸をはじめとする無機栄養分や水分の植物への吸収を高めている。また、植物は菌根共生によって耐病性も獲得するという。菌根共生を行っている植物においては、菌根誘導型リン酸トランスポーターが根の皮層細胞で発現が誘導されることが、ジャガイモ、イネ、タルウマゴヤシ、ミヤコグサなどで知られている。一方、ダイズは世界で最も重要なマメ科作物であるが、その菌根誘導型リン酸トランスポーター遺伝子は全く未知である。そこで畑グループは、ミヤコグサの菌根誘導型リン酸トランスポーター遺伝子を同定した手法を適用し、ダイズにおける当該遺伝子を単離した。

(4) 根粒菌の感染プロセスと共生窒素固定を制御する宿主因子の特定

本プロジェクト発足当初、根粒菌がマメ科植物に感染し、共生窒素固定を行うプロセスで働く宿主因子はほとんどわかっていなかった。そこで、梅原グループは、感染プロセスから窒素固定の分子機構を明らかにすることを目的として、遺伝子単離に有利なマメ科のモデル植物ミヤコグサを用い、根粒及び菌根菌共生変異体の選抜を行った。その結果、再生個体由来の共生変異体 15 系統 (Nod- 2遺伝子座6系統、Hist-1遺伝子座4系統、Fix- 4遺伝子座5系統)、および、重イオンビーム照射植物由来の共生変異体候補 44 系統 (Nod-18 系統、Hist-3系統、Fix-26 系統、Nod++7系統) が選抜された。さらに、これまで川口らによって EMS 処理植物から単離された Fix-変異体を解析し、新たに少根粒変異体 *Ljsym88* と Fix-変異体 *Ljsym89* を単離した。これらのうち、再生個体由来系統 15 系統、重イオンビーム照射系統14系統、EMS 処理変異系統6系統を連鎖地図上に位置づけたところ、13遺伝子座の新規の共生変異体を見いだした。

共生窒素固定系成立過程の後期に関する植物側の分子機構を明らかにするため、新規と判断された Fix-変異体 *Ljsym89* と Hist-変異体 *Ljsym101* に関して、変異体の表現型解析を行うとともに、原因遺伝子を単離した。また、林グループは、*alb1*, *sym80* が、根粒形成の初期から感染プロセスに関わる因子であることを見出し、ポジショナルクローニングにより *Alb1* の原因遺伝子を特定した。

(5) 遠距離シグナル伝達を介した根粒・菌根共生系の解明

貧栄養の環境に置かれても容易に移動できない植物にとって、より積極的に養分を得る手段を持つことは、生存に非常に有利である。しかしながら共生窒素固定は多くの生体エネルギーを消費するプロセスであり、植物の生育や養分環境とバランスの取れた数の根粒が形成されると植物の生育にプラスであるが、過剰な根粒形成はむしろ植物の生育を妨げる。そのため植物は生育に必要な以上の根粒を抑制する機構を持ち、根粒の数を適正に制御している。中でも、植物の根に根粒菌が感染すると、根とシュート(植物の地上部)間の遠距離シグナル伝達によりその後の根粒形成が抑制される機構は根粒形成のオートレギュレーションと呼ばれているが、現象としては古くから知られているものの、その分子メカニズムはほとんど解明されていない。川口グループは、本プロジェクトに先立ち、マメ科モデル植物ミヤコグサにおいて根粒過剰着生変異体 *har1* がシュートで働き根

粒形成のオートレギュレーションの破綻した変異体であること、さらにその原因遺伝子がシロイヌナズナの茎頂分裂組織のサイズを制御する *CLAVATA1* (以下、*CLV1*) と最も高い相同性を示す受容体型キナーゼであることを明らかにしていた。シロイヌナズナの *CLV1* は *CLV3* 様ペプチドをリガンドとして認識していることが知られている。そこで *HAR1* は、*CLV3* 様ペプチドをリガンドとして認識していることを想定し、ミヤコグサのゲノム情報から、遠距離移行すると予想される *HAR1* リガンドの探索を行った。さらに沖縄県宮古島由来の早咲きミヤコグサ Miyajima MG-20 にイオンビーム照射することにより新規根粒過剰着生変異体 *klavier* (*klv*) を単離し、その原因遺伝子を特定した。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

菌根菌は植物から有機物の供給を受け、菌は土壤中のリン酸などの養分を効率よく植物体へ供給している。また、ダイズに代表されるマメ科植物は、菌根菌の他に窒素固定のはたらきを持つ根粒菌とも共生することができる。植物の3大栄養素である窒素、リン、カリウムのうち2つの栄養素を供給する菌根菌・根粒菌(共生菌)等微生物との共生関係は、植物の生育にとって欠かすことのできないものである。本研究プロジェクトでは、植物の生存を支える土壤微生物との共生ネットワークの分子基盤を明らかにすることを目的とし、日本に自生するマメ科のモデル植物ミヤコグサを用いて、植物と菌根菌の共生シグナル物質の同定に向けての研究と、共生を制御する宿主遺伝子を分子遺伝学的解析により特定・解析する研究を行った。

川口グループ

- ・菌根根粒共生変異体 *Myc-Nod-* の表現型解析と原因遺伝子の同定
- ・遠距離シグナル伝達を介した根粒・菌根共生系の全身制御システムの解明

秋山グループ

- ・植物から菌根菌への共生シグナル Branching factor(BF)の精製と同定
- ・菌根菌から植物への共生シグナル *Myc factor*(MF)のアッセイ系の構築と精製

林グループ

- ・菌根根粒共生変異体 *Myc-Nod-* の表現型解析と原因遺伝子の同定
- ・根粒菌の感染糸形成変異体の表現型解析と原因遺伝子の同定

梅原グループ

- ・新規根粒形成変異体の単離と系統の確立
- ・感染過程と窒素固定に異常を示す変異体の表現型解析と原因遺伝子の同定

大友グループ

- ・菌根菌との共生に特異的な変異体の単離の試み
- ・根粒非着生変異体における菌根表現型の解析

Parniske グループ

- ・菌根根粒共生変異体 *Myc-Nod-* の表現型解析と原因遺伝子の同定
- ・Common Signaling Pathway を構成する宿主因子の分子間相互作用の解析

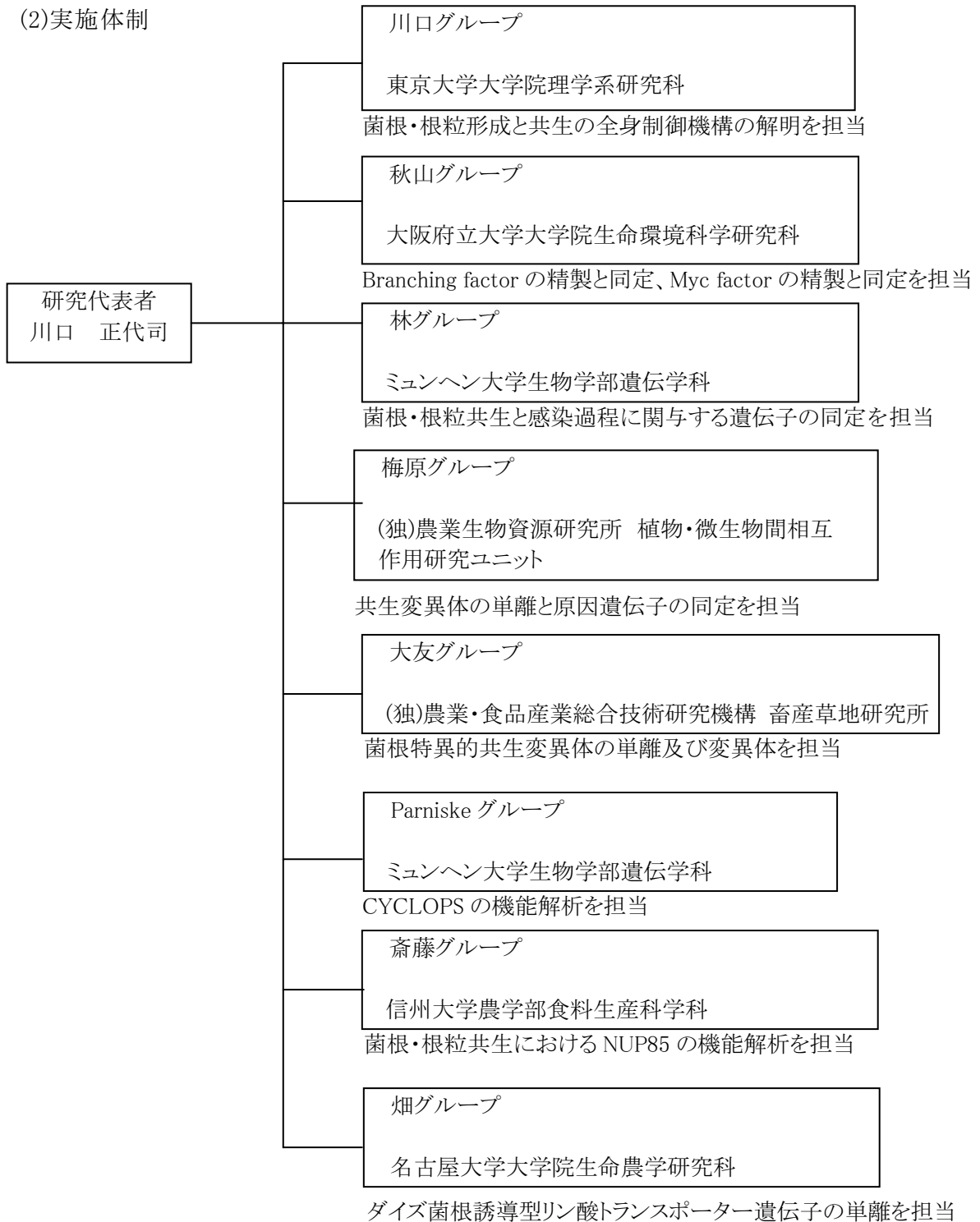
斎藤グループ

- ・菌根特異的変異体のスクリーニング系の構築
- ・菌根根粒共生変異体 *Myc-Nod-* の表現型解析と原因遺伝子の同定

畑グループ

・ダイズ菌根誘導型リン酸トランスポーターの単離

(2)実施体制



3 研究実施内容及び成果

3.1 植物とアーバスキュラー菌根菌のシグナル物質を介したコミュニケーション

(1) 研究実施内容及び成果

① Branching factor(BF)の精製と同定

アーバスキュラー菌根共生は、植物と菌根菌のシグナル物質の交換により開始されると予想されている(図1)。秋山グループはBFの精製開始にあたり、まず菌糸分岐アッセイの構築を行った。アメリカ農務省の Nagahashi と Douds により開発されたアッセイ系を基にして、より簡便性と再現性の高いペーパーディスク法を考案した。ミヤコグサやエンドウ、ニンジン、ソルガムなどを水耕栽培し、その水耕液を出発材料として精製に取り組んだ。BF が極微量かつ不安定物質であったために精製は難航したが、9,920 L の水耕液よりミヤコグサ BF を約 8 mg 単離することにまず成功した。EI-MS 分析において、 m/z 97 に強いフラグメントピークを与えたことから、BF がストリゴラクトン類であることが判明した。その後、水耕液からの BF の回収に活性炭を用いる方法を開発することにより、20 L の水耕液から完全に純粋な BF を 18 mg 単離できた。スペクトル解析と化学合成により BF を 5-deoxystrigol と同定した(図1)。本物質は根寄生雑草の種子発芽刺激物質として報告されていたストリゴラクトンの一種であった。既知の天然ストリゴラクトン sorgolactone, strigol, そして合成アナログ GR24 のすべてにおいても極微量で BF 活性が見られたことから、BF は根寄生雑草の種子発芽刺激物質としてすでに単離されていたストリゴラクトンであることが明らかになった。

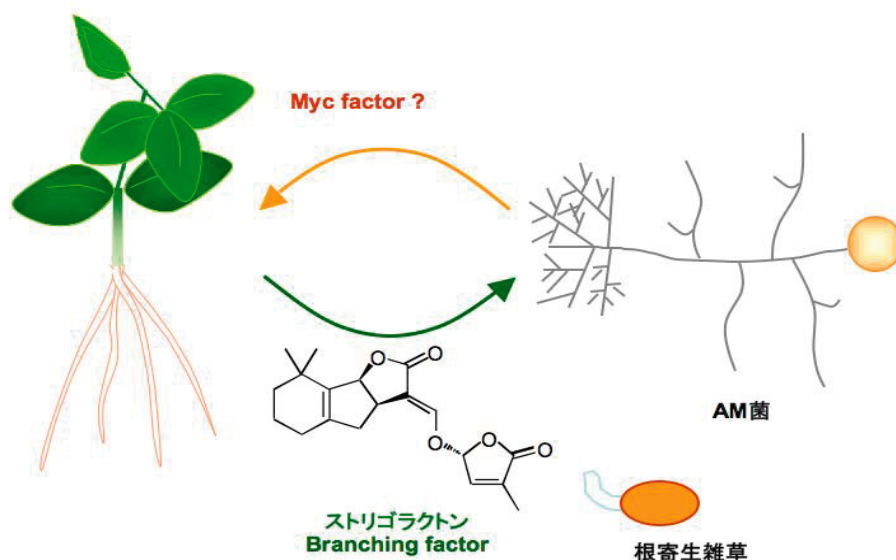


図1 植物とアーバスキュラー菌根菌のシグナル物質によるコミュニケーション

② Myc factor (MF)の精製と同定

プロジェクト開始時点では、菌根菌から植物へのシグナル物質 MF が存在するという実験的証拠は未だ報告されていなかったため、MF を検出するアッセイ系を開発する必要があった。根粒菌接種や Nod factor 処理により活性化される *LjCbp1* プロモーターが菌根菌感染によっても活性化されるという知見を基に、本プロモーター活性を指標とする MF アッセイを構築することにした。被検植物としては *LjCbp1* プロモーターに GUS 遺伝子が挿入されたミヤコグサ T90 形質転換体を用いた。生育条件やサンプル処理法を種々検討してペーパーディスクアッセイを構築し、プロジェクト中盤には菌根菌 *Gigaspor* 菌根 *argarita* や *Glomus intraradices* の孢子抽出物にプロモーター活性化物質、すなわち MF 候補物質が存在することを突き止めた。しかし、本法では植物体の反応率が低いことや対照区での擬陽性の発生などの幾つかの問題点があった。プロジェクト終盤になり、これら問題点をすべて解決したマイクロインジェクション法を開発でき、ようやく精製に本格的に取り組める状態になった。T90 と *sym15-2* 変異体との交配により得られた植物を用いたアッセイ結果から、

活性物質は Common Signaling Pathway 依存的に *LjCbp1* プロモーターを活性化することが明らかになった。現時点で、MF 精製は進行途上にあり、活性本体の単離には至っていない。

(2)研究成果の今後期待される効果

菌根菌と植物のシグナル物質を介したコミュニケーションの研究から、BF の実体がストリゴラクトンであることが判明し、菌根菌と根寄生雑草がストリゴラクトンという同じ物質を宿主シグナルとして認識することが明らかとなった。今後の最大の課題は菌根菌と根寄生雑草におけるストリゴラクトン受容機構の解明であろう。また、受容後にどのような遺伝子が活性化され、根への共生・寄生が進行していくのか詳細に解析していく必要がある。根寄生雑草の被害は日本ではまだ報告されていないが、アフリカなどでは深刻であり、有効な防除法の開発が望まれている。最近、菌根菌を接種した植物では根寄生雑草の寄生が抑えられることが報告されている。今回の発見をもとに、根寄生雑草の発芽を抑え、菌根菌の菌糸分岐だけを促進させるようなストリゴラクトン誘導体を作り出すことができれば、菌根菌を利用する新たな防除法を開発できるかもしれない。

またMFの解明は、現在熾烈な国際競争下におかれている。プロジェクト開始時にはMFが存在するという実験的証拠すらなかったことを考えると、この5年間でMF研究の進歩は目覚ましいものがある。プロジェクト終盤になりMFのバイオアッセイ系を構築することができたので、今後も引き続いて精製を進める予定である。MFは微量物質であり、さらに純粋培養できない菌根菌の生育特性から、出発原料となる胞子の量的確保が困難であり、精製・同定作業は困難を極めるものと予想される。しかし、最大限尽力し、BFに続きMFも我々の手で解明したいと考えている。

3.2 菌類とバクテリアの共生を支える Common Signaling Pathway

(1) 研究実施内容及び成果

根粒菌との共生に破綻をきたした変異体のうち、菌根菌との共生にも影響を及ぼす Common Signaling Pathway の遺伝子座は現在7つ知られている(図2)。林グループ、Parniskeグループ、斉藤グループ、梅原グループ、川口グループは共同研究により、それらのうちの4つ、すなわち *castor*、*pollux*、*nup85*、*cyclops* についてポジショナルクローニングによって原因遺伝子を同定し、さらに遺伝子産物の局在及び機能解析をおこなった。

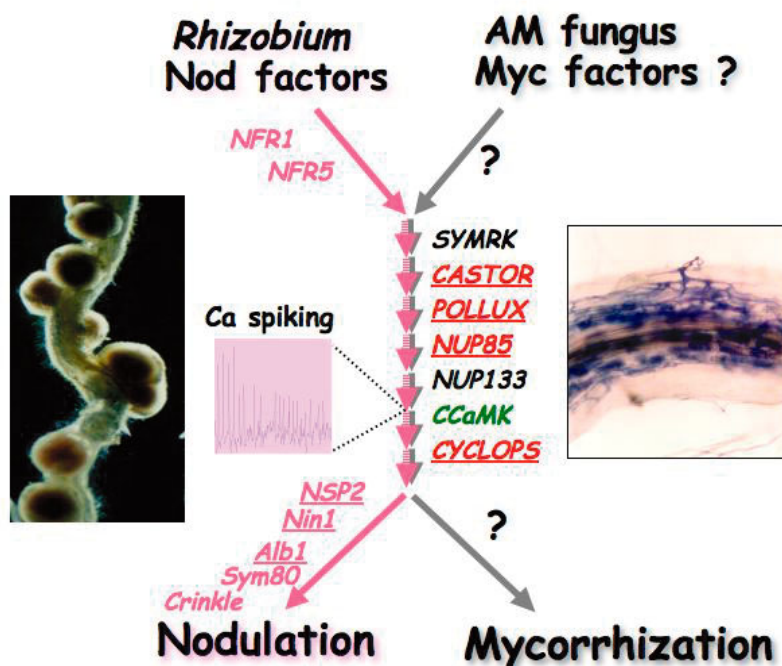


図2 菌根菌と根粒菌の双方の共生に必要な Common Signaling Pathway

① CASTOR と POLLUX

Myc-Nod-変異体である *castor* と *pollux* は類似した表現型を示し、根粒菌接種あるいは根粒菌感染シグナルである Nod factor 投与によって過剰な根毛変形を示した。Nod ファクターを受容した植物の根毛では、約 10 分後に根毛細胞の核内と核周辺でカルシウムスパイクと呼ばれるカルシウムイオン濃度の周期的な変動が起こり、感染の初期過程に重要な役割を果たしていると考えられている。そこで、*castor* と *pollux* 変異体に Nod factor を添加したところ、カルシウムスパイクは観察されなかった。このことから CASTOR, POLLUX はカルシウムスパイクの発生に必須の因子であることが判明した。ポジショナルクローニングによる遺伝子同定の結果、CASTOR と POLLUX はどちらも4回膜貫通型の新規イオンチャネルであり、遺伝子産物のなかほどにイオン通過の調節 (Gating) に関与すると思われるドメインを保持していた (図3)。

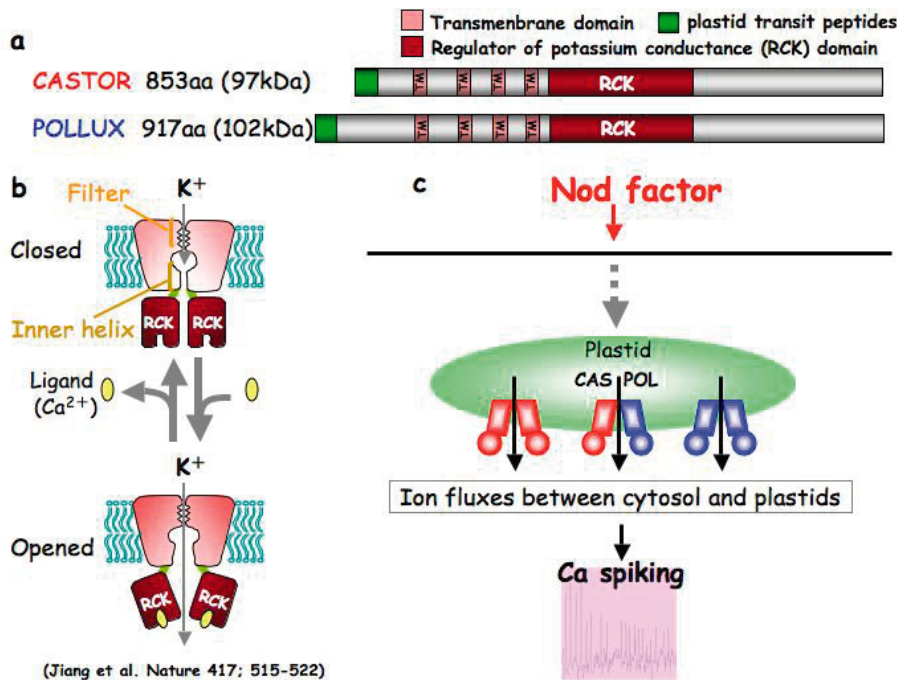


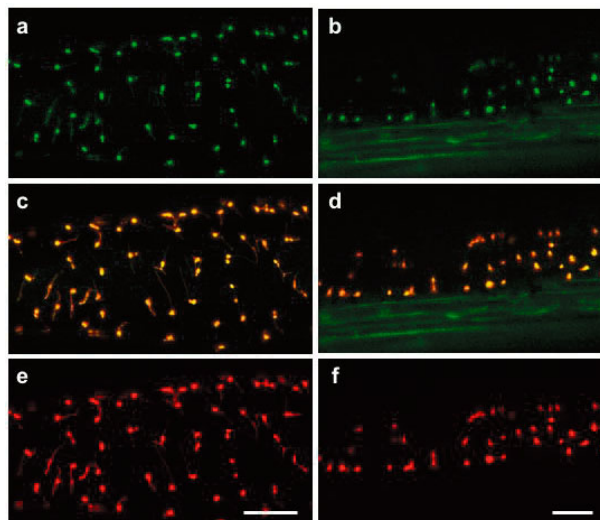
図3 CASTOR 及び POLLUX のドメイン構造と予測される作用機作

(a) *CASTOR*, *POLLUX* 遺伝子のコードするタンパク質の予測ドメイン構造。(b)カルシウムゲート型 カリウムチャネルの開閉制御モデル。(c) 根粒菌の Nod factor を受容した細胞では、*CASTOR* 及び *POLLUX* を介したイオンの流出入により、カルシウムスパイクが発生すると考えられる。

ホモロジーモデリングによって *CASTOR* と *POLLUX* はバクテリアの Ca^{2+} ゲート型 K^{+} チャネル MthK のイオン通過部位と構造相同性を示した。また、2つの遺伝子の N 末端にはプラスチド移行シグナルが存在し、実際に全長タンパクに GFP 蛍光タンパクを融合したコンストラクトを導入したところ、プラスチドに局在することが示された (図4)。

図4 *CASTOR* および *POLLUX* の細胞内局在

a : タマネギ表皮細胞における *CASTOR* と GFP との融合タンパクの局在。
 b : エンドウの根における *POLLUX* と GFP との融合タンパクの局在。
 e, f : *recA* の TP 配列と DsRed の融合タンパクによるプラスチド蛍光。
 c, d : それぞれの合成画像。
CASTOR および *POLLUX* はプラスチドに局在することがわかる。



② NUP85

Myc-Nod-変異体である *nup85* では、Nod ファクター処理後、枝分れした形態の根毛 (root hair branching) が高頻度に観察され、根毛の極成長に異常があることが明らかとなった。また、*nup85* 変異体にアーバスキュラー菌根菌 *Glomus intraradices* を感染させ菌根形成について解析を行った。野生型では、菌根菌は根表面に付着器を形成し表皮から皮層の細胞間隙を伸長しながら皮層細胞内に樹枝状体を形成していた。一方 *nup85* 変異体では、菌根菌菌糸が表皮細胞間を通過するものの、表皮と外皮の間で菌糸の伸長が停止しており、外皮細胞への侵入がブロックされていた(図5)。このことから *NUP85* は菌糸を表皮から皮層へ侵入させる過程に重要な宿主因子と考えられた。

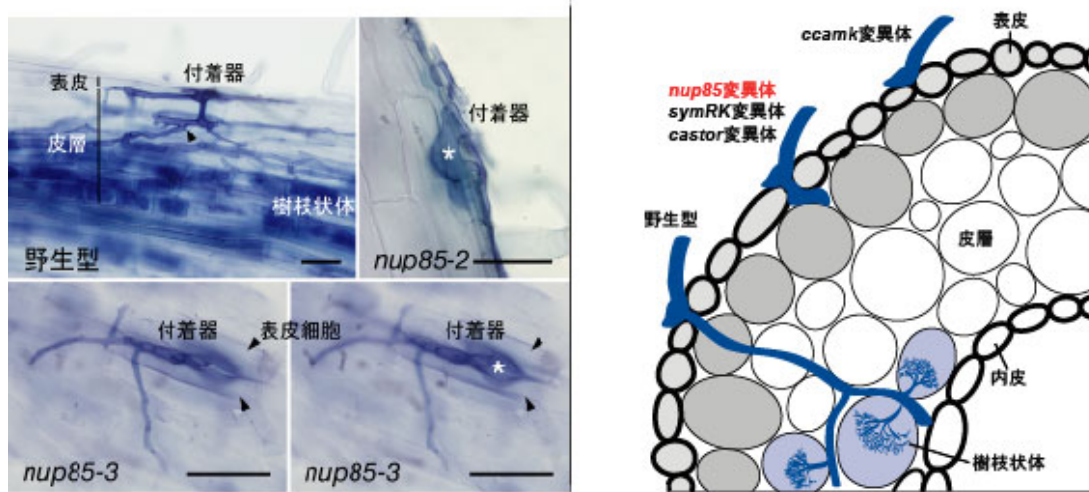


図5 *nup85* 変異体における菌根菌の感染様式

菌根菌感染の顕微鏡写真(左図)と各種共生変異体の菌根菌感染様式(右図)。左図の*は伸長停止した菌根菌の菌糸を示す。

nup85 変異体に Nod ファクターを添加したところ根毛でのカルシウムスパイクの誘導は認められなかったことから、*NUP85* は *CASTOR*, *POLLUX* と同様にカルシウムスパイクの誘導に必須の因子であることが判明した(図6)。

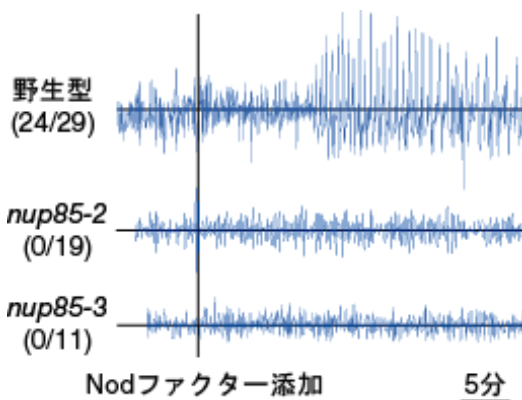


図6 *nup85* におけるカルシウムスパイク

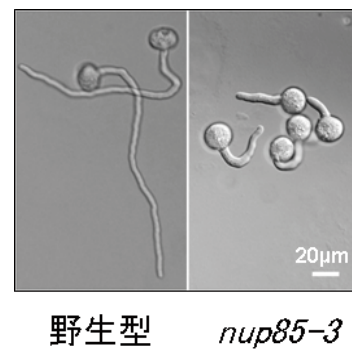


図7 *nup85* における花粉管伸長阻害

パキスタンのミヤコグサ *Lotus burtii* を交配パートナーとして *NUP85* の原因遺伝子を同定した。スクレオポリンは核膜孔を構成する複数種からなるタンパクであり、今回同定されたスクレオポリン様遺伝子 *NUP85* はヒト Nucleoporin75 と低いながらも全長にわたって相同性を示した。ミヤコグサ

から共生に必須なヌクレオポリン様遺伝子 *NUP133* が単離されているが (Kanamori *et al.*, PNAS, 103: 359, 2006)、*NUP85* はそれとは異なるタンパクをコードしていた。シロイヌナズナでは病害抵抗性遺伝子の機能獲得型変異のサブレッサーとしてヌクレオポリン構成因子をコードする *AtNup96* がクローニングされている。酵母や脊椎動物では Nup85 と Nup96, Nup133 はヌクレオポリン複合体の一つのサブユニットを構成することが知られている。核膜孔の形成により、共生菌、病原菌を問わず、菌の感染プロセスに特化した役割を持っていることが示唆された。また、ミヤコグサの *NUP85* は種子形成にも影響し、花粉管の伸長にも関係していることが示された (図7)。

③ CYCLOPS

根粒菌の感染プロセスと器官発生に異常を示す Hist-変異体 *cyclops* はこのカテゴリで唯一、菌根菌との共生にも不全を示す Myc-の表現型を示した。根粒菌との共生においては、根粒菌の植物細胞内への侵入がブロックされていた (感染糸形成阻害)。遺伝子同定の結果、*CYCLOPS* は未知のタンパクをコードしていたが、ドメイン解析の結果、2つの核局在モチーフと保存されたコイルドコイル領域を持つことが示された。そこで GFP 融合構築によって *CYCLOPS* の細胞内局在を解析したところ、細胞核に局在することが判明した (図8)。次に *Nicotiana benthamiana* の表皮細胞をもちいた一過的な形質転換により *CYCLOPS* の核局在モチーフを削除した融合タンパク質を発現させた。その結果、全長 *CYCLOPS* クローンが核への局在を示すのに対し、核局在モチーフを削ったクローンでは細胞質全体に蛍光が観察された。このことから予測された *CYCLOPS* の核局在モチーフが局在シグナルとして機能している事が証明された。

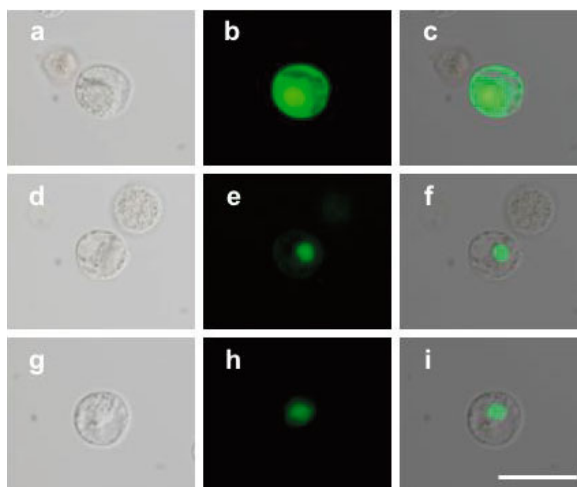


図8 タバコ BY-2 細胞における CYCLOPS の細胞内局在 a-c : GFP 単体。核と細胞質に局在する。d-f : NLS 配列と GFP の融合タンパク。核のみに局在する。g-i : *CYCLOPS* と GFP との融合タンパクの局在。*CYCLOPS* は核に局在することがわかる。

④ *CYCLOPS* と相互作用するタンパク質

CYCLOPS と生体内で相互作用するタンパク質を単離するために、酵母2ハイブリッド法によるスクリーニング系の構築を試みた。しかしながら、*CYCLOPS* タンパク質と Gal4 転写因子 DNA 結合領域との融合タンパク質を酵母内で発現させると、自己転写活性を持つ事が明らかになった。この *CYCLOPS* の転写活性は、C 末側のコイルドコイル領域を削ったクローンを作製する事で取り除く事が出来たことから、このデリベーションクローンを用いてライブラリーのスクリーニングを進めた。*CYCLOPS* が核に局在している事から、核局在の報告されている既知の共生関連タンパク質との相互作用を酵母2ハイブリッド法を用いて検証した。その中で *CYCLOPS* がデンマークの Tirichine と生物研の今泉らによって同定されたカルシウム・カルモジュリン依存型キナーゼ (CCaMK) と相互作用する事を見いだした (図9A)。この相互作用は *N. benthamiana* における一過的発現系を利用した、Bimolecular fluorescence complementation (BiFC) 法を用いても植物生細胞の核における相互作用を確認することができた。また酵母の2ハイブリッド法を用いて、全長 *CYCLOPS* と自己転写活性のない *CYCLOPS* のデリベーションタンパク質が相互作用する事を見いだした (図9)。この相互作用は BiFC 法によっても確認された。*CYCLOPS* とキナーゼ活性をもつ CCaMK との相互作用が確認されたことから、*CYCLOPS* がリン酸化の基質となりうる可能性について検討した。*in vitro* でのリン酸化解析により *CYCLOPS* が CCaMK によってリン酸化される事を証明した。また *CYCLOPS*-CCaMK 相互作用は CCaMK の持つキナーゼ活性に依存的であり、キナーゼ不活性型の CCaMK では *CYCLOPS* との相互作用を示さないことを酵母2ハイブリッド法や BiFC を用いて証明することができた (図9B)。

また CYCLOPS は CCaMK のキナーゼ活性を著しく上昇させることも判明した。

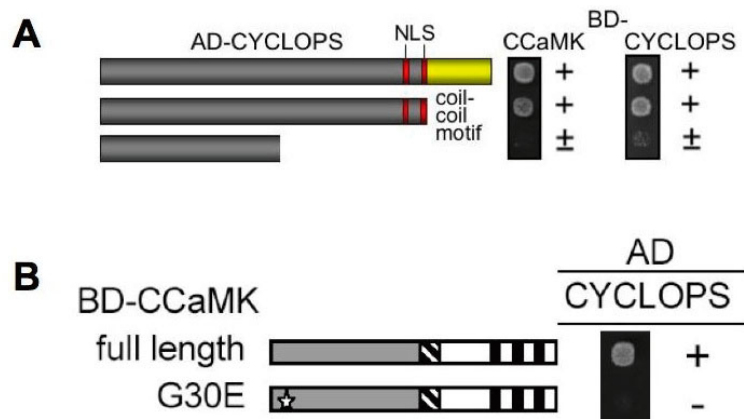


図9 Y2H系を用いた CYCLOPS との相互作用解析

(A) CYCLOPS-CCaMK および CYCLOPS-CYCLOPS 相互作用が確認できた。(B) CYCLOPS-CCaMK 相互作用のキナーゼ活性依存性変異 G30E により不活性型となったキナーゼをもつ CCaMK は Y2H で CYCLOPS との相互作用を示さなかった。

(2) 研究成果の今後期待される効果

CYCLOPS と CCaMK はカルシウムスパイクの下流で働く事が知られている。このことはカルシウム-カルモジュリン依存性キナーゼとしてこのカルシウムイオン濃度の変化を感知し、CCaMK-CYCLOPS 複合体が共生のシグナル伝達系においてカルシウムシグナルを下流に伝達する役割を果たしている可能性が示唆された。この研究によりこれまで点と点でしかなかった変異体から同定された共生遺伝子がつながり一つの経路を成していることを明らかにした。共生遺伝子産物の相互作用が明らかになったのはこれが初めてである。今後は CYCLOPS を中心とした転写制御機構の解明が今後の主要課題である。現在、CYCLOPS と相互作用する推定転写因子を同定しており、このタンパクは根粒共生に必須の因子であることが既に判明している。したがって CYCLOPS を中心とした転写制御ネットワークを解明することにより、感染プロセスの分子メカニズムが解明されると考えられる。一方、ヌクレオポリン様タンパクに関しては、近年植物の病原抵抗性にも深く関わっていることが報告されているので、NUP85 の分子メカニズムの解明は、共生のみならず病原抵抗性の理解にも寄与すると思われる。また、NUP85 は菌類との共生だけでなく生殖の一部にも影響を及ぼすことが新たに示された。これは共生システムと生殖システムの一部に共通性があることを示しており、今後 NUP85 の機能解析から得られる知見が共生を制御する技術ばかりでなく、生殖過程を制御する技術につながるものと期待される。

3.3 菌根菌との共生に特異的な宿主因子の探索

(1) 研究実施内容及び成果

① 菌根菌特異的変異体 Myc-Nod+ の単離

大友グループは菌根共生特異的に関わる因子を同定するためにミヤコグサを用いて菌根特異的共生変異体の選抜を行った。分離源としては梅原グループの作成した培養変異集団(約 700 株)と愛知教育大菅沼教授より譲りうけた EMS 処理変異株集団を用いた。菌根菌 *Glomus intraradices* の孢子約 6000 個を接種した、バーミキュライト 250ml を plant box に充填し、硬実打破の後、吸水させたミヤコグサの種子約 15~20(同一の M1 種子由来)を播き、液肥 Hornum 液(低リン酸濃度)を施肥した。人工気象機で約 4 週間栽培した後、plant box を解体し、根を洗浄後、信州大齊藤博士が開発した 24 穴 plate を使用した方法で染色し、菌根菌の感染の有無を確認した。選抜にあたっては地上部リン酸濃度などの簡便な選抜指標を確立できなかったため、植物体の根を

トリパンブルー染色した後に実体顕微鏡下で直接感染の有無を確認した。感染していない、あるいは低感染率の植物体については、地上部の発根処理をして、1 個体ごとに菌根菌胞子を約 2000 個接種して植物培養試験管で栽培し、菌根菌感染の有無を確認した。2 回目も感染が見られなかった個体について、種子 (M3) を回収した。菌根菌が感染していない株については、同じ M3 種子由来の数個体を発根処理して、バーミキュライト 200ml を充填したポットに移植して、N-free B&D 液体培地に懸濁したミヤコグサ根粒菌 (*Mesorhizobium loti*) を接種して約 4 週間栽培した。栽培後、ポットを解体して根粒の有無を確認した。選抜のフローを図 10 に示す。プロジェクト期間内に、19,062 株の M2 個体 (2,082 株の M1 個体に由来する) の選抜を行い、27 系統の菌根共生変異株を取得した。これら変異株の根粒菌共生能を試験したところ、4 系統が根粒形成は正常な菌根特異的変異株であった。これらの菌根共生に関する表現型は、菌糸の侵入が完全に阻止されるもの (1 系統)、部分的な菌糸の侵入が見られるもの (3 系統) など異なっていた。菌根特異的共生変異体の報告例は世界的に見ても極めて希少であり、特に菌糸の侵入が完全に阻止される変異体の分離は初めてであり、今後の展開が期待される。

以上のスクリーニングと平行して、梅原グループ、川口グループによって単離された根粒共生変異体の菌根共生に関する表現型解析を行った。13 株を新たに根粒共生・菌根共生が共に破綻した共生変異体として同定した。

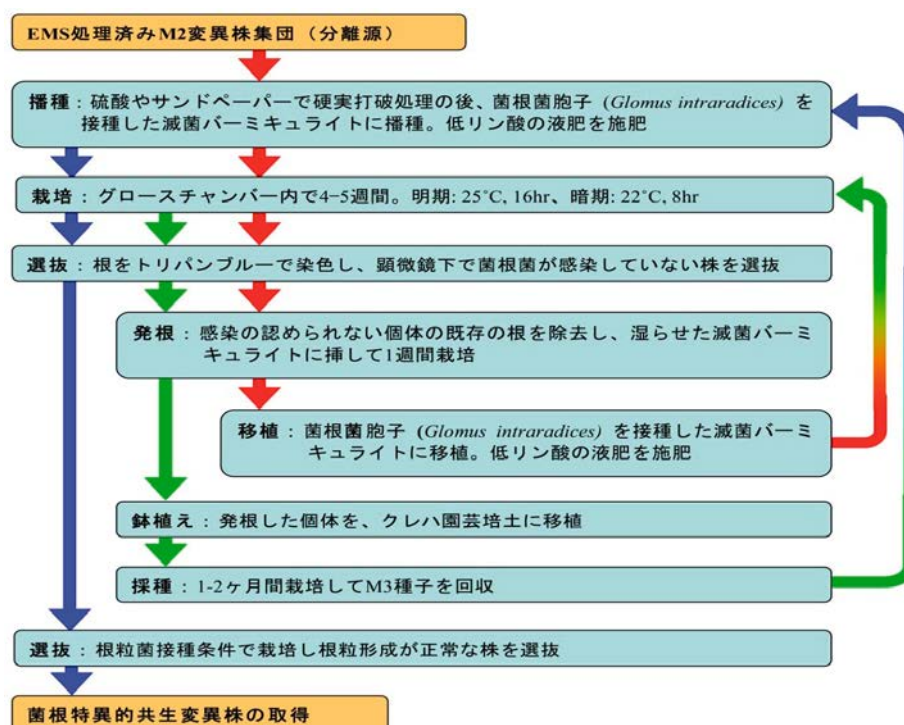


図10 菌根特異的共生変異体選抜のフロー図

② ダイズ菌根誘導型リン酸トランスポーターの単離

畑グループはダイズの菌根誘導型リン酸トランスポーター遺伝子を同定することを目的とし研究を行った。まず、低濃度のリン酸を含む土壌におけるダイズの生育に菌根共生が重要な役割を果たすことを確認した (図 11)。次いでダイズ菌根から RNA を抽出し、poly(A)⁺ RNA を調製した。プロメガ社の cDNA 合成キットを用い、oligo(dT) をプライマーとした逆転写反応と二本鎖 cDNA 合成反応を行ったあと、cDNA の両端に *EcoRI* アダプターを結合させた。こうして作成した cDNA をストラタジーン社のラムダ ZAP II フェージベクターに組み込み、cDNA ライブラリーを作成した。

植物リン酸トランスポーターに高度に保存されたアミノ酸配列を基に混合プライマーを合成し、

cDNA ライブラリーを鋳型とした PCR によってリン酸トランスポーター遺伝子の断片を増幅させた。当該 cDNA 断片を放射能で標識し、ライブラリーをスクリーニングする際のプローブに用いた。

また、畑グループよりミヤコグサで初めて単離された3種のリン酸トランスポーター遺伝子 (Maeda et al. (2006) *Plant Cell Physiol.* 47: 807-817) もプローブとした。



約 40 万クローンのダイズ菌根 cDNA ライブラリーを用いて緩い条件でスクリーニングした結果、42 個のリン酸トランスポーター遺伝子クローンを単離した。部分的に塩基配列を決定したところ、これらは7つの分子種をコードすることが判明し、新規な遺伝子 *GmPT1-7* と名付けた。なお、*GmPT2*, *GmPT4*, *GmPT5* は 5' 末端が欠けていたので、5' -RACE 法を用いて欠損部を補い、7つのリン酸トランスポーター遺伝子全てのコーディング領域の配列が明らかになった。ダイズは世界で最も重要なマメ科作物であり、今後育種にむけた応用への展開が期待される。

図11 ダイズの生育における菌根菌接種の影響

菌根菌接種(左側)と非接種(右側)

(2) 研究成果の今後期待される効果

菌根特異的の共生変異体の単離はプロジェクトの最終年度に達成され、これは世界に先駆けた極めて重要な成果である。今後は相同性試験によってグループ分けを行った後、それぞれについてマッピングを行い、原因遺伝子の同定を行う。これまで根粒特異的、および根粒・菌根共生に共通な Common Signaling Pathway 上の遺伝子しか明らかにされておらず、ここに菌根特異的の共生遺伝子の情報が加わる事で共生を司る宿主因子の全貌が遺伝子レベルで明らかになる。菌根共生系はマメ科のみならず多くの植物種が共通して維持してきた重要形質であり、植物と植物共生微生物の共進化を考える上でも興味深い情報が得られるであろう。また菌根菌の有効活用においても、共生を支える分子基盤の理解が進めば、より高効率な共生能を植物に賦与したり、一部の種において植物進化の過程で失われた共生能を復活させたりすることも将来的には可能となると期待される。一方、ダイズより単離された菌根誘導型リン酸トランスポーター遺伝子に関しては、菌根誘導の発現様式をさらに解析することによって、過剰施肥や農薬過多を避けた環境低負荷型のダイズ栽培法の確立にむけての基礎知見を提供するものと期待される。

3.4 根粒菌の感染プロセスと共生窒素固定を制御する宿主因子の特定

(1) 研究実施内容及び成果

① 共生変異体の単離と戻し交配による変異体系統の確立

梅原グループは共生系の分子機構を明らかにするための基盤構築を目的として、ミヤコグサを用い根粒及び菌根菌共生変異体の選抜と系統確立を行った。新規の変異体を得る可能性を高めるため、これまで使われていた EMS 処理植物ではなく、培養からの再生個体植物と C⁶⁺重イオンビーム照射植物を使用した。バーミキュライトポットに移植した植物にミヤコグサ根粒菌 *Mesorhizobium loti* Tono を接種後、4週間ほど無窒素条件下で栽培を行い、窒素欠乏症状を呈する個体を選抜、窒素肥料を含む培養土に移植して生育が回復するものを、共生変異体の候補とした。再生個体由来の共生変異体 15 系統 (Nod⁻ 2 遺伝子座 6 系統、Hist⁻ 1 遺伝子座 4 系統、Fix⁻ 4 遺伝子座 5 系統) (表 1、および、重イオンビーム照射植物由来の共生変異体候補 44 系統 (Nod⁻ 18 系統、Hist⁻ 3 系統、Fix⁻ 26 系統、Nod⁺⁺ 7 系統) が選抜された。さらに、川口グループによって EMS 処理植物から単離された Fix⁻ 変異体を解析し、4 系統が既知の変異体 *sst1* と *sen1* のアレルであることを明らかにするとともに、新たに少根粒変異体 *Ljsym88* と Fix⁻ 変異体 *Ljsym89* を単離した。

Gifu と Miyakojima の組み合わせでマッピング集団を作成し、連鎖地図上への位置づけを行った。再生個体由来系統 15 系統、重イオンビーム照射系統 14 系統、EMS 処理変異系統 6 系統を連鎖地図上に位置づけたところ、13 遺伝子座の新規の Hist⁻、Fix⁻ 変異体が見いだされた (図 12)。

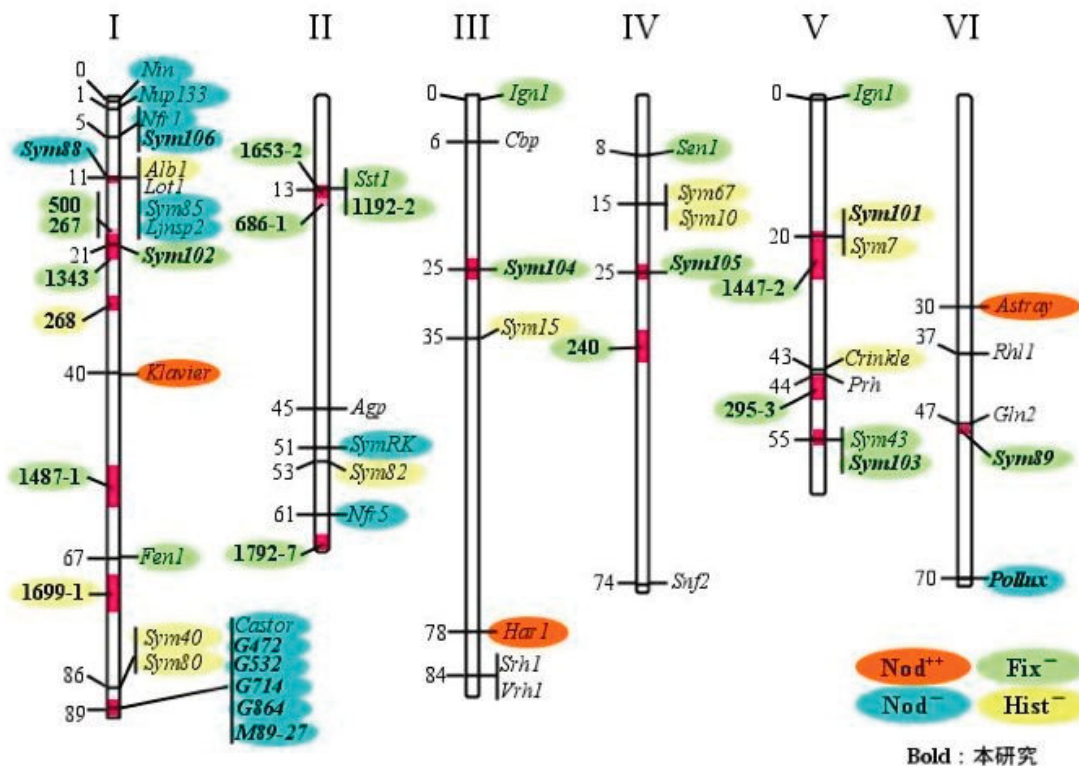


図12 ミヤコグサ共生変異体の連鎖地図への位置づけ

② 感染過程と器官分化変異体 Hist⁻

これまで知見がほとんど得られていない根粒菌が植物体内に侵入してから共生器官を形成するまでの植物側の遺伝子を明らかにするため、梅原グループと林グループは、それぞれ根粒菌の感染過程と器官分化に異常のある Hist⁻ 変異体 *Ljsym101*, *alb1* の解析を行った。

Ljsym101 は根粒形成が bump の段階で阻害される変異体である (図 14)。lacZ 標識菌による感染観察や光学顕微鏡による切片の観察により、*Ljsym101* は根毛の表面あるいは途中で感染糸形成が阻害され、根粒形成が組織の未分化な bump の状態で停止することが明らかとなり、本変異体は

根粒菌感染の比較的早い段階に位置づけられることが示された(図15)。その原因遺伝子を単離、同定したところ、U-boxとWD40ドメインをもつE3型ユビキチンリガーゼをコードすると推定されることが明らかとなった。遺伝子発現は、非感染根、感染根で見られ、根粒形成により転写産物の量も増大していた。これらの結果から、マメ科植物への根粒菌の感染と根粒の器官分化にユビキチンを介した蛋白分解系が関与している可能性が示唆された。

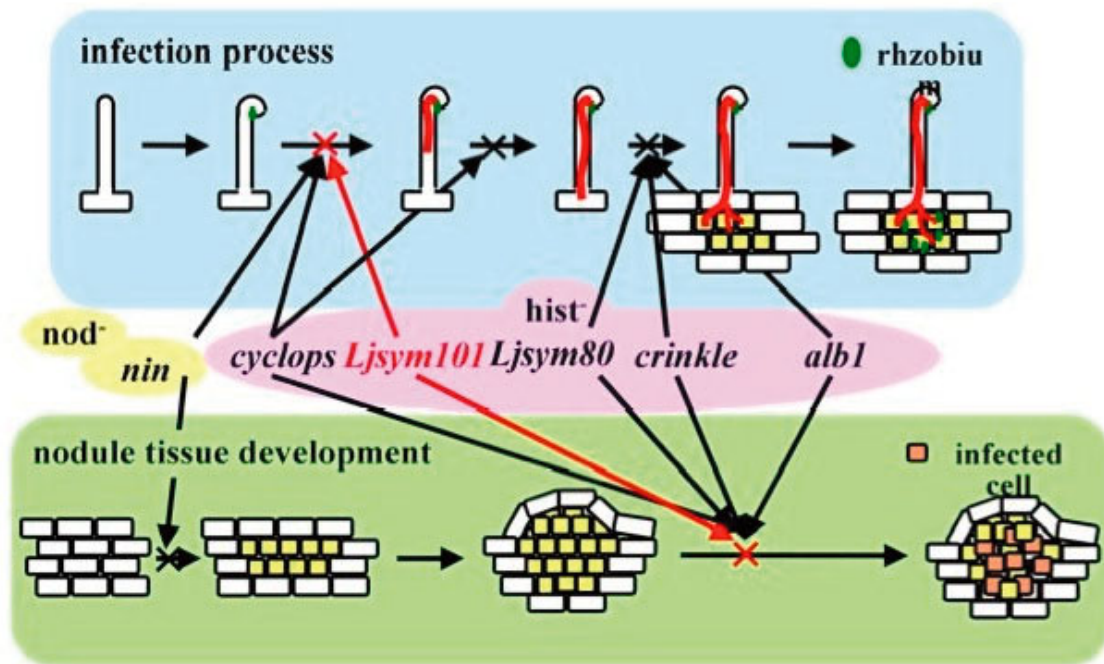


図13 ミヤコグサ Hist-変異体と作用点

Ljsym101 変異体は感染過程と根粒器官形成の比較的早い段階に関与している。

もう1つのHist-変異体である *alb1* は根粒菌感染のみに影響を及ぼしていた。この変異体では感染糸形成が表皮細胞でブロックされ、皮層での感染糸は誘導されないために根粒形成が不完全であった。遺伝子同定の結果、*ALB1* は典型的な LRR 型レセプター様キナーゼをコードしていることが判明した。菌根菌や根粒菌の感染プロセスに必要な LRR レセプターキナーゼは他に SYMRK が知られており、これらのリガンドの同定が進めば共生における複雑な相互認識が理解できると期待される。

③ 窒素固定変異体 Fix-

梅原グループは、根粒は形成されるが窒素固定活性発現に異常を生ずる Fix-変異体 *Ljsym89* 及び *Ljsym105* の表現型の解析および原因遺伝子の単離同定を行った。

Ljsym89 は EMS で変異処理を行った Gifu 由来で、ミヤコグサ根粒菌を感染させると根粒は形成するが、窒素欠乏症状を呈する変異体である。接種後 14 日目の根粒の光学顕微鏡、電子顕微鏡による観察の結果、シンビオゾームの肥大、感染細胞の崩壊など、早期老化の兆候とともに、バクテロイドの異常や細胞間隙への何らかの物質の沈着など、本変異体に特徴的な変化が認められた。原因遺伝子候補を特定したところ、 Na^+H^+ antiporter をコードしていると推定された。非感染根やシュートでも発現が見られたが、根粒形成とともに発現の増大が検出された。このことは、共生窒素固定系成立において、pH 調節あるいは K^+ 等の 1価カチオンの濃度調節が重要な役割を果たしていることを示唆している。

Fix-変異体 *Ljsym105* は、比較的高い単位重量当たりの窒素固定活性を有するが、根粒が肥大せず、早期に老化、崩壊する変異体であることが明らかとされた。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究の結果、多数のミヤコグサ共生変異体が単離された。特に、根粒菌が植物体内に侵入する過程あるいは根粒の器官形成に異常を来す Hist-、及び、根粒は形成されるが窒素固定活性に異常が見られる Fix-変異体で新規の変異体が単離されたことから、今回用いた方法が新たな変異体を作成する上で有効であったことが示された。単離された変異体は解析の進んでいない共生窒素固定系成立過程後期に関わる植物側の遺伝子の同定とその機能解析を行う上で、有用な研究資源となると期待される。

本研究により2種類の共生変異体の原因遺伝子が同定された。*LjSym101* は、これまでほとんど報告のなかった宿主に対する根粒菌の感染過程と根粒の器官形成に関与する遺伝子であり、*LjSym89* は共生窒素固定活性発現に必須の因子である。ともに、これまで根粒菌と宿主マメ科植物間の相互作用に関わると報告されたことはなく、その分子機構の研究に新たな視点を提供すると期待される。今後は、遺伝子産物の発現、局在解析、相互作用因子の探索、変異体表現型のより詳細な解析等を行い、その機能を明らかにする必要がある。

根粒菌とマメ科植物の共生窒素固定系は、多くの因子に関わるきわめて複雑な相互作用に基づいており、その有効利用のためには分子機構の解明が必要である。本研究による新規共生変異体という研究資源を利用し、それを用いて植物側の遺伝子の構造と機能を明らかにすることにより、共生窒素固定系成立過程の分子機構解明に向けて道が開けると考えられる。

3. 5 遠距離シグナル伝達を介した根粒・菌根共生系の解明

(1) 研究実施内容及び成果

マメ科植物における根粒形成は、古くから遠距離シグナル伝達によって全身的に制御されていることが知られており、それは根粒菌の感染を受けて根からシュートに輸送される「Root-derived Autoregulation (AUT) Signal」と、シュートから根に輸送され、過剰な根粒の形成を抑制する「Shoot-derived AUT Signal」により構成されている(図)。本プロジェクトに先だち、川口グループはこの根粒形成の全身制御が破綻したミヤコグサ根粒過剰着生変異体 *har1* (*Ljsym78*)を単離し、接ぎ木実験より HAR1 はシュートで機能すること、またその原因遺伝子はロイシンリッチリピートをもつ受容体型キナーゼをコードすることを明らかにしていた。興味深いことに、*har1*変異体では菌根菌の感染率も上昇していることから、根粒形成の全身制御は菌根形成の抑制にも働いていること、さらに HAR1 はシロイヌナズナの茎頂・花芽分裂組織を制御する *CLAVATA1* (*CLV1*)と最も高い相同性をもつことから、HAR1 が受容する共生リガンド「Root-derived Autoregulation (AUT) Signal」は、CLV3 様ペプチド (CLE ペプチド)である可能性が指摘されていた。そこで解読の進むミヤコグサ

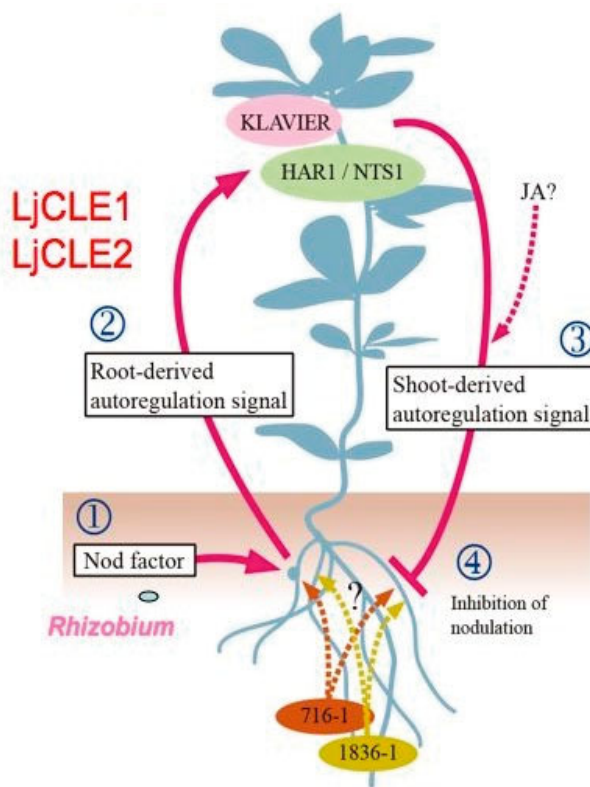


図14 根粒形成のオートレギュレーションモデル

のゲノム情報から33種の CLE ペプチドを検出し、それらすべてにおける発現解析と毛状根系を用いた過剰発現実験から、共生をシステミックに抑制する CLE 遺伝子(*LjCLE1*, *LjCLE2*)を初めて同定することに成功した。

また、イオンビーム照射によって単離された *klavier* (*klv*)新規根粒過剰着生変異体は、接ぎ木実験により *har1* 変異体と同様にシュートで機能することがわかり、ポジショナルクローニングと相補性実験により、原因遺伝子を同定することに成功した。*KLV*は、細胞外に 22 個の LRR とアイランド領域を持つ受容体型キナーゼをコードしていたが、シロイヌナズナオルソログと思われる *RPK2/TOAD2* の機能欠損変異体の表現型とはかなり異なり、マメ独自の遺伝子機能転換が共生進化のプロセスで生じた可能性が示唆された。

(2) 研究成果の今後期待される効果

遠距離シグナル伝達を介した根粒形成の全身制御に関しては、これまで地上部で機能する *HAR1* 受容体型キナーゼしかわかっていなかったが、ミヤコグサのゲノム情報と発現及び機能解析から根からシュートへ輸送されるオートレギュレーションシグナルの有力候補 *LjCLE1*, *LjCLE2* を見つけることに成功した。これらは CLE ドメインをもつ短いペプチドをコードしていたが、この遠距離移行が証明されれば、植物ではじめての遠距離シグナルとして働く CLE ペプチドの発見ということになる。さらに *KLV*は *HAR1*に続いてマメにおいて独自の機能を有していたことから、今後ますますミヤコグサを用いた遺伝子機能解析は重要である。また、*LjCLE1*, *LjCLE2* が *KLV* や *HAR1* とどのように関わるか、さらには、菌根共生系や病原抵抗性とどのように関わるかを明らかにすることも今後の主要課題である。

4 研究参加者

① 川口グループ(菌根・根粒形成と共生の全身制御機構の解明)

| 氏名 | 所属 | 役職 | 研究項目 | 参加時期 |
|--------|--------------|----------------------------|--|--|
| 川口正代司 | 新潟大学理学部 | 助教授 | <i>klavia</i> のマッピングとクローニング | 平成 14 年 11 月 ～平成 15 年 7 月 |
| | 東京大学大学院理学研究科 | 准教授 | | 平成 15 年 8 月 ～平成 20 年 3 月 |
| 呉 国江 | 新潟大学理学部 | CREST 研究員 | <i>HAR1</i> レセプター-キナーゼのリガンドの探索 | 平成 15 年 4 月 ～平成 15 年 7 月 |
| | 東京大学大学院理学研究科 | 同上 | | 平成 15 年 8 月 ～平成 16 年 3 月 |
| 岩城 千枝 | 東京大学大学院理学研究科 | 研究補助員 | チーム内事務全般 | 平成 15 年 8 月 ～平成 20 年 3 月 |
| 中川 知己 | 同上 | 科学技術振興特任研究員 学振特別研究員(PD) | <i>HAR1</i> レセプターと <i>LjCLV2</i> との相互作用の解析 | 平成 15 年 8 月 ～平成 17 年 3 月 平成 17 年 4 月 ～平成 18 年 3 月 |
| 福原 いずみ | 同上 | 科学技術振興特任研究員 CREST 研究員 | 共生変異体の単離と表現型解析 | 平成 15 年 10 月 ～平成 16 年 3 月 平成 16 年 4 月 |

| | | | | |
|--------------|----|---|----------------------------|---|
| | | 補助員 | | ～平成18年3月 |
| 佐藤 直人 | 同上 | 科学技術振興特任研究員 | LjCLV2の機能解析 | 平成16年1月～平成17年12月 |
| 齋藤 勝晴 | 同上 | CREST 研究員 | 共生を制御する因子の分子遺伝学的解析 | 平成16年4月～平成18年6月 |
| 吉良(岡)恵利佳 | 同上 | CREST 研究員 科学技術振興特任研究員 学術研究支援員 産学官連携研究員 | <i>klavia</i> の表現型解析 | 平成16年4月～平成17年3月 平成17年4月～平成18年3月 平成18年4月～平成19年9月 平成19年10月～平成20年3月 |
| 村上 泰弘 | 同上 | 学術研究支援員 科学技術振興特任研究員 | LjNSP2の機能解析 | 平成18年4月～平成19年9月 平成19年10月～平成20年3月 |
| 福井 理恵 | 同上 | 研究補助員 技術輔佐員 | ミヤコグサの形質転換 | 平成18年10月～平成19年10月 平成19年11月～平成20年3月 |
| 横山 博 | 同上 | 学術研究支援員 | 共生シグナル伝達系の解析 | 平成19年4月～平成20年3月 |
| 清水 隆 | 同上 | 産学官連携研究員 | HAR1 レセプタードメインの精製 | 平成19年4月～平成19年9月 |
| 西井かなえ | 同上 | 産学官連携研究員 | <i>klavia</i> の茎頂解析 | 平成19年4月～平成20年6月 |
| 岡本 暁 | 同上 | 大学院生 D1～D3 | HAR1 リガンド探索 | 平成17年4月～平成20年3月 |
| 馬郡 慎平 | 同上 | 大学院生 D1～D2 | 根制御の根粒過剰着生変異体の解析 | 平成18年4月～平成20年3月 |
| 宮澤 日子太 同上 | 同上 | 技術補佐員 大学院生 M1～D1 | <i>klavia</i> 変異体の原因遺伝子の同定 | 平成16年4月～平成17年3月 平成17年4月～平成20年3月 |
| 神 義伸 | 同上 | 大学院生 M1～M2 | 根粒過剰着生変異体の解析 | 平成17年4月～平成19年3月 |
| 富澤 紗織 | 同上 | 大学院生 M1～M2 | HAR1 の機能ドメインに関する研究 | 平成17年4月～平成19年3月 |
| 東 久仁子 | 同上 | 大学院生 M1～M2 | イオンビーム照射のゲノム欠失評価 | 平成17年4月～平成19年3月 |
| 吉田 千枝 | 同上 | 大学院生 M1～D1 | 菌根共生の分子遺伝学的解析 | 平成17年4月～平成19年3月 |

| | | | | |
|--------|----|---------------|----------------|-----------------------------|
| 内田 久記 | 同上 | 大学院生 M1～M2 | ランにおける共生遺伝子の探索 | 平成 18 年 4 月 ～平成 20 年 3 月 |
| 大西 恵梨香 | 同上 | 大学院生 M1～M2 | LjNSP1 の機能解析 | 平成 18 年 4 月 ～平成 20 年 3 月 |

②秋山グループ (Branching factor の精製と同定, Myc factor の精製と同定)

| 氏名 | 所属 | 役職 | 研究項目 | 参加時期 |
|-------|------------------------|-----|--|------------------------------|
| 秋山 康紀 | 大阪府立大学 大学院生命環境科学研究科 | 准教授 | Branching factor の精製と同定 Myc factor の精製と同定 | 平成 14 年 11 月 ～平成 20 年 3 月 |
| 松崎 謙一 | 同上 | M2 | Branching factor の精製と同定 | 平成 14 年 11 月 ～平成 17 年 3 月 |
| 岩下 麻実 | 同上 | B4 | Myc factor の精製と同定 | 平成 15 年 4 月 ～平成 16 年 3 月 |
| 八田 淳司 | 同上 | M2 | Myc factor の精製と同定 | 平成 16 年 4 月 ～平成 19 年 3 月 |
| 柏原 孝紀 | 同上 | M2 | Branching factor の精製と同定 | 平成 17 年 4 月 ～平成 19 年 3 月 |

③林グループ (根粒共生に関与する遺伝子の同定と解析)

| 氏名 | 所属 | 役職 | 研究項目 | 参加時期 |
|---------|---------------------------------------|--------------------------|--|--|
| 林 誠 | 大阪大学大学院工学研究科 ミュンヘン大学生物学部 | 助手 | 研究の遂行ととりまとめ | 平成 14 年 11 月 ～平成 18 年 1 月 15 日 |
| | | 教授 | | 平成 18 年 1 月 16 日 ～平成 20 年 3 月 (予定) |
| カゼンコ マイ | 大阪大学大学院工学研究科 | 大学院生 博士課程 | 感染糸形成変異体 <i>crinkle</i> の機能解析 | 平成 14 年 11 月 ～平成 16 年 3 月 |
| 武田 直也 | 同上 | 大学院生 博士課程 | Nod- 変異体 <i>castor</i> と <i>pollux</i> の分子遺伝学的解析 | 平成 14 年 11 月 ～平成 17 年 3 月 (同年 4 月 Parniske グループへ所属変更) |
| 前川 隆紀 | 大阪大学大学院工学研究科 同上 ミュンヘン大学生物学部 | 大学院生 博士課程 CRES 研究員 | 感染糸形成の生理学・分子遺伝学的解析 | 平成 14 年 11 月 ～平成 17 年 3 月 平成 17 年 4 月 ～平成 18 年 1 月 15 日 |
| | | 研究員 | | 平成 18 年 1 月 16 日 ～平成 20 年 3 月 (予定) |

| | | | | |
|-------|-----------------------------|-----------------|---|---|
| 矢野 幸司 | 大阪大学大学院工学研究科 ミュンヘン大学生物学部 | 大学院生博士課程 研究員 | 感染系形成変異体 <i>cyclops</i> と <i>alb1</i> の分子遺伝学的解析 | 平成14年11月～平成18年3月 平成18年4月～平成19年3月 |
| 吉川 真琴 | 大阪大学大学院工学研究科 ミュンヘン大学生物学部 | 大学院生博士課程 研究員 | Nod-変異体のラフマッピングと表現型解析 | 平成14年11月～平成18年3月 平成19年4月～平成20年3月(予定) |

④梅原グループ(共生変異体の単離と原因遺伝子のポジショナルクローニング)

| 氏名 | 所属 | 役職 | 研究項目 | 参加時期 |
|-----------------------|---------------------|-----------|------------------|------------------|
| 河内 宏 | 農業生物資源研究所窒素固定研究グループ | 上級研究員 | 共生変異体の表現型解析 | 平成14年11月～平成20年3月 |
| 梅原 洋佐 | 同上 | 主任研究員 | 共生変異体の遺伝解析とマッピング | 平成14年11月～平成20年3月 |
| 今泉(安楽)温子 | 同上 | 研究員 | 共生関連遺伝子の機能解析 | 平成17年4月～平成20年3月 |
| Md. Shakhawat Hossain | 同上 | CREST 研究員 | 共生変異体の遺伝解析とマッピング | 平成15年4月～平成19年7月 |
| 熊谷 幸子 | 同上 | 研究補助員 | 共生変異体の遺伝解析とマッピング | 平成15年4月～平成17年1月 |
| 小林恵美子 | 同上 | 研究補助員 | 共生変異体の遺伝解析とマッピング | 平成17年4月～平成18年3月 |

⑤大友グループ(菌根特異的共生変異体の単離及び変異体の菌根共生に関する表現型解析)

| 氏名 | 所属 | 役職 | 研究項目 | 参加時期 |
|--------|------------------------------------|----------------------|---|-----------------|
| 大友 量 | 草地多面的機能研究チーム(平成18年度まで草地生態部土壤生態研究室) | 主任研究員(平成18年度まで主任研究官) | 菌根共生に異常を来したミヤコグサ変異株の単離 および 共生成立過程で特異的に修飾されるタンパク質の探索 | 平成15年4月～平成20年3月 |
| 小島 知子 | 同上 | 同上 | 菌根共生変異体の表現型解析 および 菌根共生に異常を来したミヤコグサ変異株の単離 | 平成15年4月～平成20年3月 |
| 安藤 象太郎 | 草地生態部土壤生態研究室 | 室長 | 菌根共生に異常を来したミヤコグサ変異株の単離 | 平成15年4月～平成18年3月 |

| | | | | |
|-------|--|-------|------|----------------------|
| 櫻井 千夏 | 同上 | 研究補助員 | 研究補助 | 平成17年4月 ～平成17年11月 |
| 上岡 千科 | 草地多面的機能研究チーム (平成18年度まで草地生態部 土壌生態研究室) | 研究補助員 | 研究補助 | 平成18年1月 ～平成20年3月 |
| 飯田 由美 | 草地多面的機能研究チーム | 研究補助員 | 研究補助 | 平成19年4月 ～平成20年3月 |

⑥Parniske グループ (CYCLOPS の機能解析)

| 氏名 | 所属 | 役職 | 研究項目 | 参加時期 |
|-----------------|-----------------|------|-----------------------|---------------------|
| Martin Parniske | ミュンヘン大学 生物学部 | 教授 | 研究総括 | 平成17年4月 ～平成20年3月 |
| 武田 直也 | 同上 | ポスドク | DNA 結合能の解析 | 平成17年4月 ～平成20年3月 |
| Catharine White | 同上 | ポスドク | 大量発現系の構築、相互作用タンパク質の単離 | 平成19年4月 ～平成19年7月 |
| 吉田 聡子 | 同上 | 研究員 | 大量発現系の構築、相互作用タンパク質の単離 | 平成17年4月 ～平成18年8月 |

⑦斎藤グループ(菌根・根粒共生における NUP85 の機能解析)

| 氏名 | 所属 | 役職 | 研究項目 | 参加時期 |
|-------|---------|-----|-----------|---------------------|
| 斎藤 勝晴 | 信州大学農学部 | 准教授 | nup85 の解析 | 平成18年8月 ～平成20年3月 |

⑧畑グループ (ダイズ菌根誘導型リン酸トランスポーター遺伝子の探索)

| 氏名 | 所属 | 役職 | 研究項目 | 参加時期 |
|------|------------------|-----|---------------------------|----------------------|
| 畑 信吾 | 京都大学大学院生命科学研究科 | 准教授 | ダイズ菌根誘導型リン酸トランスポーター遺伝子の探索 | 平成19年4月 ～平成19年10月 |
| | 名古屋大学大学院生命農学研究科) | 教授 | | 平成19年11月 ～平成20年3月 |

5 招聘した研究者等

該当なし

6 成果発表等

(1) 原著論文発表 (国内誌 0 件、国際誌 36 件)

2003 年

Suganuma N, Nakamura Y, Yamamoto M, Ohta T, Koiwa H, Akao S, Kawaguchi M.

The *Lotus japonicus SenI* gene controls rhizobial differentiation into nitrogen-fixing bacteroids in nodules. ***Molecular Genetics Genomics*** 269, 312–320 (2003)

Hayashi M, Aoki T, Isobe S, Harada K, Kouchi H, Minamisawa K, Saeki K, Sato S, Tabata S and Kawaguchi M.

A Domestic Weed goes Worldwide: Recent Progress on *Lotus* Research in Japan.

Plant Physiology (Legume issue) 131, 840–842 (2003)

Tansengco ML, Hayashi M, Kawaguchi M, Imaizumi-Anraku H, Murooka Y.

crinkle, a novel symbiotic mutant that affects the infection thread growth and alters the root hair, trichome, and seed development in *Lotus japonicus*.

Plant Physiology 131,1054–1063 (2003)

2004 年

Suganuma N, Yamamoto A, Itou A, Hakoyama T, Banba M, Hata S, Kawaguchi M, Kouchi H.

cDNA macroarray analysis of gene expression in ineffective nodules induced on the *Lotus japonicus senI* mutant. ***Molecular Plant-Microbe Interactions*** 17, 1223–1233 (2004)

Kouchi H, Shimomura K, Hata S, Hirota A, Wu G-J, Kumagai H, Tajima S, Suganuma N, Suzuki A, Aoki T, Hayashi M, Yokoyama T, Ohyama T, Asamizu E, Kuwata C, Shibata D, Tabata S.

Large-scale analysis of gene expression profiles during early stages of root nodule formation in a model legume, *Lotus japonicus*. ***DNA Res.*** 11, 243–256 (2004)

Tansengco ML, Imaizumi-Anraku H, Yoshikawa M, Takagi S, Kawaguchi M, Hayashi M, Murooka Y

Pollen development and tube growth are affected in the symbiotic mutant of *Lotus japonicus*, *crinkle*. ***Plant Cell Physiology*** 45, 511–520 (2004)

2005 年

Oka-Kira E, Tateno K, Miura K, Haga T, Hayashi M, Harada K, Sato S, Tabata S, Shikazono N, Tanaka A, Watanabe Y, Fukuhara I, Nagata T and Kawaguchi M.

klavier (*klv*), a novel hypernodulation mutant of *Lotus japonicus* affected in leaf vein and floral induction. ***The Plant Journal*** 44, 505–515 (2005)

Krusell L, Krause K, Ott T, Desbrosses G, Kraemer U, Sato S, Nakamura Y, Tabata S, James EK, Sandal N, Stougaard J, Kawaguchi M, Miyamoto A, Suganuma N, Udvardi MK.

The sulfate transporter SST1 is crucial for symbiotic nitrogen fixation in *Lotus japonicus* root nodules. ***The Plant Cell*** 17, 1625–1636 (2005)

Akiyama K, Matsuzaki K, and Hayashi H. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. ***Nature*** 435, 824–827 (2005)

Takeda N, Okamoto S, Hayashi M, Murooka Y.

Expression of *LjENOD40* genes in response to symbiotic and non-symbiotic signals: *LjENOD40-1*

and *LjENOD40-2* are differentially regulated in *Lotus japonicus*
Plant Cell Physiology 46, 1291–1298 (2005)

Ooki Y, Banba M, Yano K, Maruya J, Sato S, Tabata S, Saeki K, Hayashi M, Kawaguchi M, Izui K, Hata S. Characterization of a *Lotus japonicus* symbiotic mutant, *lot1*, that shows a reduced nodule number and distorted trichomes. **Plant Physiology** 137, 1261–1271 (2005)

Kawaguchi M, Pedrosa-Harand A, Yano K, Hayashi M, Murooka Y, Saito K, Nagata T, Namai K, Nishida H, Shibata D, Sato S, Tabata S, Hayashi M, Harada K, Sandal N, Stougaard J, Bachmair A, Grant WF. *Lotus burttii* takes a position of the third corner in the Lotus molecular genetics triangle
DNA Res. 12, 69–77 (2005)

Imaizumi-Anraku H, Takeda N, Charpentier M, Perry J, Miwa H, Umehara Y, Kouchi H, Murakami Y, Mulder L, Vickers K, Pike J, Downie JA, Wang T, Sato S, Asamizu E, Tabata S, Yoshikawa M, Murooka Y, Wu G-J, Kawaguchi M, Kawasaki S, Parniske M, Hayashi M.
Plastid proteins crucial for symbiotic fungal and bacterial entry into plant roots.
Nature 433, 527–531 (2005)

Maekawa T, Hayashi M, Murooka Y.
Root hair abundant genes LjRH101 and LjRH102 encode peroxidase and xyloglucan endglycosylase in *Lotus japonicus* **J. Biosci. Bioeng.** 99, 84–86 (2005).

Udvardi MK, Tabata S, Parniske M, Stougaard J.
Lotus japonicus: legume research in the fast lane. **Trends in Plant Science** 10, 222–228 (2005)

Parniske, M.
Plant–fungal associations: cue for the branching connection. **Nature** 435, 750–751 (2005)

Kistner C, Winzer T, Pitzschke A, Mulder L, Sato S, Kaneko T, Tabata S, Sandal N, Stougaard J, Webb KJ, Szczyglowski K, Parniske M.
Seven *Lotus japonicus* genes required for transcriptional reprogramming of the root during fungal and bacterial symbiosis. **The Plant Cell** 17, 2217–2229 (2005)

2006 年

Murakami Y, Miwa H, Imaizumi-Anraku H, Kouchi H, Downie JA, Kawaguchi M, Kawasaki S.
Positional cloning identifies *Lotus japonicus* *NSP2*, A putative transcription factor of the GRAS family, required for *NIN* and *ENOD40* gene expression in nodule initiation.
DNA Research 13, 255–265 (2006)

Nakagawa T and Kawaguchi M. Shoot-applied MeJA suppresses root nodulation in *Lotus japonicus*.
Plant Cell Physiology 47, 176–180 (2006)

Oka-Kira E and Kawaguchi M. Long-distance signaling to control root nodule number.
Current Opinion in Plant Biology 9, 496–502 (2006)

Akiyama K and Hayashi H. Strigolactones: Chemical Signals for Fungal Symbionts and Parasitic weeds in Plant Roots. **Annals of Botany** 97, 925–931 (2006)

Lombardo F, Heckmann AB, Miwa H, Perry JA, Yano K, Hayashi M, Parniske M, Wang TL, Downie

JA. Identification of symbiotically defective mutants of *Lotus japonicus* affected in infection thread growth. ***Molecular Plant–Microbe Interactions*** 19, 1444–1450 (2006)

Yano K, Tansengco ML, Hio T, Higashi K, Murooka Y, Imaizumi–Anraku H, Kawaguchi M, Hayashi M.

New nodulation mutants responsible for infection thread development in *Lotus japonicus*.

Molecular Plant–Microbe Interactions 19, 801–810 (2006)

Sandal N, Petersen TR, Murray J, Umehara Y, Karas B, Yano K, Kumagai H, Yoshikawa M, Saito K, Hayashi M, Murakami Y, Wang X, Hakoyama T, Imaizumi–Anraku H, Sato S, Kato T, Chen W, Hossain MdS, Shibata S, Wang TL, Yokota K, Larsen K, Kanamori N, Madsen E, Radutoiu S, Madsen LH, Radu TG, Krusell L, Ooki Y, Banba M, Betti M, Rispaill N, Skøt L, Tuck E, Perry J, Yoshida S, Vickers K, Pike J, Mulder L, Charpentier M, Müller J, Ohtomo R, Kojima T, Ando S, Marquez AJ, Gresshoff PM, Harada K, Webb J, Hata S, Sukanuma N, Kouchi H, Kawasaki S, Tabata S, Hayashi M, Parniske M, Szczyglowski K, Kawaguchi M, Stougaard J

Genetics of symbiosis in *Lotus japonicus*: Recombinant inbred lines, comparative genetic maps and map position of 35 symbiotic loci

Molecular Plant–Microbe Interactions 19, 80–91 (2006)

Hossain Md. S, Umehara Y, Kouchi H.

A Novel Fix⁻ Symbiotic Mutant of *Lotus japonicus*, *Ljsym105*, Shows Impaired Development and Premature Deterioration of Nodule Infected Cells and Symbiosomes.

Molecular Plant–Microbe Interactions 19, 780–788 (2006)

Brachmann A, and Parniske M.

The Most Widespread Symbiosis on Earth. ***PLoS Biology*** 4,1111–1112 (2006)

Mellersh D, and Parniske M.

Common symbiosis genes of *Lotus japonicus* are not required for intracellular accommodation of the rust fungus *Uromyces loti*. ***New Phytologist*** 170,641–4(2006)

Siemens J, Keller I, Sarx J, Kunz S, Schuller A, Nagel W, Schmulling T, Parniske M, and Ludwig–Muller J. Transcriptome analysis of Arabidopsis clubroots indicate a key role for cytokinins in disease development. ***Molecular Plant–Microbe Interactions*** 19, 480–94 (2006)

Tirichine L, Imaizumi–Anraku H, Yoshida S, Murakami Y, Madsen L, Miwa H, Nakagawa T, Sandal N, Albrechtsen A, Kawaguchi M, Downie A, Sato S, Tabata S, Kouchi H, Parniske M, Kawasaki S, and Stougaard J. Deregulation of a Ca²⁺/calmodulin –dependent kinase leads to spontaneous nodule development. ***Nature*** 441,1153–6 (2006)

2007 年

Takeda N, Kistner C, Kosuta S, Winzer T, Pitzschke A, Groth M, Sato S, Kaneko T, Tabata S, Parniske M. Proteases in plant root symbiosis. ***Phytochemistry*** 68,111–121 (2007)

Saito K, Yoshikawa M, Yano K, Miwa H, Uchida H, Asamizu E, S. Sato S, Tabata S, Imaizumi–Anraku H, Umehara Y, Kochi H, Murooka Y, Szczyglowski K, Downie J. A, Parniske M, Hayashi M, and Kawaguchi M. NUCLEOPORIN85 is required for calcium spiking, fungal and bacterial symbioses and seed production in *Lotus japonicus*. ***The Plant Cell*** 19, 610–624 (2007)

Akiyama K. Chemical Identification and Functional Analysis of Apocarotenoids Involved in the Development of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis, *Biosci. Biotech. Biochem.* 71, 1405-1414 (2007)

Deguchi Y, Banba M, Shimoda Y, Chechetka SA, Suzuri R, Okusako Y, Ooki Y, Toyokura K, Suzuki A, Uchiumi T, Higashi S, Abe M, Kouchi H, Izui H, Hata S. "Transcriptome profiling of *Lotus japonicus* roots during arbuscular mycorrhiza development and comparison with that of nodulation." *DNA Research* 14,117-133 (2007)

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

川口正代司:

マメ科植物における共生と器官形成の全身的制御システム 蛋白質核酸酵素 vol. 48, 1808-1815 (2003) 共立出版

秋山 康紀, 林 英雄:

植物とアーバスキュラー菌根菌との共生を制御する植物化学因子, *化学と生物*, 41(9), 591-597 (2003)

Harada K, Hayashi M, Sato S, Hayashi M

Genetic linkage map of the model legume *Lotus japonicus*

In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 52, pp. 167-182,

Nagata, Tabata eds., 'Brassicas and Legumes' Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (2003)

中川 知己,川口正代司,河内 宏:

根粒共生系を制御する宿主因子 - Nod ファクターシグナリングを中心に - 秀潤社 細胞工学別冊 植物細胞工学シリーズ 19 分子レベルからみた植物の耐病性 31-42 (2004)

中川 知己, 河内 宏, 川口正代司:

「根粒共生系を制御する宿主因子」植物細胞工学シリーズ19号「新版分子レベルからみた植物の耐病性」、島本 功, 渡辺 雄一郎, 柘植 尚志 監修 秀潤社, p32-41 (2004)

川口正代司:

「目でみるミヤコグサの形態学」「マップペースクローニング」植物細胞工学シリーズ21「改訂3版モデル植物の実験プロトコール」、島本 功, 岡田 清孝, 田畑 哲之 監修、秀潤社, p16-17 (2005)

川口正代司, 林 正紀, 原田久也 :

「目でみるミヤコグサの形態学」「マップペースクローニング」植物細胞工学シリーズ21「改訂3版モデル植物の実験プロトコール」、島本 功, 岡田 清孝, 田畑 哲之 監修、秀潤社, p121-127 (2005)

Hayashi M, Tansengco ML, Suganuma N, Szczyglowski K, Krussel L, Otto T, Udvardi M

Methods for studying nodule development and function

In: *Lotus japonicus Handbook*, pp. 53-82, Márquez AJ, ed.

Springer, Dordrecht (2005)

林 誠:

「共生のしくみ:植物と土壤微生物の遺伝子ネットワーク」
生命誌年刊号「語る科学」pp. 131-137, JT 生命誌研究館, (2005)

林 誠:
「ミヤコグサにおける遺伝子のマッピング」
細胞工学別冊植物工学シリーズ21「改訂3版モデル植物の実験プロトコール」pp. 77-83,
秀潤社,(2005)

川口正代司:
「早咲きミヤコグサを求めて」 遺伝 vol. 60, 73-76 (2006)

川口正代司:
「ミヤコグサで解き明かす菌根・根粒共生系の分子基盤 特集にあたって」
vol.51, 1015-1021 (2006)

秋山康紀, 林 英雄:
アーバスキュラー菌根菌の宿主認識シグナル物質の解明 根寄生雑草の種子発芽刺激物質ストリ
ゴラクトンが菌糸分岐を誘導. *化学と生物*, 44 (5), 284-286 (2006)

林 英雄, 秋山康紀:
土壤真菌と植物との共生 アーバスキュラー菌根菌の宿主植物認識戦略. *バイオサイエンスとイン
ダストリー*, 64 (6), 328-329 (2006)

秋山康紀, 林 英雄:
アーバスキュラー菌根共生におけるシグナル物質. *蛋白質 核酸 酵素*, 51 (9), 1024-1029 (2006)

秋山康紀, 林 英雄:
アーバスキュラー菌根共生における宿主認識シグナル物質ストリゴラクトン. *植物の生長調節*, 41
(2), 141-149 (2006)

林 誠, 今泉(安楽)温子, 川口正代司:
「共生シグナルの受容と共通シグナル伝達経路の分子遺伝学的解明」蛋白質核酸酵素 51 巻 9
号, pp. 1030-1037, 共立出版, (2006)

斎藤勝晴, 川口正代司:
菌根菌、根粒菌、線虫との相互作用. 甲斐昌一・森川弘道監修森川弘道監修「プラントミメティッ
クス~植物に学ぶ~」 p.531-535. エヌ・ティー・エス. 東京 p.720. (2006)

斎藤勝晴, 田島 賢:
アーバスキュラー菌根実験法(4)アーバスキュラー菌根菌の分離・増殖・接種法. *土と微生物*.
60(1), 71-73, (2006)

大場広輔, 斎藤勝晴, 藤吉正明:
アーバスキュラー菌根実験法(2)アーバスキュラー菌根の観察. *土と微生物*. 60(1), 57-61, (2006)

秋山康紀, 林 英雄:
アーバスキュラー菌根菌と植物との共生系における共生シグナル物質の同定とその利用, *生物工
学会誌*, 85 (5), 224-226 (2007)

斎藤勝晴, 久我ゆかり, 斎藤雅典:
アーバスキュラー菌根実験法(7)アーバスキュラー菌根菌の生体観察法. 土と微生物. 61(1),
79-82. (2007)

斎藤勝晴, 川口正代司:
アーバスキュラー菌根共生系から根粒共生系への進化. 「共進化による植物の進化」種生物学会.
(印刷中, 2007)

(3)学会発表

① 招待講演 (国内会議 38 件、国際会議 23 件)

2003 年

川口正代司(東大・院・理): HAR1/NTS1 を介した根粒形成の遠距離シグナリング 岩手大学植物科学シンポジウム「高等植物におけるシグナル伝達の現状と展望」(岩手)2003/11/22

川口正代司(東大・院・理): 遠距離シグナル伝達を介した共生と器官形成の全身的制御システム, 第6回 RIBS バイオサイエンスシンポジウム植物と病原体の相互作用 -感染戦略と防御戦略の分子メカニズム- (岡山)2003/10/31

川口正代司(東大・院・理): ミヤコグサの分子遺伝学からみた根粒菌研究の戦略
ワークショップ根粒菌のポストゲノム研究の展開 第1回 ゲノム情報に基づく根粒菌の共生機構の
解明と研究資源の構築 (仙台)2003/8/12

秋山康紀(阪府大・院・農): アーバスキュラー菌根菌と共生したミヤコグサ根における二次代謝産物の解析、第4回ミヤコグサワークショップ (大阪) 2003/1/14

2004 年

川口正代司(東大・院・理): 植物における菌類と根粒菌の共生を支える因子について,
生物生産工学研究センターシンポジウム (東京) 2004/12/9

Kawaguchi M(Univ.of Tokyo): “Activator” and “Inhibitor” leading to generation and stabilization of symbiotic organ development in legume. The 14th International Congress on Nitrogen Fixation. (北京,中国) 2004/11/1

Kawaguchi M(Univ. of Tokyo): Systemic regulation of symbiosis and organ development in legumes. NIAS-COE/PROBRAIN/TOKUTEI Joint International Symposium “Plant Immunity” Signaling to acquired resistance (筑波) 2004/3/4-5

林 誠(大阪大・院・工):
根における細胞内共生-菌根菌共生から根粒菌共生へ-
日本進化学会第6回大会 (東京) 2004/8/4-7

林 誠(大阪大・院・工):
共生的窒素固定研究の分子遺伝学モデル、ミヤコグサ
-基生研研究会- 新しいモデル生物が拓く生物科学フロンティア,(岡崎) 2004/3/1-2

Imaizumi-Anraku H (農業生物資源研究所), Takeda N, Kawasaki S, Parniske M and Hayashi M, "CASTOR and POLLUX, the twin genes act as gatekeepers that control ion fluxes leading to establishment of endosymbioses in *Lotus japonicus*" NIAS-COE/PROBRAIN/TOKUTEI Joint International Symposium "Plant Immunity - Signaling to Acquired Resistance", (筑波) 2004/3/4-5

Imaizumi-Anraku H (農業生物資源研究所), Takeda N, Parniske M, Hayashi M and Kawasaki S. CASTOR AND POLLUX, THE TWIN GENES THAT ARE RESPONSIBLE FOR ENDOSYMBIOSES IN *LOTUS JAPONICUS*. 14th International Congress on Nitrogen Fixation, (北京,中国) 2004/11/1

2005 年

川口正代司(東大・院・理): モデル植物を利用した植物学, 第 50 回記念生命科学セミナー, (筑波) 2005/11/25

川口正代司(東大・院・理): 新しい植物の世界 ~植物研究におけるシロイヌナズナ, イネ以外のモデル系~ ミヤコグサ (奈良) 2005/11/9

川口正代司(東大・院・理): ミヤコグサのゲノム・ポストゲノム研究, 第 44 回ガンマフィールドシンポジウム (水戸) 2005/7/13

川口正代司(東大・院・理): ミヤコグサの鳴り響く草原, 日本農芸化学会 2005 年度大会フロンティアシンポジウム (小樽) 2005/3/31

秋山康紀(阪府大・院・農): アーバスキュラー菌根菌-植物共生系における相互認識シグナル物質, 第 46 回日本植物生理学会年会シンポジウム 菌類とバクテリアの共生を支える common signaling pathway (新潟) 2005/3/24

秋山康紀(阪府大・院・生命環境): アーバスキュラー菌根菌-植物共生系における共生シグナル物質, 日本農芸化学会関西支部 支部例会ミニシンポジウム(第 440 回講演会)「人と環境を支える微生物」(大阪) 2005/7/2

秋山康紀(大阪府大・院・生命環境): アーバスキュラー菌根共生における宿主認識シグナル物質, 植物学会第 69 大会 (富山) 2005/9/21-23

秋山康紀(阪府大・院・生命環境): ミヤコグサからの共生・寄生シグナル物質ストリゴラクトンの単離と構造活性相関, NBRP ミヤコグサ・ダイズワークショップ (横浜) 2005/11/10-11

林 誠(大阪大・院・工): 根毛は根粒形成にどのような役割を果たしているのか? 日本植物学会近畿支部 2005 年度大会 (奈良) 2005/11/26

林 誠(大阪大・院・工): ミヤコグサのポストゲノムに向けた遺伝子機能解析ツールの整備状況についてミヤコグサ・ダイズワークショップ (横浜) 2005/11/10-11

林 誠(大阪大・院・工): ミヤコグサの初期根粒形成に関与する因子の解析, 日本植物学会第 69 回大会 (富山) 2005/9/20-23

林 誠(大阪大・院・工): 感染受容を支える遺伝子ネットワーク-Ca スパイクングを取り巻く宿主遺伝子群 日本植物学会第 69 回大会(富山) 2005/9/20-23

林 誠(大阪大・院・工): 植物共生遺伝子から見た細胞内共生の多様性と進化,
第7回日本進化学会東北大会 (仙台) 2005/8/26-29

林 誠(大阪大・院・工): 植物と土壤微生物の共生ー陸上の生物相を形作ってきたものー
生化学若い研究者の会第45回夏の学校 (京都) 2005/8/20

Makoto Hayashi(大阪大・院・工): ROOT HAIR: How does it curl?
First INTEGRAL Meeting, (Munich, Germany) 2005/4/22-24

今泉(安楽)温子(農業生物資源研究所),武田直也, Martin Parniske,林 誠, 川崎信二
共生成立に必須なカルシウムスパイクの起動と受容にかかわる遺伝子群,
第46回日本植物生理学会年会シンポジウム「菌類とバクテリアの共生を支える common signaling pathway」(新潟) 2005/3/

Martin Parniske (ミュンヘン大):
The Swiss Arbuscular Mycorrhiza Meeting at the ETH (Zürich, Eschikon) 2005/4/8

Martin Parniske (ミュンヘン大):
The Gordon conference on evolutionary and ecological functional genomics (EEFG), (イギリス)
2005/7/31-8/5

2006年

川口正代司 (東京大・院・理) : アーバスキュラー菌根菌と根粒菌の共生を支える植物制御因子,
第44回生存圏シンポジウム 生存圏開拓に向けた大気・植物・昆虫・土壌の相互作用の解析
(京都) 2006/6/10

川口正代司(東大・院・理): アーバスキュラー菌根共生系から根粒共生系への進化 根圏ネットワーク講演会(北海道) 2006/1/13

川口正代司 (東大・院・理): マメの分子遺伝解析におけるリソースの活用,NBRP シンポジウム
(東京)2006/3/9

川口正代司(東大・院・理): 植物と菌類の共生とその進化,小石川植物園第50回市民セミナー
(東京) 2006/3/11

川口正代司(東大・院・理): アーバスキュラー菌根菌と根粒菌の共生に必要な植物制御遺伝子,
ダイズ研究集会 (三島) 2006/3/16

Kohki Akiyama (Osaka Prefecture University) : Chemical identification of plant and fungal signalling molecules in the arbuscular mycorrhizal symbiosis、Monte Verità conference “Mycorrhiza: Systems Research from Genes to Communities”、Switzerland Monte Verità, (Ascona, Switzerland) 2006/3/4-3/9

秋山康紀(阪府大・院・生命環境): アーバスキュラー菌根共生におけるシグナル物質の解明,
第15回「根圏制御技術」ネットワーク講演会 (北海道) 2006/3/17

秋山康紀(阪府大・院・生命環境): アーバスキュラー菌根共生における共生制御物質に関する研究, 2006年度農芸化学会大会 (京都) 2006/3/25-28

Akiyama K (Osaka Prefecture University), Matsuzaki K, Hatta A, Kashihara T and Hayashi H. Chemical identification of signalling molecules in symbiotic interactions between plants and arbuscular mycorrhizal fungi, the 5th International Conference on Mycorrhiza (ICOM5) (グラナダ,スペイン) 2006/7/23-27

秋山康紀(阪府大・院・生命環境): 菌根菌-植物共生系における共生制御物質、21世紀COEプログラム『微生物共生系に基づく新しい資源利用開発』公開シンポジウム 地球と共に生きる微生物たち~その多様性と未来 (東京) 2006/9/1

秋山康紀(阪府大院・生命環境): アーバスキュラー菌根菌と植物との共生系における共生シグナル物質の同定とその利用, 平成18年度日本生物工学会シンポジウム(共生工学部会)シンビオーム: 共生的相互作用技術の開発(分子から環境まで) (大阪) 2006/9/13

秋山康紀(阪府大・院・生命環境): アーバスキュラー菌根共生における宿主認識シグナル物質の解明, 信州大学遺伝子実験部門講演会 (長野)2006/9/28

秋山康紀(阪府大・院・生命環境): アーバスキュラー菌根共生におけるシグナル物質、第一回インターゲノミクスセミナー 神戸大学農学部インターゲノミクス研究会 (兵庫) 2006/11/1

秋山康紀(阪府大・院・生命環境): アーバスキュラー菌根菌と植物との共生系におけるシグナル物質の解明, 奈良先端大学院大学バイオCOE学生企画セミナー(奈良) 2006/11/9

秋山康紀(阪府大・院・生命環境): アーバスキュラー菌根共生における共生制御物質に関する研究, 日本農芸化学会関西支部第447回講演会農芸化学奨励賞受賞講演 (兵庫) 2006/12/9

秋山康紀(阪府大・院・生命環境): アーバスキュラー菌根共生における共生シグナル物質の解明, 鹿児島大学大学院理工学研究科特別講義 (鹿児島) 2006/12/22

Makoto Hayashi(ミュンヘン大):
Symbiotic signaling pathway leading to the intracellular invasion of root nodule bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi
JSPS/NSF Joint Seminar “Genetic approach to elucidate molecular mechanism of symbiotic nitrogen fixation” (Tokyo, Japan) 2006/8/15-19

Makoto Hayashi(ミュンヘン大):
Involvement of plant hormones in infection thread development
INTEGRAL Mid-Term Meeting (Ravello, Italy) 2006/4/28-30

Umehara Y(農業生物資源研究所), Shibata S, Kumagai H, Hossain Md. S, Kouchi H
Fix- mutants derived from regenerated plants of Lotus japonicus. 7th European Nitrogen Fixation Conference (オーフス大, デンマーク) 2006/7/22-26

Banba M(農業生物資源研究所), Kouchi H, Imaizumi-Anraku H
Analysis of host genes governing rhizobial and mycorrhizal symbioses *JSPS/NSF Joint Seminar* (東京)2006/8/15-19

Umehara Y(農業生物資源研究所), Shibata S, Kumagai H, Hossain Md. S, Chen W, Kouchi H
Genetic mapping and characterization of Fix- mutants of Lotus japonicus. *JSPS/NSF*

Joint Seminar (東京)2006/8/15-19

Martin Parniske (ミュンヘン大):

Mycorrhiza: Systems research from Genes to Communities, (Ascona, Switzerland)2006/3/4-9

Catharina White (ミュンヘン大):

Legume signal transduction in root endosymbioses

The German and Korean Joint Symposium on Plant Biotechnology (Jinju, South Korea)
2006/7/5-7

Martin Parniske (ミュンヘン大):

Evolution of root symbiosis

7th European Nitrogen fixation conference (Arhus, denmark) 2006/7/22-26

Martin Parniske (ミュンヘン大):

Evolution of root symbiosis

Colloquium on molecular basis of mycorrhiza, (Tutzing Germany) 2006/10/1-3

2007 年

秋山康紀(阪府大・院・生命環境):

アーバスキュラー菌根共生におけるシグナル物質の同定, 第28回糸状菌遺伝子研究会例会,
(東京) 2007/6/1

Makoto Hayashi(ミュンヘン大):

Epidermal events for infection of rhizobia: root hair curling and infection thread development

International Meeting of the FSRC Research Project, (鹿児島) 2007/9/20

Makoto Hayashi(ミュンヘン大): Genetic dissection of infection thread development in *Lotus japonicus*, The 20th North American Symbiotic Nitrogen Fixation Conference(Milwaukee,USA)
2007/7/10-14

Makoto Hayashi(ミュンヘン大):

Infection thread development

Integral Mid-Term Meeting (Sevilla, Spain) 2007/5/11-13

今泉(安楽)温子(農業生物資源研究所):

Functional analysis of common signaling pathway in *Lotus japonicus* and *Oryza sativa*.鹿児島大学
フロンティアサイエンス研究推進センターシンポジウム(日本植物微生物研究会共催),(鹿児島)
2007/9/20

Martin Parniske (ミュンヘン大):

Intracellular accommodation of symbiotic microbes by plants

13th International congress on Molecular Plant-Microbe Interactions. (Sorrento, Italy)
2007/7/21-27

Masayoshi Kawaguchi(東大・院・理):

Lotus japonicus NSP2 function as activator of nodule and lateral root initiation

13th International congress on Molecular Plant-Microbe Interactions. (Sorrento, Italy)
2007/7/21-27

② 口頭発表 (国内会議 62 件、国際会議 12 件)

2003 年

Akiyama K (Osaka Prefecture Univ.), Matsuzaki K and Hayashi H
Detection and Partial Purification of a Branching Factor from Root Exudates of *Lotus japonicus*,
4th International Conference on Mycorrhizas (モントリオール, カナダ) 2003/8/10-15

秋山康紀(阪府大・院・農), 松崎謙一, 林英雄
アーバスキュラー菌根菌の宿主認識シグナル物質 Branching Factor のミヤコグサ根分泌物からの
単離と化学的性状解析, 植物微生物研究会第 13 回研究交流会(東京) 2003/10/11-13

武田直也(大阪大・院・工), 岡本暁, 林誠, 室岡義勝
2 つのミヤコグサ *ENOD40* 遺伝子の動態, 日本植物学会第 67 回大会(札幌)2003/9/25-28

前川隆紀(大阪大・院・工), 林 誠, 浅水恵里香, 田畑哲之, 河内宏, 室岡義勝
ミヤコグサの根毛、及び根において硝酸態窒素によって調節される遺伝子の網羅的発現解析,
日本植物学会第 67 回大会(札幌)2003/9/25-28

Myra Tansengco(大阪大・院・工), 林誠, 川口正代司, 室岡義勝
感染糸形成変異体 *crinkle* の生殖過程に関する表現型解析, 日本植物学会第 67 回大会(札幌)
2003/9/25-28

Makoto Hayashi(大阪大・院・工), Myra Tansengco, Kouji Yano, Takaki Maekawa, Masayoshi
Kawaguchi, Yoshikatsu Murooka
Wide Spectrum of Infection Thread Development in *Lotus japonicus*,
7th International Congress of Plant Molecular Biology, (Barcelona, Spain) 2003/6/23-28

林誠(大阪大・院・工), Myra Tansengco, 前川隆紀, 川口正代司, 室岡義勝 ミヤコグサ感染糸形成
変異体の表現型解析, 第 44 回日本植物生理学会年会(奈良)2003/3/27-29

前川隆紀(大阪大・院・工), 林誠, 河内宏, 浅水恵理香, 田畑哲之, 室岡義勝
硝酸態窒素によって調節されるミヤコグサ遺伝子の網羅的解析, 第 4 回ミヤコグサワークショップ
(大阪)2003/1/14-15

2004 年

川口正代司(東大・院・理), 斉藤勝晴, 長田敏行, 矢野幸司, 林誠, 室岡義勝, Andrea Pedrosa,
生井潔, 西田寛, 柴田大輔, Niels Sandal, Jens Stougaard, William Grant
パキスタンのミヤコグサ *Lotus burttii* の導入によるマメゲノム解析の基盤強化, 日本植物学会第 68
回大会(藤沢) 2004/9/10

佐藤直人(東大・院・理), 大坪瑤子, 中川知己, 呉国江, 佐藤修正, 田畑哲之, 長田敏行,
川口正代司 ミヤコグサより単離した CLAVATA 様遺伝子の機能解析,
日本植物学会第 68 回大会(藤沢) 2004/9/10

吉良(岡)恵利佳(東大・院・理), 舘野久美子, 三浦謹一郎, 芳賀達也, 林正紀, 原田久也,
鹿園直哉, 田中淳, 渡辺雄一郎, 福原いずみ, 桑原明日香, 長田敏行, 川口正代司
イオンビーム照射により単離された新規ミヤコグサ根粒過剰着生変異体,
日本植物学会第 68 回大会(藤沢) 2004/9/10

川口正代司(東大・院・理):

生物間相互作用が導く共生器官の生成と安定化, 第68回日本植物学会(藤沢) 2004/9/12

齋藤勝晴(東大・院・理), 吉川真琴, 林誠, 室岡義勝, 今泉(安楽)温子, 梅原洋佐, 河内宏,
川口正代司 ミヤコグサ根粒・菌根共生変異体 Ljsym85 の表現型解析,
植物微生物研究会第 14 回研究交会(広島) 2004/9/7

中川知己(東大・院・理), 河内宏, 川口正代司 ミヤコグサ地上部へのメチルジャスモン酸投与
は根の根粒形成を抑制する, 植物微生物研究会第 14 回研究交会(広島)2004/9/6-9/8

佐藤直人(東大・院・理), 大坪瑤子, 中川知己, 呉国江, 佐藤修正, 田畑哲之, 長田敏行,
川口正代司 ミヤコグサの CLAVATA2 様遺伝子の同定と発現解析,
植物微生物研究会第 14 回研究交会(広島)2004/9/6-9/8

吉良(岡)恵利佳(東大・院・理), 館野久美子, 三浦謹一郎, 芳賀達也, 林正紀, 原田久也,
鹿園直哉, 田中淳, 渡辺雄一郎, 福原いずみ, 桑原明日香, 長田敏行, 川口正代司
イオンビーム照射により単離された新規ミヤコグサ根粒過剰着生変異体の表現型解析,
植物微生物研究会第 14 回研究交会(広島) 2004/9/6-9/8

Kawaguchi M(Univ. of Tokyo), Tateno K, Miura K, Haga T, Watanabe Y, Shikazono N, Tanaka A,
Wu G-J, Hayashi M, Harada K: A novel *Lotus japonicus* mutant affecting nodulation and
flowering time, Fifth European Conference on Grain Legumes with the Second International
Conference on Legume Genomics and Genetics (Dijon, France) 2004/6/7-6/11

秋山康紀(阪府大・院・農), 松崎謙一, 林英雄
ミヤコグサ根分泌物からのアーバスキュラー菌根菌の宿主認識シグナル物質の精製,
日本農芸化学会 2004 年度大会(広島) 2004/3/28-31

今泉(安楽)温子(農業生物資源研究所), 武田直也, 梅原洋佐, 河内宏, Allan Downie,
村上泰弘, 佐藤修正, 田畑哲之, 川口正代司, Martin Parniske, 林誠, 川崎信二
CASTOR と POLLUX 根粒菌・菌根菌 common sym pathway に属する 2 つのプラスチド局在型新
規イオンチャンネル様タンパク ミヤコグサ・ダイズ バイオリソースワークショップ(宮崎)
2004/12/16-17

H. Imaizumi-Anraku(農業生物資源研究所), N. Takeda, M. Charpentier, J. Perry, Y. Umehara, H.
Kouchi, Y. Murakami, L. Mulder, K. Vickers, J. Pike, H. Miwa, A. Downie, T. Wang, S. Sato, E.
Asamizu, S. Tabata, M. Yoshikawa, Y. Murooka, G.-J. Wu, M. Kawaguchi, M. Parniske, M.
Hayashi, S. Kawasaki
CASTOR and *POLLUX*, the twin genes are responsible for endosymbioses in *Lotus japonicus*
14th International congress on Nitrogen Fixation(Peking, China) 2004/10/27-11/1

武田直也(大阪大・院・工), 今泉(安楽)温子, Myriam Charpentier, 佐藤修正, 浅水恵理香,
田畑哲之, 梅原洋佐, 河内宏, 室岡義勝, 川口正代司, 川崎信二, Martin Parniske, 林 誠
根粒菌・菌根菌 common pathway に位置する 2 つのプラスチド局在型チャンネル様タンパク
植物微生物研究会第 14 回研究交流会(広島)2004/9/6-8

Myra Tansengco(大阪大・院・工), 日尾泰平, 矢野幸司, 室岡義勝, 川口正代司, 林 誠
先端生長に必須な遺伝子 *Crinkle*,

植物微生物研究会第14回研究交流会(広島)2004/9/6-8

前川隆紀(大阪大・院・工),河内宏,浅水恵理香,田畑哲之,室岡義勝,林誠
トランスクリプトーム解析によって明らかになった、感染糸形成に寄与するジャスモン酸の重要性,
植物微生物研究会第14回研究交流会(広島)2004/9/6-8

矢野幸司(大阪大・院・工),Kate Vickers,佐藤修正,浅水恵理香,田畑哲之,室岡義勝,
川口正代司,Martin Parniske,林誠
分子遺伝学的解析による感染糸形成と菌根菌樹枝状体形成の相同性,
植物微生物研究会第14回研究交流会(広島)2004/9/6-8

吉川真琴(大阪大・院・工),高木慎吾,室岡義勝,川口正代司,林誠
Nod Factor に対する根毛変形応答と根毛アクチン骨格のリモデリング,
植物微生物研究会第14回研究交流会(広島)2004/9/6-8

今泉(安楽)温子(農業生物資源研究所),武田直也,梅原洋佐,村上泰弘,吉川真琴,佐藤修正,
浅水恵理香,田畑哲之,Myriam Charpentier,Lonneke Mulder,Jillian Perry,Martin Parniske,
室岡義勝,河内宏,川口正代司,林誠,川崎信二
根粒菌・菌根菌共生を司る因子 TRINITY の解析 I, 第45回日本植物生理学会年会
(東京)2004/3/27-29

武田直也(大阪大・院・工),今泉(安楽)温子,呉国江,梅原洋佐,村上泰弘,吉川真琴,佐藤修正,
浅水恵理香,田畑哲之,Myriam Charpentier,Lonneke Mulder,Jillian Perry,Martin Parniske,
室岡義勝,河内宏,川口正代司,川崎信二,林誠 根粒菌・菌根菌共生を司る因子 TRINITY の解
析 II, 第45回日本植物生理学会年会(東京)2004/3/27-29

矢野幸司(大阪大・院・工),Kate Vickers,Jillian Perry,佐藤修正,浅水恵理香,田畑哲之,
川口正代司,室岡義勝,Martin Parniske,林誠
根粒菌及び菌根菌との共生に関わるミヤコグサ SYM82 の解析, 第45回日本植物生理学会年会
(東京)2004/3/27-29

林誠(大阪大・院・工),Myra Tansengco,矢野幸司,今泉(安楽)温子,川崎信二,佐藤修正,
田畑哲之,川口正代司,室岡義勝 感染糸形成に関わるミヤコグサ共生変異体の遺伝解析,
第45回日本植物生理学会年会(東京)2004/3/27-29

H. Imaizumi-Anraku(農業生物資源研究所), N. Takeda, M. Charpentier, J. Perry, Y. Umehara, H.
Kouchi, Y. Murakami, H. Miwa, A. Downie, S. Sato, S. Tabata, M. Kawaguchi, S. Kawasaki, M.
Parniske, M. Hayashi
CASTOR and POLLUX, the twin genes act as gatekeepers that control ion fluxes leading to
establishment of endosymbiosis in *Lotus japonicus*
NIAS-COE/PROBRAIN/TOKUTEI Joint International Symposium "Plant Immunity" Signaling to
acquired resistance (Tsukuba, Japan)2004/3/4-5

梅原洋佐(農業生物資源研究所),陳文莉,Md.Shakhawat Hossain,前川隆紀,林正紀,小島知子,
大友量,安藤象太郎,林誠,原田久也,河内宏
再生個体由来のミヤコグサ共生変異体, 日本植物生理学会第45回年会(都立大)2004/3/27-29

今泉(安楽)温子(農業生物資源研究所),武田直也,梅原洋佐,村上泰弘,吉川真琴,佐藤修正,
浅水恵理香,田畑哲之,Myriam Charpentier,Lonneke Mulder,Jillian Perry,Martin Parniske,

室岡義勝,河内宏,川口正代司,林 誠,川崎信二
根粒菌・菌根菌共生を司る因子 TRINITY の解析 I, 日本植物生理学会第45回年会
(都立大)2004/3/27-29

武田直也(大阪大・院・工),今泉(安楽)温子,呉国江,梅原洋佐,村上泰弘,吉川真琴,佐藤修正,
浅水恵理香,田畑哲之,Myriam Charpentier,Lonneke Mulder,Jillian Perry,Martin Parniske,
室岡義勝,河内宏,川口正代司,川崎信二,林 誠
根粒菌・菌根菌共生を司る因子 TRINITY の解析 II, 日本植物生理学会第45回年会
(都立大)2004/3/27-29

大友量(畜産草地研究所),小島知子,安藤象太郎,梅原洋佐,河内宏,川口正代司
菌根菌の感染しないミヤコグサ変異株のスクリーニング,
植物微生物研究会第14回研究交流会(広島)2004/9/6-8

武田直也(大阪大・院・工),今泉(安楽)温子,Myriam Charpentier,佐藤修正,浅水恵理香,田畑
哲之,梅原洋佐,河内宏,室岡義勝,川口正代司,川崎信二, Martin Parniske, 林誠
根粒菌・菌根菌 common pathway に位置する2つのプラスチド局在型チャンネル様タンパク,
植物微生物研究会第14回研究交流会(広島)2004/9/6-8

2005年

斎藤勝晴(東大・院・理),吉川真琴,矢野幸司,三輪大樹,浅水恵理香,佐藤修正,田畑哲之,
今泉(安楽)温子,梅原洋佐,河内宏,室岡義勝,長田敏行,Allan Downie, Martin Parniske, 林
誠,川口正代司 菌根・根粒共生の初期シグナリングに関わるヌクレオポリン様タンパク質,日本
植物学会第69回大会(富山)2005/9/20-23

吉良(岡)恵利佳(東大・院・理),福原いずみ,宮澤日子太,長田敏行,川口正代司
ミヤコグサ *klavier* 変異体の根粒過剰着生はシュート制御である,
日本植物学会第69回大会(富山)2005/9/20-23

斎藤勝晴(東大・院・理),吉川真琴,矢野幸司,三輪大樹,浅水恵理香,佐藤修正,田畑哲之
今泉(安楽)温子,梅原洋佐,河内宏,室岡義勝,長田敏行,Allan Downie, Martin Parniske,
林 誠,川口正代司 菌根菌と根粒菌の細胞内侵入に関わる新規ヌクレオポリン様タンパク質,
植物微生物研究会第15回研究交流会(香川)2005/9/10

斎藤勝晴(東大・院・理),吉川真琴,矢野幸司,三輪大樹,浅水恵理香,佐藤修正,田畑哲之,
今泉(安楽)温子,梅原洋佐,河内宏,室岡義勝,長田敏行,Allan Downie, Martin Parniske,
林 誠,川口正代司 菌根・根粒共生に関わるミヤコグサ *LjSym85* の解析,
日本土壌肥料学会 2005年島根大会(島根)2005/9/8

川口正代司(東大・院・理): ミヤコグサ共生変異体の全体像とcommon signaling pathway,
第46回日本植物生理学会(新潟) 2005/3/24

中川知己(東大・院・理),河内宏,川口正代司 ミヤコグサの根粒形成は地上部のメチルジャス
モン酸処理によって抑制される,第46回日本植物生理学会(新潟) 2005/3/26

秋山康紀(阪府大・院・生命環境),松崎謙一,林英雄 アーバスキュラー菌根菌の宿主認識シグナ
ル Branching factor は根寄生雑草の種子発芽刺激物質ストリゴラクトンであった,
植物微生物研究会第15回研究交流会(香川)2005/9/10-12

秋山康紀(阪府大・院・生命科学), 松崎謙一, 林英雄
5-Deoxy-strigol の AM 菌の菌糸分岐誘導における構造活性相関, 2005 年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部合同大会(大阪)2005/9/30-10/1

秋山康紀(阪府大・院・生命科学), 松崎謙一, 林英雄
ストリゴラクトンはアーバスキュラー菌根菌の宿主認識シグナル物質 branching factor である,
植物化学調節学会第 40 回大会(東京)2005/10/31-11/2

矢野幸司(大阪大・院・工), Kate Vickers, 佐藤修正, 田畑哲之, 川口正代司, 室岡義勝,
Martin Parniske, 林 誠
common signaling pathway の最終段階における細胞単侵入に必要な遺伝子,
第 46 回日本植物生理学会年会(新潟)2005/3/24-26

吉川真琴(大阪大・院・工), 高木慎吾, 室岡義勝, 川口正代司, 林 誠
根粒菌共生初期応答における根毛の形態変化,
第 46 回日本植物生理学会年会(新潟)2005/3/24-26

今泉(安楽)温子(農業生物資源研究所), 武田直也, 川口正代司, Martin Parniske, 林 誠, 川崎信二
カルシウムスパイクの起動と受容に関わる遺伝子群について,
第 46 回日本植物生理学会年会(新潟)2005/3/24-26

斎藤勝晴(東大・院・理), 吉川真琴, 矢野幸司, 三輪大樹, 浅水恵理香, 佐藤修正, 田畑哲之,
今泉(安楽)温子, 梅原洋佐, 河内宏, 室岡義勝, 長田敏行, Allan Downie, Martin Parniske,
林 誠, 川口正代司 菌根菌と根粒菌の細胞内侵入に関わる新規ヌクレオポリン様タンパク質,
植物微生物研究会第15回研究交流会(香川)2005/9/10-12

箱山雅生(愛知教育大), 新實香緒里, 山本武史, 磯邊佐和, 佐藤修正, 中村保一, 田畑哲之,
熊谷浩高, 梅原洋佐, 野村美加, 田島茂行, Niels Sandal, Jens Stougaard, 川口正代司, 河内
宏, 菅沼教生 共生窒素固定活性の発現を制御するミヤコグサ Sen1 遺伝子のポジショナルクロー
ニング, 植物微生物研究会第15回研究交流会(香川)2005/9/10-12

Naoya Takeda (ミュンヘン大学), Sonja Kosuta, Thilo Winzer, Martin Groth and Martin Parniske
"Mycorrhiza-induced subtilase genes"
at Molekulare Grundlagen der Mykorrhiza-Symbioses (Neustadt, Germany) 2005/10/31-11/1

2006 年

佐藤直人(東京大・院・理), 岡本暁, 岡(吉良)恵利佳, 福原いずみ, 大坪瑤子, 中川知己,
佐藤修正, 田畑哲之, Jillian Perry, Trevor Wang, 長田敏行, 川口正代司
ミヤコグサ CLAVATA2 は根粒形成を負に制御する,
日本植物学会第70回大会(熊本)2006/9/14-16

秋山康紀(阪府大・院・生命環境), 柏原孝紀, 米山香織, 楠本大, 関本均, 米山弘一, 林英雄
アーバスキュラー菌根菌(AM 菌)非宿主植物におけるストリゴラクトンの生産,
2006 年度農芸化学会大会(京都)2006/3/25-28

秋山康紀(阪府大・院・生命環境), 八田淳司, 林英雄
アーバスキュラー菌根菌(AM 菌)の共生シグナル物質 Myc factor のアッセイ法の改良,
2006 年度農芸化学会大会(京都)2006/3/25-28

秋山康紀(阪府大・院・生命環境),小笠原新,林英雄
ストリゴラクトンの AM 菌菌糸分岐誘導における構造要求性.
植物微生物研究会第 16 回研究交流会(北海道)2006/9/20-22

Koji Yano(ミュンヘン大), Satoko Yoshida, Judith Müller, Martin Parniske and Makoto Hayashi
CYCLOPS is required for root invasion of microsymbionts and interacts with CCaMK
7th European Nitrogen Fixation Conference(Aarhus, Denmark) 2006/7/22-26

柴田哲(農業生物資源研究所), Chen W, 佐藤修正, 金子貴一, Sandal N, Stougaard J,
田畑哲之, 梅原洋佐, 河内宏
感染プロセスと根粒形成過程に異常を示すミヤコグサ変異体物 Ljsym101 の表現型解析と遺伝子
クローニング, 第 47 回日本植物生理学会年会(筑波)2006/3/19-21

柴田哲(農業生物資源研究所), 東久仁子, 富澤紗織, 小島知子, 大友量, 川口正代司,
梅原洋佐, 河内宏 ミヤコグサのイオンビーム照射系統からの共生変異体の探索,
植物微生物研究会第 16 回研究交流会(北海道)2006/9/20-22

武田直也(ミュンヘン大学), Sonja Kosuta, Thilo Winzer, Martin Groth, 佐藤修正, 金子貴一,
田畑哲之, Martin Parniske 菌根形成時に誘導されるプロテアーゼ遺伝子の解析,
第47回植物生理学会年会(筑波) 2006/3/19-21

武田直也 (ミュンヘン大学)
Symbiosis regulated subtilase genes,
Colloquium on molecular basis of mycorrhiza (Tutzing Germany)2006/10/1-3

斎藤勝晴(信州大・農), 吉川真琴, 矢野幸司, 三輪大樹, 浅水恵理香, 佐藤修正, 田畑哲之,
今泉(安楽)温子, 梅原洋佐, 河内宏, 室岡義勝, 長田敏行, Allan Downie, Martin Parniske, 林 誠,
川口正代司 菌根・根粒共生に関わるヌクレオポリン NUP85 の機能解析,
2006 年日本土壌肥料学会 (秋田)2006/9/5-7

吉田千枝(東京大・院・理), 斎藤勝晴, 川口正代司
ミヤコグサ菌根スクリーニング系確立と AM 共生特異的変異体単離の試み. 植物微生物研究会
(北海道)2006/9/20-22

2007 年

Magori S (Univ. of Tokyo), Oka-Kira E, Shibata S, Umehara Y, Kouchi H, Kawaguchi M
too much love, a novel hypernodulating mutant of *Lotus japonicus*: Model Legume Congress 2007.
(Tunisia) 2007/03/26

Tomisawa S(Univ. of Tokyo), Murakami Y, Sato N, Suganuma N, Kawaguchi M
Spatial expression patterns of *Lotus japonicus* NSP2 are altered by rhizobial infection and har1
genetic background: Model Legume Congress 2007 (Tunisia) 2007/03/26

Miyazawa H (Univ. of Tokyo), Oka-Kira E, Sato N, Wu GJ., Sato S, Tabata S, Hayashi M, Harada
K, Kawaguchi M Phenotypic characterization of *Lotus japonicus* klavier mutant that shows
hypernodulation and bifurcated stem, Model Legumes Congress 2007 (Tunisia) 2007/3/26

吉良(岡)恵利佳(東京大・院・理), 宮澤日子太, 佐藤直人, 呉国江, 佐藤修正, 田畑哲之,
林正紀, 原田久也, 川口正代司, ミヤコグサ根粒過剰着生変異体klavierの原因遺伝子同定,

植物微生物研究会第17回研究交流会(鹿児島)2007/9/19-9/21

神義伸(東京大・院・理),中川知己,川口正代司,
ミヤコグサ実験系統 MiyakojimaMG-20 における根粒菌感染能とエチレン感受性,
日本植物学会 71 回大会(野田)2007/9/7-9/9

宮澤日子太(東京大・院・理),吉良(岡)恵利佳,佐藤直人,呉国江,佐藤修正,田畑哲之,林正紀,
原田久也,川口正代司 根粒形成の全身的抑制機構に関わる *KLAVIER* 遺伝子の同定,
日本植物学会 71 回大会(野田)2007/9/7-9/9

吉良(岡)恵利佳(東京大・院・理),宮澤日子太,佐藤直人,呉国江,佐藤修正,田畑哲之,林正紀,
原田久也,川口正代司 ミヤコグサ *KLAVIER* 遺伝子はシュートの多面的な表現型にも関与する,
日本植物学会 71 回大会(野田)2007/9/7-9/9

村上泰弘(東京大・院・理),富澤紗織,福井理恵,東久仁子,吉田千枝,川口正代司
根粒形成開始を制御する GRAS family 推定転写因子,NSP2 遺伝子の発現制御機構の解析,
日本植物学会 71 回大会(野田)2007/9/7-9/9

秋山康紀(阪府大・院・生命環境),小笠原新,林英雄
飽和型ストリゴラクトン誘導体による AM 菌菌糸分岐誘導, 2007 年度日本農芸化学会大会(東京)
2007/3/24-27

矢野幸司(農業生物資源研究所),梅原洋佐,今泉(安楽)温子,佐藤修正,田畑哲之,川口正代司,
河内宏,林 誠
ミヤコグサの感染糸形成に関与する ALB1 の解析, 植物微生物研究会第 17 回研究交流会
(鹿児島)2007/9/19-21

Md.Shakhawat Hossain(農業生物資源研究所),梅原洋佐,佐藤修正,金子貴一,田畑哲之,
川口正代司,河内宏 ミヤコグサ Fix⁻変異体 *Ljsym89* の解析とポジショナルクローニング,
植物微生物研究会第17回研究交流会(鹿児島)2007/9/19-21

Catharina White (ミュンヘン大)

Nuclear events in Nod Factor induced signal transduction 15th International Conference on
Nitrogen Fixation and 12th International Conference of the African Association for Biological
Nitrogen Fixation (Cape Town, South Africa)2007/1/21-26

③ ポスター発表 (国内会議 51 件、国際会議 7 件)

2002 年

前川隆紀(大阪大・院・工),河内宏,林 誠,浅水恵理香,田畑哲之,室岡義勝
ミヤコグサ根毛で硝酸態窒素によって制御される遺伝子の探索,
第 25 回日本分子生物学会年会(横浜) 2002/12/11-14

2003 年

秋山康紀(阪府大・院・農),岩下麻実,林英雄
アーバスキュラー菌根菌の感染・共生過程におけるミヤコグサ根での LjCbp1 プロモーターの
活性化, 植物微生物研究会第 13 回研究交流会(東京)2003/10/11-13

秋山康紀(阪府大・院・農), 松崎謙一, 林英雄
ニンジン根分泌物からのアーバスキュラー菌根菌の菌糸分岐を誘導する物質の精製,
植物微生物研究会第 13 回研究交流会(東京)2003/10/11-13

杉山健一(大阪大・院・工), 武田倫子, 前川隆紀, 林 誠, 室岡義勝
ミヤコグサの根粒形成に不全を示す根粒菌変異株の解析, 日本植物学会第 67 回大会
(札幌)2003/9/25-28

矢野幸司(大阪大・院・工), 林 誠, 川口正代司, 室岡義勝
根粒形成にかかわるミヤコグサ新規変異体の解析, 日本植物学会第 67 回大会
(札幌)2003/9/25-28

橋本雅子(大阪大・院・工), 近江戸伸子, 福井希一, 佐藤修正, 田畑哲之, 林 誠, 室岡義勝
ミヤコグサの染色体地図の作成, 日本植物学会第 67 回大会(札幌)2003/9/25-28

武田倫子(大阪大・院・工), 武田直也, 前川隆紀, 林 誠, 室岡義勝
スポットイノキュレーションによるミヤコグサ根粒形成過程の解析, 日本植物学会第 67 回大会
(札幌)2003/9/25-28

吉川真琴(大阪大・院・工), 高木慎吾, 林 誠, 室岡義勝
ミヤコグサ根毛における細胞骨格形成パターンの変化, 日本植物学会第 67 回大会
(札幌)2003/9/25-28

Wenli Chen(農業生物資源研究所), Yosuke Umehara & Hiroshi Kouchi
Genetic Analyses and Mapping of the Symbiotic Mutant line G00106 of *Lotus japonicus*
植物微生物研究会第 13 回研究交流会(東京)2003/10/11-13

2004 年

秋山康紀(阪府大・院・農), 松崎謙一, 林英雄
アーバスキュラー菌根菌の宿主認識シグナル物質のミヤコグサ根分泌物からの精製,
植物化学調節学会第 38 回大会(名古屋)2004/10/29-30

M. Hayashi(大阪大・院・工), K. Yano, M. L. Tansengco, T. Maekawa, M. Yoshikawa, N. Takeda,
Y. Murooka, H. Imaizumi-Anraku, S. Sato, S. Tabata, M. Kawaguchi
Genetic and morphological analysis of infection thread mutants in *Lotus japonicus*
Fifth European Conference on Grain Legumes with the Second International Conference on
Legume Genomics and Genetics(Dijon, France) 2004/6/7-11

吉川真琴(大阪大・院・工), 河内宏, 高木慎吾, 川口正代司, 林 誠, 室岡義勝
ミヤコグサ根粒着生初期不全変異体における根毛の変形とアクチン微小繊維の動態,
第 45 回日本植物生理学会年会(東京)2004/3/27-29

前川隆紀(大阪大・院・工), 林 誠, 浅水恵理香, 田畑哲之, 河内宏, 室岡義勝
包括的転写解析によって明らかになった、硝酸によるジャスモン酸関連遺伝子の調節-ミヤコグサ
の根毛における硝酸応答-, 第 45 回日本植物生理学会年会(東京)2004/3/27-29

Takaki Maekawa(大阪大・院・工), Makoto Hayashi, Erika Asamizu, Satoshi Tabata, Hiroshi Kouchi,
Yoshikatsu Murooka

Transcriptional analysis of nitrate response in root hairs of *Lotus japonicus*: jasmonic acid responsive genes are controlled by nitrate,
NIAS-COE/PROBRAIN/TOKUTEI Joint International Symposium "Plant Immunity" Signaling to acquired resistance (Tsukuba, Japan) 2004/3/4-5

HOSSAIN Md. Shakhawat (農業生物資源研究所), 梅原洋佐, 河内宏
ミヤコグサ新奇 Fix-変異体 Ljsym105 の解析, 植物微生物研究会第 14 回研究交流会
(広島) 2004/9/6-8

齋藤勝晴(東大・院・理), 吉川真琴, 林 誠, 室岡義勝, 今泉(安楽)温子, 梅原洋佐, 河内宏,
川口正代司 ミヤコグサ根粒・菌根共生変異体 Ljsym85 の表現型解析,
植物微生物研究会第 14 回研究交流会(広島) 2004/9/6-8

梅原洋佐(農業生物資源研究所), HOSSAIN Md. Shakhawat, 陳文莉, 河内宏
再生個体由来のミヤコグサ有効根粒形成不全変異系統, 植物微生物研究会第 14 回研究交流会
(広島) 2004/9/6-8

今泉(安楽)温子(農業生物資源研究所), 武田直也, 梅原洋佐, 河内宏, A.Downie, 村上泰弘,
佐藤修正, 田畑哲之, 川口正代司, Martin Parniske, 林 誠, 川崎信二
CASTOR と POLLUX 根粒菌・菌根菌 common sym pathway に属する2つのプラスチド局在型新
規イオンチャネル様タンパク, ミヤコグサ・ダイズバイオリソースワークショップ(宮崎)
2004/12/16-17

梅原洋佐(農業生物資源研究所), Md. Shakhawat Hossain, 河内宏
ミヤコグサ再生個体由来変異系統
ミヤコグサ・ダイズバイオリソースワークショップ(宮崎) 2004/12/16-17

2005 年

佐藤直人(東大・院・理), 岡本暁, 中川知己, 大坪瑤子, 福原いずみ, 呉国江, 佐藤修正,
田畑哲之, 長田敏行, 川口正代司 ミヤコグサ *CLAVATA2/3* 様遺伝子の発現・機能解析,
日本植物学会第 69 回大会(富山) 2005/9/20-23

吉田千枝(東大・院・理), 齋藤勝晴, 馬渡なつき, 福原いずみ, 長田敏行, 菅沼教生, 川口正代司
アーバスキュラー菌根菌に特異的なミヤコグサ共生変異体単離の試み,
日本植物学会第 69 回大会(富山) 2005/9/20-23

齋藤勝晴(東大・院・理), 吉田千枝, 馬渡なつき, 福原いずみ, 長田敏行, 菅沼教生, 川口正代司
アーバスキュラー菌根形成に特異的なミヤコグサ変異体を単離する試み,
植物微生物研究会第 15 回研究交流会(香川) 2005/9/10

吉良(岡)恵利佳(東大・院・理), 福原いずみ, 宮澤日子太, 長田敏行, 川口正代司
ミヤコグサ *klavier* 変異体の根粒過剰着生はシュートにより制御される,
植物微生物研究会第 15 回研究交流会(香川) 2005/9/11

吉田千枝(東大・院・理), 齋藤勝晴, 馬渡なつき, 福原いずみ, 長田敏行, 菅沼教生, 川口正代司
アーバスキュラー菌根形成に特異的なミヤコグサ変異体を単離する試み,
植物微生物研究会第 15 回研究交流会(香川) 2005/9/11

Akiyama K (Osaka Prefecture Univ.), Matsuzaki K, Hayashi H

Strigolactones induce hyphal branching morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi.

46th Annual Meeting of the American Society of Pharmacognosy (Corvallis, Oregon, USA)

2005/7/ 23-27

秋山康紀(阪府大・院・農), 八田淳司, 岩下麻実, 林英雄

アーバスキュラー菌根菌(AM 菌)の生産する共生シグナル物質“Myc factor”の精製,

日本農芸化学会 2005 年度大会(札幌) 2005/3/28-30

秋山康紀(阪府大・院・生命環境), 八田淳司, 岩下麻美, 林英雄

アーバスキュラー菌根菌の生産する共生シグナル物質 Myc factor の検出と精製,

植物微生物研究会第 15 回研究交流会(香川) 2005/9/10-12

秋山康紀(阪府大・院・生命環境), 柏原孝紀, 林英雄

AM 菌非宿主植物であるナタネの根分泌物による菌糸分岐誘導, 植物微生物研究会第 15 回

研究交流会(香川) 2005/9/10-12

秋山康紀(阪府大・院・生命環境), 松崎謙一, 林英雄

アーバスキュラー菌根菌の宿主認識シグナル物質 Branching Factor の同定,

第 47 回天然有機化合物討論会(徳島) 2005/10/7-9

岡本暁(大阪大・院・工), 室岡義勝, 林 誠

LjENOD40 におけるアンチセンス RNA の発見, 第 46 回日本植物生理学会年会

(新潟) 2005/3/24-26

日下部光正(大阪大・院・工), 前川隆紀, 佐藤修正, 田畑哲之, 室岡義勝, 林誠

ミヤコグサの形質転換系における新規プロモーターの開発, 第 46 回日本植物生理学会年会

(新潟) 2005/3/24-26

日尾泰平(大阪大・院・工), Myra Tansengco, 矢野幸司, 佐藤修正, 田畑哲之, 川口正代司,

室岡義勝, 林 誠

感染糸形成に必要なミヤコグサ遺伝子 *crinkle* のマッピング, 第 46 回日本植物生理学会年会

(新潟) 2005/3/24-26

Md. Shakhawat Hossain(農業生物資源研究所), 梅原洋佐, 河内宏

ミヤコグサ新奇 Fix-変異体 *Ljsym105* の解析, 第 46 回日本植物生理学会年会

(新潟) 2005/3/24-26

Md. Shakhawat Hossain(農業生物資源研究所), 梅原洋佐, 大友量, 小島知子, 林 誠, 川口正代司,

河内宏 Characterization of three symbiotic mutants from an EMS treated line N49 of *Lotus japonicus*, 植物微生物研究会第 15 回研究交流会(香川) 2005/9/10-12

2006 年

馬郡慎平(東大・院・理), 吉良(岡) 恵利佳, 柴田哲, 梅原洋佐, 河内宏, 川口正代司

Characterization of *too much love (tml)*, a novel hypernodulating mutant of *Lotus japonicus* ,

日本分子生物学会 2006 フォーラム(分子生物学の未来)(名古屋) 2006/12/6-12/8

吉良(岡)恵利佳(東大・院・理), 柴田哲, 馬郡慎平, 佐藤直人, 梅原洋佐, 河内宏, 川口正代司
根の遺伝子型が根粒数を制御する新奇ミヤコグサ根粒過剰着生変異体,
植物微生物研究会第16回研究交流会(北海道)2006/9/20-22

神 義伸(東大・院・理), 中川知己, 菅沼教生, 川口正代司
ミヤコグサエチレン非感受性変異体の解析, 植物微生物研究会第16回研究交流会(北海道)
2006/9/20-22

岡本 暁(東大・院・理), 中川知己, 佐藤修正, 佐藤直人, 福原いずみ, 田畑哲之, 川口正代司
ミヤコグサにおける*CLV3* 様遺伝子の機能解析, 植物微生物研究会第16回研究交流会
(北海道)2006/9/20-22

宮澤日子太(東大・院・理), 吉良(岡)恵利佳, 佐藤直人, 呉国江, 佐藤修正, 田畑哲之, 林正紀,
原田久也, 川口正代司 ミヤコグサ根粒過剰着生変異体*klavier* の表現型解析,
植物微生物研究会第16回研究交流会(北海道)2006/9/20-22

富澤紗織(東大・院・理), 村上泰弘, 佐藤直人, 川口正代司
ミヤコグサの根粒形成における*LjNISP2* の機能解析, 植物微生物研究会第16回研究交流会
(北海道)2006/9/20-22

吉田千枝(東京大・院・理), 齊藤勝晴, 川口正代司
ミヤコグサ菌根スクリーニング系の確立とAM 共生特異的変異体単離の試み,
植物微生物研究会第16回研究交流会(北海道)2006/9/20-22

Saito, K.(Univ.of Tokyo), M. Yoshikawa, K. Yano, H. Miwa, E. Asamizu, S. Sato, S. Tabata, H.
Imaizumi-Anraku, Y. Umehara, H. Kochi, Y. Murooka, T. Nagata, K. Szczyglowski, A. Downie, M.
Parniske, M. Hayashi, M. Kawaguchi
Lotus japonicus nucleoporin required for both mycorrhization and nodulation, Mycorrhiza: Systems
Research from Genes to Communities(Ascona. Switzerland) 2006/3/6

秋山康紀(阪府大・院・生命環境), 柏原孝紀, 米山香織, 楠本大, 関本均, 米山弘一, 林英雄
アーバスキュラー菌根菌非宿主植物におけるストリゴラクトンの生産,
植物微生物研究会第16回研究交流会(北海道)2006/9/20-22

秋山康紀(阪府大・院・生命環境), 小笠原新, 林英雄
ストリゴラクトンのAM菌糸分岐誘導における構造要求性, 植物化学調節学会第41回大会
(大阪)2006/10//30-31

Hossain Md.S(農業生物資源研究所), Umehara Y, Sato S, Kaneko T, Tabata S, Kouchi H
A Novel Fix- Symbiotic Mutant of *Lotus japonicus*, Ljsym105, Shows Impaired Development and
Premature Deterioration of Nodule Infected Cells and Symbiosomes,
第47回日本植物生理学会年会(筑波)2006/3/19-21

Hossain Md. S(農業生物資源研究所), Umehara Y, Sato S, Kaneko T, Tabata S, Kouchi H
Characterization of a novel Fix- symbiotic mutant, LJSYM105, of *Lotus japonicus*. 3RD
INTERNATIONAL CONFERENCE ON Legume Genomics & Genetics(ブリスベーン, オーストラリア)
2006/4/9-13

Hossain Md. S(農業生物資源研究所), Umehara Y, Sato S, Kaneko T, Tabata S, Kouchi H

A novel Fix⁻ symbiotic mutant of *Lotus japonicus*, Ljsym105, shows impaired development and premature deterioration of nodule infected cells and symbiosomes. JSPS/NSF Joint Seminar (東京) 2006/8/15-19

Saito K (東大・院・理), Yoshikawa M, Yano K, Miwa H, Asamizu E, Sato S, Tabata S, Imaizumi-Anraku H, Umehara Y, Kouchi H, Murooka Y, Nagata T, Szczyglowski K, Downie A, Parniske M, Hayashi M, Kawaguchi M
Lotus japonicus nucleoporin required for both mycorrhization and nodulation JSPS/NSF Joint Seminar (東京) 2006/8/15-19

Shibata S (農業生物資源研究所), Chen W, Sato S, Kaneko T, Sandal N, Stougaard J, Tabata S, Umehara Y, Kouchi H Characterization of LjSym101 that is required for rhizobial infection and nodule organogenesis. JSPS/NSF Joint Seminar (東京) 2006/8/15-19

吉良(岡) 恵利佳(東大・院・理), 柴田哲, 馬郡慎平, 佐藤直人, 梅原洋佐, 河内宏, 川口正代司
根の遺伝子型が根粒数を制御する新奇ミヤコグサ根粒過剰着生変異体
植物微生物研究会第16回研究交流会(北海道)2006/9/20-22

2007年

岡本暁(東大・院・理), 佐藤直人, 吉良(岡) 恵利佳, 中川知己, 福原いづみ, 佐藤修正, 田畑哲之, Jillian Perry, Trevor Wang, 川口正代司 ミヤコグサ CLAVATA2, CLAVATA3 様遺伝子の機能解析, 第48回日本植物生理学会年会(愛媛)2007/3/28-3/30

吉良(岡) 恵利佳(東大・院・理), 柴田哲, 馬郡慎平, 佐藤直人, 梅原洋佐, 河内宏, 川口正代司, 根の遺伝子型が根粒数を制御する新奇ミヤコグサ根粒過剰着生変異体の表現型解析, 第48回日本植物生理学会年会(愛媛)2007/3/28-3/30

東久仁子(東大・院・理), 村上泰弘, 吉田千枝, 川口正代司
イオンビーム照射により単離されたミヤコグサ NSP1 に欠損をもつ根粒非着生変異体の解析, 第48回日本植物生理学会年会(愛媛)2007/3/28-3/30

岡本暁(東大・院・理), 佐藤直人, 中川知己, 福原いづみ, 佐藤修正, 田畑哲之, Jillian Perry, Trevor Wang, 川口正代司 ミヤコグサにおける受容体型タンパク LjCLV2 の機能解析, 日本植物学会 71 回大会(野田)2007/9/7-9/9

秋山康紀(阪府大・院・生命環境), 小笠原新, 林英雄
飽和型ストリゴラクトンアナログの AM 菌菌糸分岐誘導における立体特異性, 植物微生物研究会第17回研究交流会(鹿児島)2007/9/19-21 (国内)

Takaki Maekawa (ミュンヘン大), Makoto Yoshikawa and Makoto Hayashi
Gibberellin regulates nodulation signaling between CCaMK and NSP2
XIII International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions
(Sorrento, Italy) 2007/7/21-27

Naoya Takeda (ミュンヘン大学), Shusei Sato, Takakazu Kaneko, Satoshi Tabata, Martin Parniske.
Subtilase genes in plant root symbiosis
13th International congress on Molecular Plant-Microbe Interactions (Sorrento, Italy) 2007/7/21-27

(4) 特許出願

①国内出願 (2件)

1)

特許番号: 特願2004-059883

発明者: 林 誠、川口正代司、田畑哲之、マーチン パーニスキー、川崎信二、
今泉(安楽)温子、村上泰弘

発明名称: 根粒菌及び／又は菌根菌との共生に関与する遺伝子、およびその利用

出願人: 独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人農業生物資源研究所、
財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所、ザ サインズベリー ラボラトリー

出願日: 平成 16 年 3 月 3 日

2)

特許番号: 特願2003-054622

発明者: 林 誠

発明名称: マメ科植物と根粒菌との共生効率の制御方法、およびマメ科植物共生変異体

出願人: 科学技術振興事業団

出願日: 平成 15 年 2 月 28 日

②海外出願 (0件)

(5) 受賞等

①受賞

- 1) 林 誠 : 2005 年度 日本植物学会奨励賞 「ミヤコグサの初期根粒形成に関与する因子の解析」(社)日本植物学会
- 2) 秋山康紀 : 2006 年度 農芸化学奨励賞 「アーバスキュラー菌根共生における共生制御質に関する研究」(財)日本農芸化学会
- 3) 今泉(安楽)温子 : 2007 年度 日本植物学会奨励賞「根粒菌及び菌根菌の感染受容を司る共通シグナル伝達経路の解析」(社)日本植物学会

②新聞報道

- ・平成 11 年 2 月 17 日掲載 日本工業新聞「根粒細菌の共生メカニズム 分子遺伝学的見地から解明 将来は貧土壌での穀物生産も」
- ・平成 14 年 11 月 7 日掲載 毎日新聞「植物と細菌の「共生」遺伝子特定」
- ・平成 14 年 11 月 7 日掲載 朝日新聞「菌との「共生」遺伝子を特定」
- ・平成 14 年 11 月 7 日掲載 日経産業新聞「共生関係築く遺伝子 肥料少なくても育つ植物」
- ・平成 14 年 11 月 7 日掲載 日本工業新聞「新潟大かずさ DNA 研究所 それぞれ同定に成功マメ科植物と根粒菌 共生のカギ握る遺伝子」
- ・平成 14 年 12 月 18 日掲載 新潟日報「「共生」遺伝子解明進む 作物開発に応用 肥料削減も期待」

- ・平成 15 年 2 月 19 日掲載 読売新聞「マメ科 進化は節約!? 根粒のルーツは成長遺伝子」
- ・平成 16 年 4 月 14 日掲載 沖縄タイムズ「宮古島のミヤコグサ 世界十数カ国で活躍」
- ・平成 16 年 5 月 27 日掲載 静岡新聞「やせた土地でも育つ 根にこぶを作り共生」
- ・平成 16 年 12 月 23 日掲載 毎日新聞「やせた土壌で栽培可能—マメ科植物の遺伝子を発見」
- ・平成 16 年 12 月 23 日掲載 日刊工業新聞「2種の新タンパク質発見—植物・土壌微生物の共生に寄与」
- ・平成 16 年 12 月 24 日掲載 日経産業新聞「マメ科植物の共生菌—メカニズム関連2遺伝子を発見」
- ・平成 17 年 1 月 1 日掲載 科学新聞「植物と共生菌との共生関係制御タンパク質明らかに—共生メカニズム解明」
- ・平成 17 年 6 月 9 日掲載 毎日新聞「植物が共生菌呼ぶ物質発見 化学肥料減少に道 大阪府立大学助手」
- ・平成 17 年 6 月 9 日掲載 日経産業新聞「有用微生物呼ぶ物質 植物の根を調べ特定 大阪府立大学など 農作物育成に有効」
- ・平成 17 年 6 月 9 日掲載 日本工業新聞「大阪府立大 菌根菌の誘導物質特定 ストリゴラクトン、雑草除去法開発も」
- ・平成 17 年 6 月 15 日掲載 読売新聞「植物に“もろ刃の剣”誘導物質 大阪府立大グループが発見」
- ・平成 17 年 6 月 15 日掲載 日本工業新聞「植物に“もろ刃の剣”誘導物質 大阪府立大グループが発見」
- ・平成 17 年 6 月 8 日掲載 米国科学誌サイエンス オンライン版「Fungi's Little Helper」
- ・平成 17 年 6 月 13 日掲載 米国 Chemical and Engineering News 誌「5-Deoxystrigol lures fungi to plants」
- ・平成 17 年 6 月 17 日掲載 科学新聞「菌根菌と植物の共生に焦点 大阪府立大・秋山氏ら シグナル物質発見」
- ・平成 17 年 8 月 18 日掲載 日経産業新聞「21 世紀の気鋭 植物と菌の共生解明 引き寄せる物質分離 秋山康紀氏」
- ・平成 18 年 7 月 28 日掲載 科学新聞「アーバスキュラー菌根菌 菌根共生系全容解明の鍵」

③その他

- ・秋山康紀 : 米国科学誌「サイエンス」誌オンライン内 Science Now 「Fungi's Little Helper」2005 年 6 月 8 日配信
- ・秋山康紀 : 「ネイチャー・ジャパン」オンライン 今週のハイライト「植物 : 草の根を分けて探した ストリゴラクトンの役割」2005 年 6 月 9 日配信
- ・秋山康紀 : Chemical and Engineering News 誌 (アメリカ化学会) 「5-Deoxystrigol lures fungi to

plants」2005年6月13日号掲載

- ・秋山康紀：米国科学誌「サイエンス」誌オンライン内 STKE (Signal Transduction Knowledge Environment) Vol. 2005, Issue 288, pp. tw221 「PLANT BIOLOGY: Sharing a Signal for Good and Bad」2005年6月14日配信
- ・秋山康紀：「現代化学」誌(東京化学同人)「化学かわらばん 共生を仲介する物質」2005年9月号掲載
- ・秋山康紀：「The Japan Journal」誌(株)ジャパンジャーナル 「BREAKTHROUGH: Mystery of Plant-Fungi Symbiosis Unraveled」2006年2月号掲載

(6)その他特記事項
特になし

7 研究期間中の主な活動

(1)ワークショップ・シンポジウム等

| 年月日 | 名称 | 場所 | 参加人数 | 概要 |
|-------------------------|-------------------|---|------|---|
| H16. 3. 6 | CREST研究チーム 打合せ | 東京大学大学院 理学系研究科 (理学部2号館) | 10名 | マメ科のモデル植物ミヤコグサと根粒菌、菌根菌との共生系を支える因子についての情報交換を行い、厳しい国際競争を乗り越える研究戦略を立案した。 |
| H16.11.25 ～ 11.26 | CREST研究チーム 打合せ | 独立行政法人 農業・生物系特 定産業技術研究 機構畜産草地研 究所 | 8名 | 各グループの研究の進捗状況の報告及び中間評価に向けて協力体制についての打合せを行った。 |

8 結び

本プロジェクトは、陸上植物において最も普遍的であり、かつ育種にも生態系の維持にも重要なアーバスキュラー菌根共生系の分子基盤を解明することを主たる目的としてスタートした。アーバスキュラー菌根菌は、宿主なしでは増殖できない絶対共生菌であり、遺伝解析もほぼ不可能であることから、プロジェクト期間内に実質的な成果をあげることができるかと心配していたが、各グループが連携を密にして意欲的に研究に取り組んだため、予想を遥かに超える成果をあげることができた。特に植物から菌根菌への共生シグナル物質 BF の分子同定と、菌根菌と根粒菌の双方の共生に必須の宿主因子 CASTOR, POLLUX の特定は、それぞれ Nature 誌に掲載されたが、わずか2年の文献引用回数は極めて高く本プロジェクトから発信した成果が世界に大きなインパクトをもって受け容れられていることを物語っている。さらに、われわれの研究チームは最終年度においても重要な進展をみせており、大友グループは、悲願の菌根特異的な変異体をミヤコグサ

より単離することに成功し、これまで欠落していた菌根共生に関する重要な部分の穴を補う成果を上げた。また、秋山グループは熾烈な国際競争のなかで菌根菌から植物への共生シグナル因子 Myc factor のバイオアッセイ系を構築し、その分子の実体に迫りつつある。林、Parniske グループは Common Signaling Pathway の最後の分岐点 Cyclops を特定し CCaMK との分子相互作用に関する重要な知見を得、梅原グループは根粒菌の感染プロセスや共生窒素固定に必要な新規因子を特定した。また川口グループはチーム全体の調整を図るとともに、ミヤコグサのゲノム情報より共生の全身制御解明の鍵となる新規ペプチドと受容体キナーゼを特定することに成功した。これらの成果はどれも世界の最先端を行くものであり、将来的に、地球環境の保全や新しい育種技術の開発にも貢献するものと信じている。

最後に、アーバスキュラー菌根菌と植物の共生という多くの困難を伴うテーマに対して、一貫してご支援、ご指導いただいた鈴木昭憲総括、井上悟技術参事、評価委員の方々、事務の玉井育子さん、石田妙子さんに深く感謝申し上げます。また本研究プロジェクトを進めるにあたり、かずさDNA研究所によるミヤコグサゲノム情報とリソースの提供は不可欠であった。あわせて感謝の意を表したい。