

未来社会創造事業 探索加速型
「地球規模課題である低炭素社会の実現」領域
年次報告書(探索研究期間)

令和2年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名:佐藤 修正]

[国立大学法人 東北大学大学院生命科学研究科・教授]

[研究開発課題名:窒素固定共生のリコンストラクション]

実施期間 : 令和4年4月1日～令和5年3月31日

§1. 研究開発実施体制

(1)「東北大」グループ(東北大学)

① 研究開発代表者:佐藤 修正 (東北大学 生命科学研究科、教授)

② 研究項目

- ・窒素固定クレード植物の比較ゲノム解析
- ・窒素固定クレード植物への複数遺伝子導入系の開発

(2)「かずさ」グループ(かずさ DNA 研究所)

① 主たる共同研究者:平川 英樹 (かずさ DNA 研究所 ゲノム情報解析施設、施設長)

② 研究項目

- ・窒素固定クレード植物のゲノム配列解析
- ・窒素固定クレード植物の比較ゲノム解析

(3)「基生研」グループ(基礎生物学研究所)

① 主たる共同研究者:征矢野 敬 (基礎生物学研究所 共生システム研究部門、准教授)

② 研究項目

- ・共生関連遺伝子の機能保存性の評価
- ・根粒共生付与の鍵となる遺伝子群の解明

(4)「筑波大」グループ(筑波大学)

① 主たる共同研究者:壽崎 拓哉 (筑波大学 生命環境系、准教授)

② 研究項目

- ・保存共生関連遺伝子の機能評価
- ・鍵となる欠失遺伝子の解明

(5)「農研機構」グループ(農業・食品産業技術総合研究機構)

① 主たる共同研究者:下田 宜司 (農研機構 生物機能利用研究部門、上級研究員)

② 研究項目

- ・窒素固定バクテリアと窒素固定クレード植物の相互作用解析
- ・イチゴの根に内生する窒素固定細菌の探索

(6)「鹿児島大」グループ(鹿児島大学)

① 主たる共同研究者:内海 俊樹 (鹿児島大学 学術研究院理工学域、教授)

② 研究項目

- ・窒素固定バクテリアの開発
- ・窒素固定バクテリアと窒素固定クレード植物の相互作用解析

(7)「静岡大」グループ(静岡大学)

① 主たる共同研究者: 富永 晃好 (静岡大学 学術院農学領域、助教)

② 研究項目

- ・イオンビーム照射によるイチゴ突然変異体のスクリーニング
- ・イチゴ突然変異体の特性評価

§2. 研究開発成果の概要

マメ科植物は窒素固定菌を細胞内に取り込み大気中の窒素をアンモニアに変換し、窒素栄養として利用することができる。窒素固定共生を行う植物は、マメ科植物のみならず、ブナ目、バラ目、ウリ目の植物にも存在している。窒素固定クレードと呼ばれるこれらの植物群のゲノム解析から、これらの共通祖先で共生能が確立され、その後このクレードの多くの種は遺伝子機能の欠失により共生能を失ったと推定されている。このような背景から、本研究では、窒素固定クレードに属するイチゴ(バラ目)とカスミヒメハギ(マメ目)を対象として、進化の過程で失われた共生関連遺伝子群を解明し、それらの遺伝子群を戻す“復元”(リコンストラクション)のアプローチで窒素固定共生能を非マメ科植物に付与することを目指している。

2022 年度は、新たに解読したカスミヒメハギのゲノム情報を加えてシntenシーベースの比較ゲノム解析を実施した。その結果、共生能の獲得に重要な 81 遺伝子のなかで、窒素固定能を失った窒素固定クレード植物で共通して欠失している遺伝子として *NIN* と *RPG* が検出された。そこで、これらの遺伝子を導入するためのコアベクターを構築するとともに、毛状根形質転換系を用いてイチゴ、カスミヒメハギに導入する技術を確立した。また、これらの遺伝子を導入したイチゴでの遺伝子発現解析を行い、ミヤコグサにこれらの遺伝子を過剰発現した場合に転写誘導される遺伝子の一部がイチゴでも誘導されることを見出した。

菌側からのアプローチでは、広宿主域の根粒菌を接種したイチゴとカスミヒメハギについて遺伝子発現解析を実施した結果、防御反応に関する遺伝子の発現は誘導されず、窒素固定クレード植物にとって根粒菌は排除対象でない可能性が示された。また、イチゴとカスミヒメハギに保存されている共生関連遺伝子の一部が発現誘導されており、共生に伴う遺伝子制御系の一部が保存されている可能性も示された。

【代表的な原著論文情報】

Phenolic acids induce Nod factor production in *Lotus japonicus*-*Mesorhizobium* symbiosis. Shimamura M, Kumaki T, Hashimoto S, Saeki K, Ayabe SI, Higashitani A, Akashi T, Sato S, Aoki T. *Microbes Environ.* 37:ME21094 (2022).

Lotus japonicus NLP1 and NLP4 transcription factors have different roles in the regulation of nitrate transporter family gene expression. Nishida H, Suzaki T. *Genes & Genetic Systems* 97: 257-260 (2022)

The effects of ERN1 on gene expression during early rhizobial infection in *Lotus japonicus*. Meng L, Hiromu K, Akiko O, Taro M, Takashi G, Koji Y, Takashi S, Masayoshi K. *Frontiers in Plant Science* 13: 995589 (2023).