



研究ノート

ダイズ根粒菌の植物ホルモン合成酵素遺伝子の単離

関根政実*

1. はじめに

根粒菌はマメ科植物に感染して根粒を形成し、その中で空中窒素固定を行なう。根粒が形成される過程は非常に複雑で、植物と根粒菌双方の多くの遺伝子が関与する。多くの場合、根粒菌は宿主マメ科植物の根毛の先端に付着し、根毛の著しい変形を引き起こす。変形した根毛付近から管状構造の感染糸が形成され、根粒菌はその中に侵入して、感染糸が根の皮層組織に伸長するのに伴って増殖しながら進入する。感染糸が行きついた皮層組織細胞内に根粒菌は放出

2. IAM経路の検出

インドール酢酸 (IAA) は天然オーキシンで、植物の多種多様な生理現象に重要な作用をもつ植物ホルモンである。IAAはトリプトファンから数種の経路により合成される。この中でトリプトファンからインドールアセトアミド (IAM) を経て IAA を合成する IAM 経路は、植物には見出されておらず、バクテリアに存在するユニークな経路である (図1)。しかも、最近植物病原菌の病原性に IAM 経路が重要な役割りを果たしていることが判明し³⁾、注目を集め

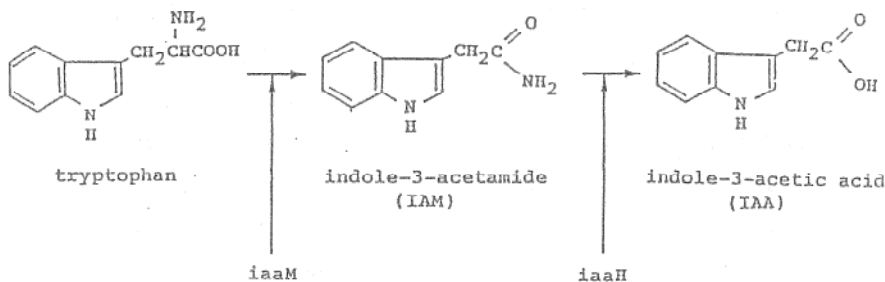


図1 IAM経路. トリプトファンから *iaaM* 遺伝子 (トリプトファン2-モノオキシゲナーゼ) により IAM に変換され、IAM は *iaaH* 遺伝子 (IAM ヒドロラーゼ) により IAA に変換される

され、バクテロイドと呼ばれる共生体に変化して窒素固定を行なうようになる。この現象は、植物とバクテリアとの相互作用を通して植物の形態形成や細胞認識機構の解明につながることから、古くから多くの研究者の興味を引きつけている¹⁾。本稿では、著者が博士過程で行なったダイズ根粒菌からの植物ホルモン合成酵素遺伝子のクローニングの研究²⁾を中心に紹介する。

ている。根粒菌は *Rhizobium* 属と *Bradyrhizobium* 属に大別されている。根粒菌においては、それまで IAM 経路は見出されていなかったが、著者はそれまでの IAA に関する研究が *Rhizobium* 属でしか行なわれていなかったことに着目し、*Bradyrhizobium* 属を用いて、ダイズ菌など *Bradyrhizobium* 属のほとんどの菌株に IAM 経路が存在することを証明した⁴⁾。

3. IAM ヒドロラーゼ遺伝子のクローニング

さて、*Bradyrhizobium* 属に IAM 経路が存在

*関根政実 (Masami SEKINE), 大阪大学醸酵工学科, 助手, 理学博士, 植物分子生物学

することが判明したことから、IAM経路の中のIAMをIAAに変換するIAMヒドロラーゼ遺伝子のクローニングを試みた。IAMヒドロラーゼ活性をもつダイズ菌 *B. japonicum* J 1063株のコスミドライブラリーを作成し、活性のない菌株に導入して活性が回復したクローンを単離する方法によりIAMヒドロラーゼ遺伝子をクローニングした²⁾。Tn5マッピングとdeletionの結果から、ダイズ菌のIAMヒドロラーゼは465アミノ酸からなる分子量約50kDaのタンパク質をコードすることが判明した(図2)⁵⁾。また、植物病原菌 *Agrobacterium tumefaciens* と *Pseudomonas savastanoi* のIAMヒドロラーゼと比較したところ、これらの中央領域付近に非常に相同性の高い領域が存在することが明らかとなった(図3)⁶⁾。

4. IAM経路を発現する *Rhizobium* 属の菌株の単離

前述したとおり、これまで *Rhizobium* 属の根粒菌にはIAM経路は見出されていなかったが、著者らは *Rhizobium* 属の菌株にもIAM経路が存在することを見出した⁶⁾。このきっかけとなったのは、ダイズ菌からクローニングしたIAMヒドロラーゼ遺伝子をプローブとして、*Rhizobium* 属の菌株との相同性をSouthern hybridizationにより解析した結果、かなり相同性が高い領域をもつエンドウ菌 *R. leguminosarum* K5株が見つかったことである。その菌株では遺伝子は存在するが発現が抑制されている可能性が考えられ、5-メチルトリプトファン耐性株を選抜したところ、IAMヒドロラーゼ活性が発現している菌株が見つかった⁶⁾。この結果は、*Rhizobium* 属にもIAM経路が存在し、そ

の中には発現が抑制されているものもあることを示し、IAM経路が根粒菌に広く分布することを示唆する。今後は、根粒菌の感染過程でIAMヒドロラーゼの発現抑制が解除されないかなど興味深い課題が残されている。

5. おわりに

このように、著者は根粒菌にIAM経路が存在し、その遺伝子をクローニングしたが、IAM経路が根粒形成過程にどのような働きをしているかはわかっていない。根粒菌が作るIAAが根粒形成を誘起する皮層組織の細胞分裂を直接引き起こす可能性も考えられる。植物の生理現象に重要な作用を示す植物ホルモンをバクテリアが合成し、植物とバクテリアとの相互作用に深く関わっていることはバクテリアの戦略上非常に興味深い。

参 考 文 献

- 1) S. R. Long, Cell, 56, 203 (1989) .
- 2) M. Sekine, K. Watanabe, and K. Syōno, J. Bacteriol., 171, 1718 (1989) .
- 3) R. O. Morris, Annu. Rev. Plant Physiol., 35, 509 (1986) .
- 4) M. Sekine, T. Ichikawa, N. Kuga, M. Kobayashi, A. Sakurai, and K. Syōno, Plant Cell Physiol., 29, 867 (1988) .
- 5) M. Sekine, K. Watanabe, and K. Syōno, Nucl. Acids Res. 17, 6400 (1989) .
- 6) M. Kawaguchi, M. Sekine, and K. Syōno, Plant Cell Physiol., 31, 449 (1990) .