

**ダイズイソフラボンの根外への分泌と根圏での蓄積に関する研究**  
**Study on isoflavone secretion from soybean roots and its accumulation in the**  
**rhizosphere**

松田 陽菜子

京都大学大学院 農学研究科 応用生命科学専攻

イソフラボンはダイズ (*Glycine max*) 等のマメ科植物に多く含まれる植物特化代謝物である。ダイズが生産する主要なイソフラボンであるダイゼインは、ファイトアレキシンであるグリセオリンの前駆体であり、また窒素固定細菌である根粒菌と共生関係を構築するシグナルであることが 35 年以上前から知られてきた。さらに近年、ダイゼインがダイズの根圏細菌叢の形成に関与する主要な化合物であることも示唆された。以上から、イソフラボンはダイズが生物的・非生物学的ストレスから身を守るために非常に重要な化合物であるとみなされている。しかしながら、そもそもダイズが根圏へイソフラボンをどのように分泌しているかは十分に明らかにされていない。そこで本研究では、ダイズ根圏へのイソフラボン分泌機構の解明を目的とし、その分泌量の変動パターンを調べるとともに、分泌関連酵素の探索と機能解析を行った。

### **1. ダイズイソフラボンの根での生合成と根外への分泌の日周期性**

シロイヌナズナ根圏細菌叢は日周期で変動し、その日周期性には根分泌性化合物が寄与する。ダイズ根圏細菌叢形成に寄与するダイゼインの分泌の日周期性については未検証であった。そこで、本研究ではダイゼイン分泌の日周期性を調べることを目的として、無菌水耕栽培で育てたダイズの葉、根、水耕液を 6 時間毎に 48 時間にわたりサンプリングし、葉と根は RNA-seq とイソフラボン定量、水耕液はイソフラボン定量に供した。RNA-seq の結果、イソフラボン生合成遺伝子群の根での発現量は、昼 12 時頃に最も高くなり、夜 0 時頃に最も低くなることを発見した<sup>[1]</sup>。さらに、根のダイゼイン含量は、生合成遺伝子群の発現量のピークから約 6 時間遅れた日周変動パターンを示すことを明らかにした。本研究でダイズ根のイソフラボン生合成の日周期性を明らかにしたことは、系統的に近縁なマメ科植物の（イソ）フラボノイド代謝研究においてサンプリング時間を留意する必要性があることを示したことに意義がある。意外なことに、根のダイゼイン含量が日周変動するのに対し、水耕液のダイゼイン含量には日周期性が認められなかった。この結果は、根外へのダイゼイン分泌が単純拡散ではなく能動的に制御されていることを示したものである。

分泌関連酵素として、日周期でイソフラボン生合成遺伝子と協調して発現していた 2 個の ATP-binding cassette (ABC) 輸送体と、相補的な日周発現パターンを示した isoflavone conjugate-hydrolyzing  $\beta$ -glucosidase (ICHG) に着目し、後述の解析

を行った。

## 2. 根圏のダイゼイン蓄積量を増やす根アポプラスト局在の $\beta$ -グルコシダーゼ

ダイズ根圏において、イソフラボンは主に非配糖体であるダイゼインとして蓄積する。アポプラスト局在の ICHG は、大腸菌発現酵素でダイゼイン配糖体を基質としたことから、根外へのダイゼイン分泌に関与すると予想されてきたが、未証明であった。そこで本研究では、ダイズ変異体ライブラリーから得た ICHG 活性が完全に欠損した変異体を用いて、逆遺伝学的に機能解析を行った。ダイズ根のアポプラスト画分を解析した結果、*ichg* 変異体においてダイゼイン量が減少、その配糖体量が増加しており、ICHG が根アポプラストにおいて配糖体を脱配糖化し、ダイゼインを生成することが初めて実験的に示された<sup>[2]</sup>。さらに、圃場栽培の *ichg* 変異体の根と根圏土壌の解析を行ったところ、根・根圏土壌の双方でダイゼイン量が減少していた一方で、その配糖体量には増加が認められなかった。ダイゼインを多く含有する根圏土壌ではイソフラボン類の総含量の減少が認められた。以上の結果から、ICHG は根外へのイソフラボン分泌に関与し、根圏でのイソフラボン蓄積量を増加させることが明らかになった。これはアポプラスト局在の  $\beta$ -グルコシダーゼが植物特化代謝物の根外分泌に関与することを初めて示したものであり、また、実際の作物の栽培環境である圃場での実験で示した点に価値がある。一方、根内・根圏の細菌叢や根粒共生については ICHG 欠損の影響が見出されなかった。

一般に植物は、無毒化や安定性の向上のため、生産した特化代謝物を配糖化して貯蔵する。それに対し、植物根圏では、(イソ)フラボノイドだけでなく、クマリン、トリテルペノイド、ベンゾキサジノイド、そしてグルコシノレートなど、多くの特化代謝物が糖の外れた状態で存在する。このことから、本研究が明らかにした脱配糖化による特化代謝物の根圏蓄積量の増加は、他の特化代謝物や植物種にも共通する可能性が高い。本研究成果は、今後の研究で「植物特化代謝物の根圏への分泌機構」や「根圏での植物特化代謝物の機能」について理解を深めていくことにつながると考えられる。現在、日周期でイソフラボン生合成遺伝子と協調的に発現していた ABC 輸送体遺伝子について、異種発現系を用いたイソフラボン輸送能の生化学的な評価を行っている。

## 謝辞

本研究を遂行するにあたりご指導いただいた京都大学杉山暁史准教授をはじめとする諸先生方、そしてご支援を賜りました共同研究者の皆様に厚く御礼申し上げます。

## 関連文献

1. Matsuda et al. (2020) *Plant Direct* 4(11), e00286
2. Matsuda et al. (2023) *Plant and Cell Physiology*, 64(5), 486–500