

平成 2 6 年 6 月 2 6 日現在

機関番号：8 2 1 1 2

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：2 3 5 8 0 0 9 5

研究課題名（和文）マメ科植物の窒素固定共生の制御における植物・微生物間相互作用の解析

研究課題名（英文）Characterization of plant-microbe interactions in the regulation of symbiotic nitrogen fixation of the legumes

研究代表者

梅原 洋佐（Umehara, Yosuke）

独立行政法人農業生物資源研究所・植物共生機構研究ユニット・主任研究員

研究者番号：0 0 3 9 1 5 5 8

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,200,000 円、（間接経費） 1,260,000 円

研究成果の概要（和文）：マメ科植物と根粒菌の共生窒素固定能の制御に関わる宿主植物因子とその機能の解明を目指し、根粒特異的に発現する遺伝子の解析を行った。根粒を形成し根粒菌の細胞内共生も成立するが、窒素固定活性に異常を示すミヤコグサFix-変異体Ljsym104の原因遺伝子のプロテアーゼ活性が検出され、根粒中でプロテアーゼとして機能することが示唆された。また、Nod65について、根粒特異的に発現が誘導され接種後8日目でも最も高い発現が見られることと、RNAi植物で根粒着生数が減少したことから、本遺伝子がマメ科植物根粒における植物細胞からバクテロイドへの有機酸トランスポーターである可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：To clarify the function of the host plant genes involved in the nitrogen fixation activity, three genes of *Lotus japonicus* were characterized. LjSym104 is a causal gene of a Fix- mutant for root nodules with defect in nitrogenase activity with *M. loti* Tono strain. LjSym104 codes a putative aspartic proteinase. LjSYM104 peptide showed proteinase activity inhibited by Asp proteinase inhibitor. The genes with mutation in the active centers did not complemented Ljsym104 mutant. These data indicated that Asp proteinase activity is essential to the function of LjSym104.

Dct1 coding an anion transporter expresses in the uninfected cells of the nodules. RNAi plants did not show any defects of the nodulation. The another gene Nod65 was induced in the nodules at 8 days post inoculation and RNAi plants formed less number of the nodules than wild type plants, which indicated the possibility that this gene could work as a transporter traffic the organic acids from the host to the bacteroids.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・植物栄養学・土壌学

キーワード：窒素固定 マメ科植物 根粒菌 細胞内共生

1. 研究開始当初の背景

マメ科植物と根粒菌の共生による窒素固定は、高等植物と微生物という2種の生物の相互作用によってもたらされる複雑な生物現象である。根粒菌は土壤中に単生で生息するときに窒素固定を示すことはなく、宿主植物の根粒細胞内で、植物原形質膜に由来する膜構造によって植物細胞質と隔離され(シンビオゾーム)、増殖を停止し、バクテロイドと呼ばれる共生に特異的な形態に分化して、はじめて窒素固定活性を発現する(Fig.1)。

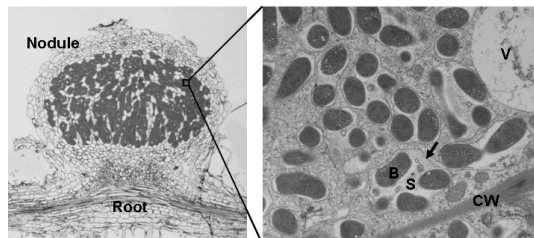
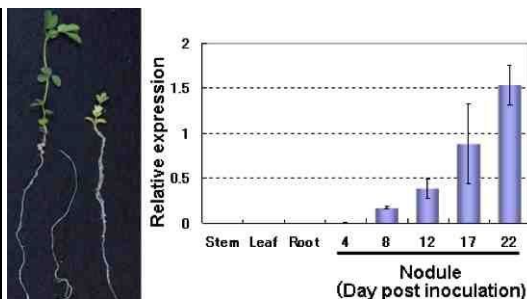


Fig.1 ミヤコグサ根粒(左)と感染細胞(右). B,バクテロイド; S,シンビオゾーム; CW,細胞壁; V,液胞.

こうした根粒菌の細胞内共生体(バクテロイド)化のプロセスと窒素固定活性の発現も、宿主植物細胞との厳密に特異的な相互作用によって支配されていると考えられる。また、バクテロイドの窒素固定を支えるために、宿主根粒細胞内には特異的な代謝系やその輸送システムが発達する。

近年、ミヤコグサなどのマメ科モデル植物の分子遺伝学的研究基盤が整備された結果、根粒菌の生産する共生シグナル物質(Nodファクター)の受容体や、それに引き続く初期シグナル伝達系を構成する植物遺伝子が相次いで単離され、宿主植物と根粒菌の特異的な相互認識と初期相互作用のメカニズムが急速に解明されつつある。しかしながら、根粒菌のバクテロイドへの分化、窒素固定活性の制御等にかかわる宿主因子や相互作用のメカニズムについてわかっていることは非常に少ない(Kouchi et al. 2010)。

根粒形成、細胞内共生ともに一見正常に行われるものの、窒素固定活性をまったく、あるいはほとんど発現しない植物変異体(Fix⁻変異体)は、根粒菌のバクテロイド化・窒素固定共生系の構築と、その維持に関与する宿主因子を明らかにするための有効な研究材料である。我々は、これまでに、マメ科モデル植物ミヤコグサから多くのFix⁻変異体を分離し解析を進めてきた(Hossain et al. 2006)、(Sandal et al. 2006)、(Kumagai et al. 2007)。本研究では第1にそのようなFix⁻変異体の一つとして提案者らによって原因遺伝子が根粒においてのみ発現するAspartic proteinaseと同定された*Ljsym104*変異体(Fig.2)を対象として、同遺伝子の窒素固定共生における機能解明を目指す。第2に、ミヤコグサゲノム情報を利用して発見されたジカルボン酸トランスポーター遺伝子



(DCT1)について、提案者は最近これが上記Aspartic proteinaseと同様、根粒においてのみ特異的に発現することを見いだした。細胞内共生する根粒菌は宿主細胞から供給されるジカルボン酸(主にリンゴ酸)を炭素源として、窒素固定反応を行う(Tajima and Kouchi 1996)。そのため、このジカルボン酸トランスポーターは共生窒素固定の成立において中核的な役割を果たしている可能性が高い。そこで、本遺伝子およびその産物について分子生物学的、生化学的手法による解析を行い、その役割を明らかにしたい。

2. 研究の目的

マメ科植物と根粒菌の共生窒素固定の有効利用の道を探るため、共生窒素固定能の制御にかかわる宿主植物因子およびそれらによって成り立つ植物・微生物間相互作用の解明を目指す。本研究では、根粒を形成し根粒菌の細胞内共生も成立するが窒素固定活性に異常を示すミヤコグサFix⁻変異体*Ljsym104*の原因遺伝子として単離された根粒特異的なAspartic proteinaseが、根粒菌の細胞内共生体(バクテロイド)化、バクテロイドを含む共生特異的な細胞内小器官であるシンビオゾームの形成に果たす役割の分子生物学的解明、およびバクテロイドの窒素固定活性を支える根粒特異的なジカルボン酸トランスポーター遺伝子の機能解析を実施する。

3. 研究の方法

(1) *Ljsym104*の解析

本研究に以下の植物と根粒菌を使用した。ミヤコグサ(*Lotus japonicas*) accession B-129 "Gifu" (Handberg and Stougaard 1992)、MG-20 "Miyakojima" (Kawaguchi et al. 2001)、Miyakojima由来の再生個体から単離した根粒は形成するが窒素固定能に異常があるFix⁻変異体*Ljsym104* (Sandal et al. 2006)。ミヤコグサ根粒菌 *Mesorhizobium loti* MAFF303099株 (Kaneko et al. 2000)、Tono株 (Kawaguchi et al. 2002)。

A. 根粒菌(*M. loti* TONO)接種後8日目と12日目のMG-20と*Ljsym104*の根粒を樹脂包埋し、光学顕微鏡と電子顕微鏡を用いて根粒細胞を観察した。

B. 根粒菌の菌株の違いが*Ljsym104*の窒素

固定活性に与える影響を調べるため、*Ljsym104* に *M. loti* MAFF303099 と TONO の 2 種類の根粒菌をそれぞれ接種し、21 日後に、地上部・根部新鮮重、根粒数、根粒新鮮重、アセチレン還元活性を測定した。



Fig.3 LjSYM104 の構造

C.SYM104(-SP) (シグナルペプチドと推定される部分を除いた 25 番目から 441 番目のアミノ酸残基を含む (Fig. 3) 断片を、マルトース結合蛋白 (MBP) の C 末側に融合させ、pCold 低温誘導系 (TakaraBio.Ltd) を用いて大腸菌で発現させた。得られたペプチドを精製後、ゲル濾過にかけ、活性の見られた画分を実験に用いた。pH 等至適条件を検討し、阻害剤の種類と活性の関係を調べた。

D.Asp proteinase の活性中心と推定される部位 (Fig. 3) の D (アスパラギン酸) を N (アスパラギン) に置換した変異遺伝子を、毛状根形質転換で *Ljsym104* に導入、*M. loti* Tono 菌を接種し、根粒の表現型を調べた。

E.SYM104 と 相 同 性 の 高 い *Arabidopsis thaliana* の CDR1 遺伝子 (Xia et al. 2004) について、毛状根形質転換で *Ljsym104* に導入し、*M. loti* Tono 菌接種後 4 週間目で、窒素固定活性を調べた。

F.根粒での LjSYM104 遺伝子の発現部位を調べるため、プロモータ GUS 及び in situ hybridization を行った。

G.大腸菌 BL21 株に合成させた SYM104(-SP) (25 番目~441 番目アミノ酸残基) (Fig.3) 断片を抗原とし、スクラム社に委託して、得られた血清からアフィニティ精製を行ない、ウサギ由来の抗 SYM104 ポリクローナル抗体とした。

H.ミヤコグサ根粒菌 Tono 株接種後 4 週目のミヤコグサ MG-20 の根粒を採取し、抗 SYM104 抗体を反応した後、2 次抗体として FITC 抗ウサギ IgG を反応させ、共焦点レーザー蛍光顕微鏡 (SP-5; Leica) で観察した。

I. *LjSym104* (1-441 アミノ酸) と sGFP (Niwa et al. 1999) あるいは mCherry (Shaner et al. 2004) との融合遺伝子を作成し、pUb-gw-Hyg ベクター (Maekawa et al. 2008) に挿入し、毛状根形質転換で *Ljsym104* 変異体に導入し、形成された根粒の切片を共焦点レーザー蛍光顕微鏡 (SP-5; Leica) で観察した。

(2) 根粒特異的トランスポーターの解析

マメ科植物根粒における共生窒素固定に関わる宿主植物側の代謝制御機構を明らかにする目的で、根粒特異的に発現するトランスポーター候補遺伝子の機能解析を行った。先に行ったミヤコグサ根粒のトランスクリプトーム解析 (Kouchi et al. 2004) の結果等に基づき、根粒の窒素固定の開始時に発現量が増加するトランスポーター遺伝子につい

て、毛状根形質転換系を用いた RNAi による Knock down を行い、根粒の窒素固定に与える影響をみた。このために、毛状根 RNAi のための汎用 Gateway ベクターを作成した。発現解析はプロモータ::GUS および Real-time RT-PCR によった。

4. 研究成果

(1) *LjSym104* の解析

Ljsym104 変異体の根粒は、光学顕微鏡で見たところ、接種後 8 日目で、感染細胞にバクテロイドが侵入しているが、Fig. 4a の野生型と比べ、細胞内の密度はまばらであり、濃く染色されるひしゃげた部分が存在する (Fig. 4b)。電子顕微鏡観察により、*Ljsym104* の感染細胞にも細胞小器官のほかに野生型 (Fig. 4c) と同様のバクテロイドが存在することが確認され、*Ljsym104* は根粒菌の感染、共生成立までの過程には問題が生じていないことが示唆された (Fig. 4d) が、接種後 8 日目の時点で、バクテロイドが分解性の液胞と推定される構造に飲み込まれている像が観察されており (Fig. 4e)、感染細胞の崩壊は始まっていると考えられる。また、ひしゃげた形状を示す部分は、細胞外の構造ではなく異常を来した感染細胞であった (Fig. 4f)。

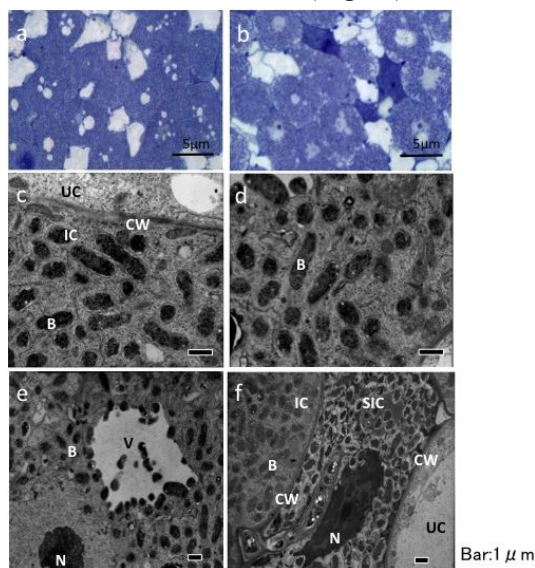


Fig.4 ミヤコグサ根粒の切断面顕微鏡像。光学顕微鏡像 12dpi 1μm 厚 トルイジンブルー染色 a: MG-20、b: *Ljsym104* 電子顕微鏡像 c: 野生型 MG-20 8dpi、d、e: *sym104* 変異体、8dpi、f: *sym104* 変異体 12dpi。B: バクテロイド、IC: 感染細胞、SIC: 収縮した感染細胞、UC: 非感染細胞、CW: 細胞壁、N: 核、V: 液胞。Bar、a, b: 5 μm、c-f: 1 μm。

Ljsym104 は *M. loti* MAFF303099 株接種時は野生型である MG20 と同程度の生育を示し (Fig. 5a)、形成される根粒の外見 (Fig. 5b) とアセチレン還元活性も野生型と同様であった (Fig. 5c)。このことから、*Ljsym104* は Tono 株接種時に表現型を示す Fix-変異体であることが示された。

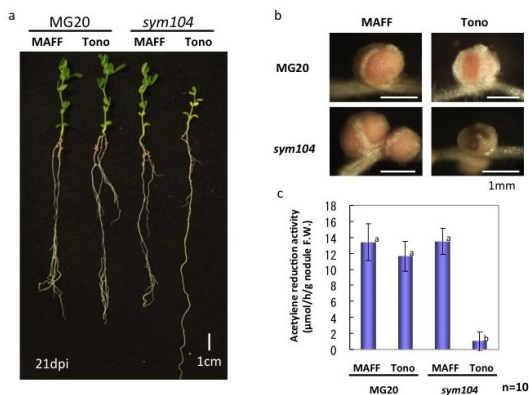


Fig.5 *Ljsym104* 変異体は、Tono 株で Fix-変異体の形質を呈する。a. *M. loti* MAFF303099, Tono 株を接種して 21 日後のミヤコグサ植物体。b. 接種後 21 日目の根粒。c. 接種後 21 日目の根粒新鮮重当たりアセチレン還元活性。

LjSYM104 と MBP との融合蛋白(Fig.6a)を作成し、これを用いて、自己分解活性を示す条件を検討したところ、pH3.5-6.0 で活性を検出した(Fig.6b)。また、自己分解はセリンプロテアーゼ阻害剤 PMSF では阻害されず、Asp プロテアーゼ阻害剤の Pepstatin では阻害されたことから、LjSYM104 は Aspartic proteinase の活性を有することが示唆された(Fig.6c)。

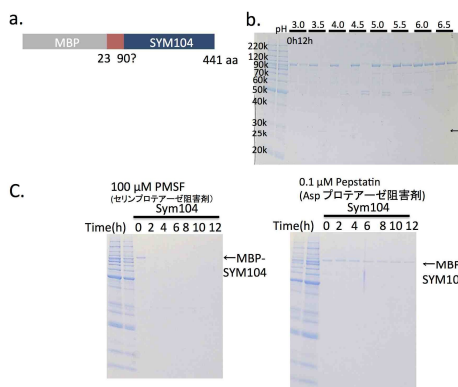


Fig.6 SYM104 の活性確認 a. MBP と SYM104 融合蛋白の模式図。b. pH による自己分解活性の検定。c. PMSF と pepstatin による SYM104 自己分解活性の阻害。

次に、活性中心のアスパラギン酸をアスパラギンに変えるとプロテアーゼ活性が失われると予想されることから、LjSYM104 の活性中心に変異を入れた遺伝子を作成し、*Ljsym104* に導入したところ、変異体の形質を相補する能力が失われることが示された(Fig.7)。このことから、本遺伝子が機能するためには、プロテアーゼ活性を有することが必要であることが示唆された。

LjSYM104 と高い類似性を有し耐病性に関与することが示されているシロイヌナズナの CDR1 遺伝子が、LjSYM104 と機能的な共通点を有するかを調べるため、*Ljsym104* 変異

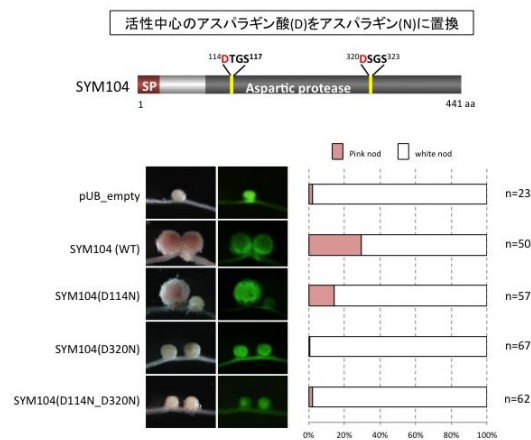


Fig.7 活性中心に変異を導入した *LjSym104* による相補性試験。Asp proteinase の活性中心と考えられる D (アスパラギン酸) を N (アスパラギン) に置換した変異遺伝子を *Ljsym104* に導入して形成される根粒の性質。有効根粒の形成が野生型を導入した場合の半分以下。

体を相補するかどうか検証した。ユビキチンプロモーターと CDR1 遺伝子 (ATG-STOP) とを連結したもの、CDR1 シグナルペプチド部分を LjSYM104 のシグナルペプチドと推定される部分 (ATG-24 アミノ酸残基分) と交換した SYM104SPCDR1AP をユビキチンプロモーターと連結したものの (Fig.8a) がいずれも変異体を相補した (Fig.8b、c、d) ことから、LjSYM104 は細胞外に分泌されプロテアーゼとして機能している可能性が示唆された。実際に LjSym104 遺伝子産物が根粒のどの部分で働いているかを明らかにするために、大腸菌で大量発現させた SYM104 (-SP) タンパク質を抗原としてポリクローナル抗体を作成した。Western Blot では有用であることを確認したが、根粒切片を用いた免疫組織化学ではシグナルは検出できていない。また、SYM104:GFP 及び SYM104:mCherry を毛状根形質転換系により導入したミヤコグサ根粒では、融合蛋白の蛍光は検出できておらず、これまでのところ SYM104 の遺伝子産物の局在は明らかにできていない。

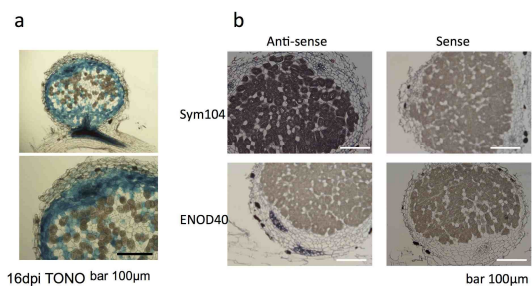


Fig.9 *LjSym104* 発現解析 a. *LjSym104* promoter::GUS b. *LjSym104* の in situ hybridization

LjSym104 遺伝子の発現場所を明らかにするために、プロモーター::GUS を毛状根形質

転換系によりミヤコグサ根に導入したところ、根粒の非感染細胞で発現が示された (Fig.9a)。また、in situ hybridization では、右側の Sense プローブではシグナルが検出されてされていないが、下段の Enod40 の Anti-sense プローブでは根粒の維管束に、上段の *LjSym104* では感染細胞にシグナルが検出されており、感染細胞で発現している可能性が示唆された (Fig.9b)。局在については今後さらに検証が必要である。

また、*Ljsym104* は Fix+ の形質を示す *M. loti* MAFF303099 株接種時と Fix- の形質を示す Tono 株接種時に根粒の代謝に生じている差異を調べるために、野生型の MG-20、Gifu 及び *Ljsym104* に対して、それぞれ MAFF303099 株と Tono 株を感染させて形成した根粒に関して、インプラントイノベーション社に委託し GC-MS でメタボローム解析を行った。その結果、菌株特有の物質のピークや窒素固定活性の有無と相関の深いピーク等が検出されたが、これらのピークが具体的にどのような物質に相当するかを明らかにすることはできなかった。

今後の課題として、遺伝子産物の局在の解明、酵素活性の確定、基質の探索を行うとともに、表現型の違いをもたらす根粒菌側の因子の同定と機能解明を進める予定である。

(2) 根粒特異的トランスポーターの解析

本研究で対象としたトランスポーター候補遺伝子はジカルボン酸トランスポーターと目される *LjDCT1* およびペプチドトランスポーターのファミリーに属する Nod-65 の 2 種類である。

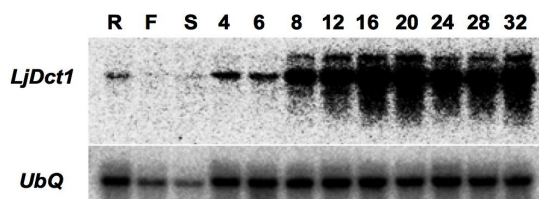


Fig.10 *LjDCT1* の Northern blot hybridization. RNA の由来 R : 非感染根、F : 花、S : 茎、4,6,8,12,16,20,24,28,32, 根粒菌感染根(4,6,8)、根粒 (12 日目以降)。数字は *Mesorhizobium loti* TONO 株接種後の日数。Ubiquitin (UbQ) を RNA 量と強度の指標として使用。

○ DCT1 の解析

DCT1 はミヤコグサゲノム解析の過程で見いだされた遺伝子で、有機酸(ジカルボン酸)トランスポーターのファミリーに属する膜タンパク質をコードしている。本遺伝子の発現は根で弱く見られるものの、根粒に特異的であった (Fig.10)。さらに、本遺伝子のプロモーター領域およそ 3kbp を β -グルクロニダーゼ (GUS) 遺伝子と融合し、ミヤコグサ毛状根に導入して発現部位を解析した結果、根

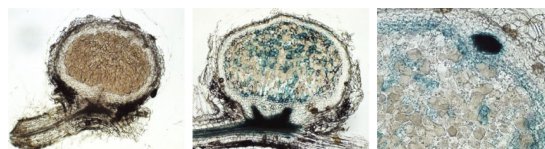


Fig. 11 *LjDCT1* プロモーター::GUS アッセイ. 左図、空ベクター、中央と右図 *LjDCT1* プロモーター GUS. 強い活性が根粒の維管束に見られ、非感染細胞に弱い活性が見られる。

粒維管束系にきわめて強い GUS 活性が見られ、また根粒の非感染細胞にも活性が認められた (Fig.11)。

次に、*LjDCT1* mRNA の RNAi コンストラクトを作成し、毛状根形質転換によってミヤコグサ根に導入して、毛状根の根粒形成および窒素固定活性を調べた。しかしながら、DCT1 の様々な領域を含む RNAi 実験のいずれにおいても Empty vector によるコントロールに比べて、有意な窒素固定活性の差を認めることはできなかった。本遺伝子については、LORE1 の挿入によるノックアウト変異体が存在したが、種子がとれず、解析を中断した。

○ Nod-65 の解析

Nod-65 はミヤコグサ根粒に特異的な遺伝子として、Differential screening によってクローニングされた (Szczyglowski, et al.1997)。

Nod-65 は peptide transporter のファミリーに属する 10 回膜貫通型のタンパク質をコードしていると推定される。Alder の根粒に特異的な有機酸トランスポーターが同じ peptide transporter ファミリーに属すること (Jeong et al. 2004) から、Nod-65 がマメ科根粒における有機酸トランスポーターではないかと考え、発現解析と RNAi 実験を行った。

Nod-65 のコードするタンパク質は、シロイヌナズナの peptide transporter である AtPTR2-B とアミノ酸配列の相同性が高い。Nod-65 の発現を real-time RT-PCR で見ると、根粒菌接種後 8 日目にきわめて高い発現量となり、根粒の生育に伴って発現量はむしろ減少する傾向にあった (Fig. 12)。

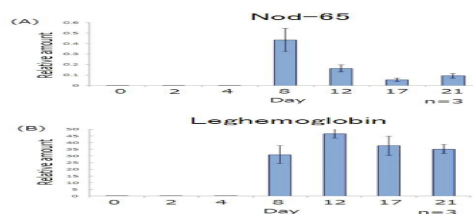


Fig 12 *M. loti* 接種後の RT-PCR による Nod-65 の発現解析。接種後 2 日目、4 日目感染根、8 日目以降は根粒由来のトータル RNA

非感染根での発現はほとんど認められず、Nod-65 はいわゆる late-nodulin に区分されるが、その発現パターンは窒素固定活性の発現の直前の時期に最大となるユニークなパターンであると言える。その結果、RNAi 形質転換根に着生した根粒は、非形質転換根に比

べて、白または薄ピンク色で(Fig. 13a,b)、アセチレン還元活性も有意に低下していた(Fig. 13c)。

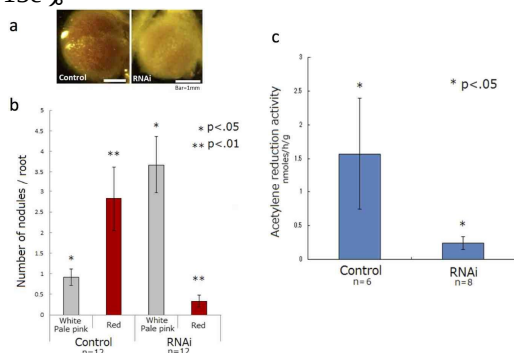


Fig 13a. 赤い根粒と白い根粒

b. Nod-65-RNAi 形質転換根の赤い根粒と白い根粒の数。バーはS.E. c. RNAi 根のアセチレン還元活性。バーはS.E.

これらの結果は、Nod-65 が根粒の窒素固定活性の発現に必須の役割を果たしていることを強く示唆するものである。また、もっとも高い発現量を示す8日目は、活発にバクテロイドを囲むシンビオゾーム膜が生合成される時期と一致することから、Nod-65 はシンビオゾーム膜に局在する可能性が高いと推測している。現在、Promoter::GUSを用いた発現解析を進めるとともに、GFP融合タンパクを用いた根粒細胞内での局在解析を準備している。一方、ミヤコグサの内在性レトロポゾン LORE1 の Nod-65 挿入系統が得られたので、そのホモ系統を選抜し、現在表現型解析を行っているところである。

(reference)

- Handberg, K. and Stougaard, J. (1992) *Plant J.* 2: 487-496.
- Hossain, M.S., Umehara, Y. and Kouchi, H. (2006). *Mol. Plant Microbe Interact.* 19: 780-788.
- Jeong, J., Suh, S., Guan, C., Tsay, Y.-F., Moran, N., Oh, C.J., et al. (2004) *Plant Physiol* 134: 969-978.
- Kaneko, T., Nakamura, Y., Sato, S., Asamizu, E., Kato, T., Sasamoto, S., et al. (2000) *DNA research* : 7: 331-338.
- Kawaguchi, M., Motomura, T., Imaizumi-Anraku, H., Akao, S. and Kawasaki, S. (2001) *Mol. Genet. Genomics* 266: 157-166.
- Kawaguchi, M., Imaizumi-Anraku, H., Koiwa, H., Niwa, S., Ikuta, A., Syono, K., et al. (2002) *Mol. Plant Microbe Interact.* 15: 17-26.
- Kouchi, H., Shimomura, K., Hata, S., Hirota, A., Wu, G.-J., Kumagai, H., et al. (2004). *DNA Res.* 11: 263-274.
- Kouchi, H., Imaizumi-Anraku, H., Hayashi, M., Hakoyama, T., Nakagawa, T., Umehara, Y., et al. (2010) *Plant Cell Physiol.* 51: 1381-1397.
- Kumagai, H., Hakoyama, T., Umehara, Y., Sato, S., Kaneko, T., Tabata, S., et al. (2007) *Plant Physiol.* 143: 1293-1305.

- Maekawa, T., Kusakabe, M., Shimoda, Y., Sato, S., Tabata, S., Murooka, Y., et al. (2008) *Mol. Plant Microbe Interact.* 21: 375-382.
- Niwa, Y., Hirano, T., Yoshimoto, K., Shimizu, M. and Kobayashi, H. (1999) *Plant J.* 18: 455-463.
- Sandal, N., Petersen, T.R., Murray, J., Umehara, Y., Karas, B., Yano, K., et al. (2006). *Mol. Plant Microbe Interact.* 19: 80-91.
- Shaner, N.C., Campbell, R.E., Steinbach, P.A., Giepmans, B.N.G., Palmer, A.E. and Tsien, R.Y. (2004) *Nat Biotechnol* 22: 1567-1572.
- Szczygłowski, K., Hamburger, D., Kapranov, P. and Bruin, F.J.d. (1997) *Plant Physiol.* 114: 1335-1346.
- Tajima, S. and Kouchi, H. (1996) Metabolism and compartmentation of carbon and nitrogen in legume nodules. In *Plant-Microbe Interactions*. Edited by Stacey, G. and Keen, N.T. pp. 27-60. Chapman&Hall, New York.
- Xia, Y., Suzuki, H., Borevitz, J., Blount, J., Guo, Z., Patel, K., et al. (2004) *EMBO J.* 23: 980-988.

発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計1件)

山谷 紘子, 箱山雅生, 佐藤修正, Md Shakhawat Hossain, 柴田哲, 長谷純宏田中淳, 川口正代司, 田畑哲之, 林誠, 河内宏, 梅原洋佐(2011) 根粒菌の菌株依存的にFix-形質を示すミヤコグサ変異体Ljsym104の解析. 植物微生物研究会第21回研究交流会. 岡山大学

6. 研究組織

(1)研究代表者

梅原 洋佐 (UMEHARA, Yosuke)

農業生物資源研究所植物共生機構研究ユニット・主任研究員
研究者番号：00391558

(3)連携研究者

河内 宏 (KOUCHI, Hiroshi)

国際キリスト教大学・教授

研究者番号：50391561

協力研究者

山谷 紘子 (YAMAYA, Hiroko)

農業生物資源研究所外来研究員

下田 宜司 (SHIMODA, Yoshikazu)

農業生物資源研究所植物共生機構研究ユニット・主任研究員

西ヶ谷有輝 (NISHIGAYA, Yuki)

農業生物資源研究所生体分子研究ユニット

箱山雅生 (HAKOYAMA, Tsuneo)

農業生物資源研究所・外来研究員

山崎俊正 (YAMAZAKI, Toshimasa)

農業生物資源研究所生体分子研究ユニット・ユニット長

林 誠 (HAYASHI, Makoto)

農業生物資源研究所植物共生機構研究ユニット・ユニット長