

# シロバナルーピン由来酸性ホスファターゼ遺伝子の解析とリン利用効率改善への応用

生物共生科学講座 根圏環境制御学分野

丸山 隼人

リン鉱石資源の枯渇が懸念される一方で、土壌中にはフィチン酸を含め未利用のリンが多く存在する。これらのリンを効率よく利用することでリン資源の有効利用が可能になり、さらには河川の富栄養化といった環境問題の解決にもつながる。シロバナルーピンは低リン条件で特殊な形状のクラスター根を発達させ、根から有機酸や酸性ホスファターゼの分泌を高めて土壌中で未利用のリンを利用することが知られており、この低リン適応能力を理解し活用することはリンの有効利用に重要であると考えられる。

本研究は、これまでに知られているシロバナルーピン由来の酸性ホスファターゼ遺伝子についてプロモーター領域の解析を行うとともに、クラスター根における酸性ホスファターゼの役割を明らかにすることで、シロバナルーピンの低リン適応能力を解明することを目的とした。さらに、酸性ホスファターゼ遺伝子を他植物へ導入したときの効果の評価も行った。

## 1) *LASAP2*, *LASAP3* 導入タバコのリン利用能力向上効果の評価

シロバナルーピンから単離された根分泌性酸性ホスファターゼ遺伝子 *LASAP2* および発芽種子由来フィターゼ遺伝子 *LASAP3* を導入したタバコのリン吸収能力の向上効果を検証した。フィチン酸施与区、+P 区、-P 区を設けて土耕ポット栽培を行った結果、+P 区とフィチン酸施与区において *LASAP2*, *LASAP3* 導入株の生育が野生株よりも高かった(図1)。リンの吸収量も同様の傾向を示した。これらの結果から、*LASAP2*, *LASAP3* の導入がフィチン酸を含めた土壌中に存在する有機態リン由来のリン吸収能力の向上に効果があることが示唆された。

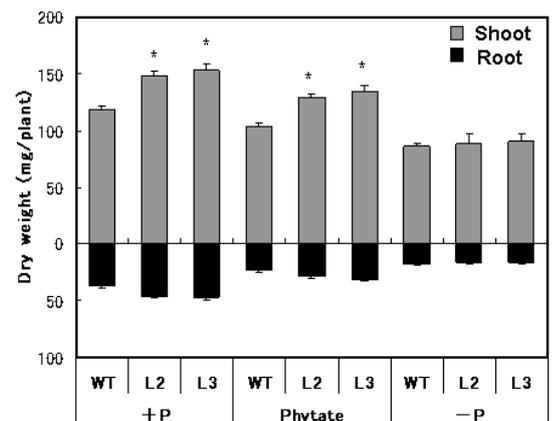


図1 植物体の乾物重

## 2) 酸性ホスファターゼ遺伝子のプロモーター領域の解析

シロバナルーピンの効率的なリン利用メカニズムを解明し、有用なプロモーター情報を得るために *LASAP1*, 2, 3 のプロモーター領域の配列を決定した。得られた配列を比較したところ、リン欠乏応答を制御する MYB 転写因子 PHR の結合する P1BS 配列が *LASAP1* には 2 つ、*LASAP2* には 4 つ存在した。また、*LASAP3* には P1BS 配列はなく、果実特異的発現を示す配列が 1 つ存在した。GFP とつないだコンストラクトを作成してシロイヌナズナで発現させることによって重要な cis element の存在を調査したところ、*LASAP2* のプロモーター領域にリン欠乏に応答する配列の存在が示唆された。

## 3) クラスター根における酸性ホスファターゼの役割

低リン耐性機構におけるクラスター根と酸性ホスファターゼの役割を理解することを目的として、根の酸性ホスファターゼの局在性を活性染色によって調査した。+P と -P 条件で水耕栽培したルーピン及び -P 条件で水耕栽培したハゲアのクラスター根とノーマル根を採取し、切片を作成して蛍光基質を用いて活性染色した。その結果、-P の根で高い酸性ホスファターゼ活性が確認され、特に根毛を含む表皮細胞で活性が高かった。また、クラスター根においては根端で極めて高い活性がみられた。このことから、クラスター根を発達させることは、単に発現量を増やすだけでなく、根端の数を増やす点でもリン欠乏条件下で酸性ホスファターゼを効率よく機能させるための一つの手段となっており、低リン耐性機構において重要な役割を果たしていることが示唆された。