

アーバスキュラー菌根菌 *Rhizophagus clarus* におけるリン酸放出輸送体 *RcPHO1* および *RcPHO91* の同定と共生的リン酸供給への関与

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 根圏制御学 横山楓

1. はじめに

アーバスキュラー菌根(AM)菌は陸上植物の約 80%と共生関係を構築し、土壌中に展開した菌糸から吸収した無機リン酸を宿主植物に供給する。土壌から吸収されたリン酸 (Pi)はポリリン酸 (PolyP)として管状液胞内を樹枝状体まで輸送される (図 1)。樹枝状体の液胞内では、ポリリン酸がリン酸へと加水分解され、共生界面アポプラストへ放出された後、植物の菌根特異的リン酸輸送体によって宿主植物に吸収されると考えられているが、樹枝状体からのリン酸放出に関わる分子機構は、解明されていない。一方、植物において、細胞外へのリン酸放出に関わる輸送体として、エキソサイトーシス経路で導管への積み込みを担う *PHO1* が同定されている。本研究では、AM 菌樹枝状体からのリン酸放出に関わる輸送体の探索および機能解析を行った。

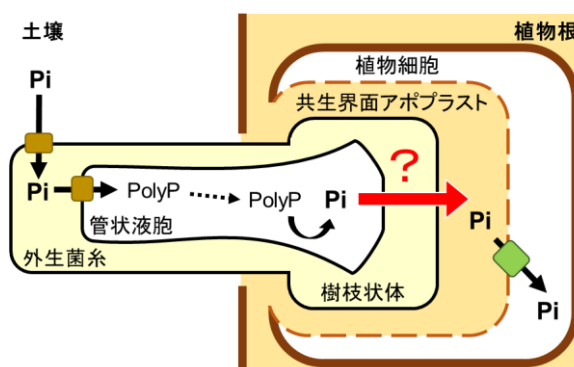


図1 AM共生における植物へのリン酸供給

2. 方法

AM 菌 *Rhizophagus clarus* HR1 のトランスクリプトームから、酵母液胞型輸送体 *ScPHO91* およびシロイヌナズナの細胞外排出輸送体 *AtPHO1* の相同遺伝子であり、かつ、内生 (根内) 菌糸で発現している候補遺伝子を選抜し、酵母発現系でリン酸放出活性を解析した。Cucumber mosaic virus 由来の CMV2-A1 ベクターにこれら遺伝子の部分配列を挿入し、ウイルス誘導性遺伝子サイレンシング (VIGS) を利用して *Nicotiana benthamiana* に共生する *R. clarus* HR1 の標的遺伝子をノックダウンした。

3. 結果と考察

ScPHO91 および *AtPHO1* の相同遺伝子として、それぞれ *PHO91-1* および 2, *PHO1-1* および 2 の合計 4 つの AM 菌遺伝子を同定し、そのうち、機能ドメインの保存性や発現プロファイルから、*PHO91-1* および *PHO1-1* が目的遺伝子であると判断した。酵母発現系において、液胞型輸送体 *PHO91-1* の高発現は、細胞から多量のリン酸を放出させたのに対し、細胞外排出輸送体 *PHO1-1* の高発現によるリン酸放出量の上昇は少なかった。VIGS によって、*PHO91-1* をノックダウンすることはできなかったものの、*PHO1-1* の発現は対照の約 60%まで低下させることができた。*PHO1-1* のノックダウンレベルに応じて、内生菌糸においてはポリリン酸の滞留量が増加すると共に、樹枝状体の形成頻度の減少や成熟遅延が観察された。また、*PHO1-1* のノックダウンにより、宿主における菌根特異的リン酸輸送体遺伝子の発現低下、および地上部生長量の減少が認められた。以上の結果から、*PHO1-1* が AM 菌からのリン酸放出を担う輸送体であることが強く示唆された。*PHO1-1* が関与するとすれば、樹枝状体からのリン酸放出はエキソサイトーシス経路であると予想されることから、今後は、本輸送体の細胞内局在を解析する必要がある。