

アーバスキュラー菌根菌における耐酸性形質の分子基盤

比較トランスクリプトーム解析を利用した耐酸性遺伝子の探索

応用生物学専攻 生命分子化学講座 根圏制御学 中西 夏輝

1. 背景と目的

酸性土壌におけるアルミニウムイオン (Al^{3+}) 濃度の上昇は、根端組織の損傷とそれに伴う根の伸長阻害から、植物は養水分の吸収不良を起こすと同時に、 Al^{3+} とリン酸 (Pi) が難溶性の塩を形成するため、極端な Pi 欠乏に陥る。アーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) は、 Pi 供給を通じて酸性土壌における植物の生残性を向上させるものの、AM 菌自体の耐酸性機構はまったくわかっていない。一方、植物では、マグネシウム (Mg^{2+}) 恒常性の維持に関わる Mg^{2+} 輸送体や Al^{3+} をキレートするリンゴ酸の排出輸送体などの膜輸送体遺伝子が Al^{3+} 耐性に関わっていることが報告されている。本研究では、酸性条件における比較トランスクリプトーム解析を行い、AM 共生による耐酸性獲得機構の分子機構を明らかにすると共に、AM 菌の耐酸性に関わる遺伝子の同定を目指す。

2. 方法

滅菌した酸性硫酸塩土壌および川砂を 1:4 (v:v) で混合し、炭酸カルシウムを加えて土壌 pH を 3.5, 3.8, 4.2, および 4.9 に調整した。そこに *Lotus japonicus* MG-20 の実生を移植し、耐酸性 AM 菌 *Rhizophagus clarus* RF1 株 (MAFF520086) を 500 孢子 pot^{-1} で接種後、メッシュバッグ区画栽培法により人工気象器内で 7 週間栽培した ($n = 3$)。外生菌糸および菌根から RNA を抽出し、mRNA を精製後、illumina NextSeq による 2 x 150 bp シーケンスを行った。得られたリードから遺伝子の発現定量を行い、土壌 pH の変化に応じて発現が変動する遺伝子を発現パターンに基づき分類し、Gene ontology (GO) 解析を行った。

3. 結果と考察

AM 菌非接種区の *L. japonicus* の地上部新鮮重は pH の低下に伴って減少するのに対し、RF1 接種区では pH 3.8 以上で地上部の生長が約 3 - 5 倍に増加した。*L. japonicus* の菌根において、酸性に応答して発現が上昇する遺伝子群では、酸化ストレスへの応答や有機酸の生合成に関連する GO に属する遺伝子の割合が有意に高く、一方、外生菌糸においては Glyoxalase III 活性やグリコーゲン合成に関わる GO に属する遺伝子の割合が有意に高かった。これらは低 pH および Al^{3+} ストレス、またそれに付随する酸化ストレス、飢餓状態への応答であると考えられる。

外生菌糸において土壌 pH の低下に対して直線的に発現が上昇する 1,657 個の遺伝子群には、約 20 個の輸送体遺伝子が含まれており、このうちの一つは酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の Al^{3+} 耐性遺伝子 *ALR2* (細胞膜 Mg^{2+} 輸送体遺伝子) と高い相同性を示し、これを *RcALR1* と命名した。*RcALR1* は pH 低下に伴い、発現量が約 3 倍増加した。菌類や植物において、 Mg^{2+} 輸送体遺伝子の高発現は Al^{3+} による Mg^{2+} の吸収阻害を緩和することが知られており、AM 菌においても同様の機構が存在する可能性が示唆された。今後は、*RcALR1* を含む AM 菌酸性応答遺伝子をモデル菌類に導入し、 Al^{3+} 耐性を評価する系の確立を目指す。