

# アーバスキュラー菌根の共生界面におけるリン酸供給の分子機構

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 根圏制御学 浅枝 諭史

## 1. 背景と目的

アーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) は陸上植物の約 80% と共生関係を構築し, 土壌中に伸長させ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はポリリン酸として液胞内を樹枝状体まで輸送される。樹枝状体とは, 根の皮層細胞内に形成される高次に分岐した菌糸末端で, この器官を通じて AM 菌は植物にリン酸を受け渡す。ポリリン酸は樹枝状体の液胞内でリン酸へと加水分解されて細胞質に放出された後, 小胞/ゴルジ体に局在するリン酸排出輸送体 SYGI-1 によって再び小胞に積み込まれてエキソサイトーシス経路で共生界面に放出されると推定されているものの, これらの過程に関わる遺伝子群の多くは特定されていない。一方, 糸状菌は, 先端生長に必要な細胞膜や細胞壁成分, 酵素などをエキソサイトーシスによって輸送することから, 多数の菌糸先端が形成される樹枝状体の発達過程においてもエキソサイトーシスによる小胞輸送が活発に行われ, この経路を利用してリン酸の分泌が行われている可能性が考えられる。本研究では, AM 菌のリン酸供給の分子機構を明らかにする目的で, ポリリン酸輸送量に応答して発現の上昇する遺伝子群を比較トランスクリプトーム解析により同定し, リン酸供給プロセスの全体像の把握と次期研究ターゲットの絞り込みを行った。

## 2. 方法

菌糸区画と菌根 (根+内生菌糸) 区画を分割できる二重メッシュバック区画栽培系において, AM 菌 *Rhizophagus clarus* HR1 を接種した野生タバコ (*Nicotiana benthamiana*) を 9 週間栽培後, 菌糸区画に 1 mM リン酸溶液を施用して, 0, 18 および 36 時間後に外生菌糸および菌根を回収した。外生菌糸および菌根のポリリン酸含量を測定すると共に, 菌根から mRNA を精製後, illumina NextSeq により 75-bp single-end シーケンスを行った。得られたリードを *N. benthamiana* および *R. clarus* のリファレンス配列にマッピングして発現量の定量を行った。ポリリン酸量と有意な正の相関があり, かつ, 内生菌糸で特異的に発現する遺伝子を抽出し, Gene ontology (GO) 解析を行うと共に, 先端生長に関わる遺伝子の探索を行った。

## 3. 結果と考察

ポリリン酸含量はリン酸施用直後から外生菌糸において増加し, 植物方向への輸送に伴ってリン酸施用 18 時間後から内生菌糸で増加した。内生菌糸においてポリリン酸輸送に同調して発現量が増加する遺伝子群には, 液胞型リン酸排出輸送体遺伝子 *PHO91* や *SYGI-1* などのリン酸供給に関わる既知遺伝子が含まれていたことは, 本アプローチの正当性を支持していた。また, GO 解析から, 発現上昇した遺伝子群に占めるステロール/脂質代謝の遺伝子の割合が有意に高まっていることが示され, 生体膜の合成経路がポリリン酸輸送に伴って活性化されていることが示唆された。さらに, 先端生長に関わる極性マーカー遺伝子 *Tea4* の発現も上昇していたことから, リン酸供給と先端生長/小胞輸送/エキソサイトーシスは密接に関わっている可能性が示唆された。

今後は, 極性マーカー遺伝子やステロールおよび脂質代謝酵素遺伝子のノックダウン試験により, これらの遺伝子のリン酸供給への関与を明らかにする必要がある。