

アルミニウム集積植物メラストーマ

(*Melastoma malabathricum* L.) のアルミニウム輸送メカニズム

共生基盤学専攻 生物共生科学講座 植物栄養生態学 吉井 健祐

1. はじめに

世界の土壌の内, 約 30~40%は酸性土壌と言われている。酸性土壌では土壌中のアルミニウム (Al) が土壌溶液中に Al イオンとして溶出し, 低濃度で多くの植物に対し毒性を示す。酸性土壌に適応した植物の多くは有機酸を Al イオンとキレートさせることで, 植物体内/体外で無毒化する。Al 集積植物メラストーマ (*Melastoma malabathricum* L.) は根から吸収した Al イオンを, クエン酸をリガンドとして地上部に輸送すると考えられ, 葉において Al-シュウ酸もしくはモノマーの形で液胞に Al を貯めこむと推測されている (10,000 $\mu\text{g/g} \cdot \text{dry weight}$ 以上)。本修士論文研究の目的は, メラストーマの Al 集積メカニズムに関わる候補遺伝子の探索, およびそれらの遺伝子発現, 機能, 局在等を解析し, Al 輸送機構をより詳細に理解することである。

2. 方法

挿し木で育苗したメラストーマを北大農学部温室において, 標準培養液に AlCl_3 0.5 mM を添加して 0, 0.5, 1, 3, 6, 24 時間の Al 処理を行った ($\text{pH}=4.00$)。植物体を上位葉, 下位葉, 根に分けて採取し, 凍結保存した。各サンプルを微粉碎し, RNA を抽出, cDNA 合成を行った。先行研究で選抜された Al 応答遺伝子数種のプライマーを作成し, RT-PCR にて発現を確認, リアルタイム PCR により定量化した。凍結乾燥させたサブサンプルを, 湿式分解し ICP-MS にて Al 濃度を測定, または 0.02 M で抽出しキャピラリー電気泳動にて有機酸濃度を測定した。メラストーマ *MATE* 遺伝子 (以下, *MmMATE*) について, アフリカツメガエル卵母細胞での輸送活性と GFP 蛍光を利用した細胞内局在を調べるためにそれぞれ, pXBG2 ベクターと pTH2 ベクターに In-Fusion クローニングした。オーサイト上の輸送活性試験は, 二電極電圧クランプ (TEVC) 法を用いて測定し, GFP 蛍光を用いた細胞内局在の観察は, 共焦点レーザー顕微鏡を用いた。

3. 結果と考察

メラストーマの葉・根の Al 含有率と葉・根組織中のクエン酸濃度は処理 0 時間のサンプルと比較して, Al 処理後 3 時間のサンプルから有意な上昇が認められた。*MmMATE* は Al イオン, クエン酸濃度の上昇と同様に, Al 処理後 3 時間から有意な発現上昇が確認された。*MmMATE* についてシロイヌナズナの *MATE* 遺伝子ファミリーと系統解析をすると, クエン酸輸送体 AtFRD3 と 89%の相同性を示した。以上より *MmMATE* が, メラストーマ導管内の Al 輸送リガンドであるクエン酸の, 導管へのローディングに関わる遺伝子と考え, 更なる解析に進んだ。*MmMATE::GFP* を一過的に発現させたシロイヌナズナプロトプラストにおける GFP 蛍光は細胞膜上に観察された。*MmMATE* の細胞内から細胞外へのクエン酸輸送は現時点で測定できていないが, これまでの結果から *MmMATE* は Al によって誘導される, 細胞膜局在のクエン酸輸送体としてメラストーマの Al 輸送に関与している可能性が示唆された。今後は, 輸送基質の詳細な調査や他植物への形質転換等による解析により, Al 輸送・集積機構を明らかにしたい。