

学位論文の審査結果の要旨

本研究では、アーバスキュラー菌根形成の分子メカニズムを解明するため、RNA-seq解析を用いて菌根形成に関連する遺伝子を網羅的に抽出するとともに、それら遺伝子の機能解析が行われた。クチン/スベリン合成遺伝子は菌根形成に重要な役割をはたすことが示唆され、クチン/スベリン様物質が植物からアーバスキュラー菌根菌へ栄養として移行するモデルを初めて提唱した。

(1) 本研究の背景と目的について

近年、リン酸質肥料の価格が高騰し農業生産費を押し上げており、長期的には原料のリン鉱石の枯渇も懸念されている。作物のリン酸質肥料の利用効率は施肥量の10%程度と極めて低いことから、肥料の効率的な利用のため、菌根を利用した生産システムの構築が期待されている。アーバスキュラー菌根菌は多くの植物種の根に共生して土壤中のリンを植物へ供給し、植物の成長を促進する菌根効果を持つ。しかし、栽培や環境条件によって菌根共生の発達は大きく変動するため、得られる菌根効果も変動する。安定的な菌根形成の維持や共生機能発現の制御のためには、菌根共生の形成メカニズムの解明が期待されている。本論文では、アーバスキュラー菌根形成の分子メカニズムを解明するため、RNA-seq解析を用いて菌根形成に関連する遺伝子を網羅的に抽出するとともに、それら遺伝子の機能解析が行われた。

(2) 菌根共生における植物間のトランスクリプトーム比較について

菌根応答性遺伝子の植物種間における共通性と独自性を調べるために、トマトとミヤコグサの菌根応答性遺伝子が比較された。非感染根に対して感染根で誘導される遺伝子を抽出し植物間で比較すると、菌根誘導性遺伝子の約3割が植物間で共通していた。これらの遺伝子には菌根形成に関与する遺伝子が多く含まれており、共通して発現誘導される遺伝子には菌根形成遺伝子が濃縮されていることが示された。一方、植物種特異的に誘導される遺伝子は低誘導性のものが大部分であったことから、これらの遺伝子の大半は二次的な影響で発現変動したと考えられ、菌根誘導性遺伝子の抽出には、非感染根と感染根の比較が必ずしも最善な方法ではないことが示された。

(3) 同期的菌根抑制系を用いた宿主の菌根形成遺伝子の解析について

効率的かつ網羅的に菌根形成遺伝子を抽出するため、高濃度リン酸を添加することで菌根形成を同期的に抑制し、そのサンプルを用いてRNA-seq解析が行われた。高濃度リン酸によって樹枝状体密度が低下し、それに伴って発現が低下する遺伝子群が同定された（グループA遺伝子）。グループA遺伝子には、クチン/スベリン

生合成遺伝子およびAP2/ERF転写因子*LjERM*遺伝子が含まれていた。クチン/スベリン生合成遺伝子の1つである*LjRAM2*遺伝子の変異体や*LjERM*発現抑制系統では、樹枝状体のファインブランチの発達が著しく阻害され未成熟な状態であった。グループA遺伝子には、樹枝状体の形成に関与する遺伝子が濃縮されていることが示された。最近、アーバスキュラー菌根菌は脂肪酸合成遺伝子を欠損していることが報告されており、自身では脂肪酸を合成できず、外部から脂肪酸を獲得していると考えられている。本研究では、菌根共生が成立する過程では、植物によってクチン/スベリン様物質が合成されアーバスキュラー菌根菌によって栄養として利用されている可能性が提唱された。

(4) 菌根抑制系を用いた菌根菌の共生関連遺伝子の抽出について

高濃度リン酸添加した菌根を用いてアーバスキュラー菌根菌側のRNA-seq解析を行い、菌根形成に関わるアーバスキュラー菌根菌遺伝子の抽出が試みられた。発現変動する遺伝子を調べると、高濃度リン酸による菌根抑制に伴って、細胞周期制御遺伝子やDNA複製遺伝子、細胞分裂関連遺伝子、分泌タンパク質遺伝子の発現が低下した。菌根形成が健全に進行するには、分泌タンパク質を介したアーバスキュラー菌根菌-植物間のコミュニケーションと菌の増殖に伴う核分裂の活性化が必要であることが示された。

本論文は、アーバスキュラー菌根共生の形成メカニズムをトランスクリプトームから解析したものであり、特に共生におけるクチン/スベリン様物質の重要性を初めて指摘しており、その学術的価値は高いと判断される。博士論文を構成する主要内容はすでにインパクトファクターの付されている英文誌に2報受理されており、基準を超えている。以上のことから、提出された本論文は博士学位論文として十分に価値があるものと評価され、審査員全員一致で「合格」と判断した。

公表主要論文名

- Yusaku Sugimura, Katsuharu Saito. Transcriptional profiling of arbuscular mycorrhizal roots exposed to high levels of phosphate reveals the repression of cell cycle-related genes and secreted protein genes in *Rhizophagus irregularis*. Mycorrhiza (2016). doi:10.1007/s00572-016-0735-y
- Yusaku Sugimura, Katsuharu Saito. Comparative transcriptome analysis between *Solanum lycopersicum* and *Lotus japonicus* during arbuscular mycorrhizal development. Soil Science and Plant Nutrition (2017). doi:10.1080/00380768.2017.1280378