

博士論文審査の結果の要旨

氏名	NGUYEN THI CUC
学位名	博士（農学）
学位番号	乙 第 26 号
論文題目	Molecular mechanism underlying phosphorus transfer in arbuscular mycorrhizal symbiosis (アーバスキュラー菌根共生におけるリン輸送の分子メカニズム)
論文審査委員	主査 齋藤 勝晴 山田 明義 加藤 新平 松島 憲一 大友 量（農業・食品産業技術総合研究機構）

(博士論文審査の結果の要旨)

本博士論文は、アーバスキュラー菌根共生におけるリン輸送の分子メカニズムを解明するため、リン輸送の中心的な役割を果たすポリリン酸に注目し、その代謝を生化学および細胞生物学的に解析したのものである。第2章では、アーバスキュラー菌根菌（AM菌）のポリリン酸が、VTC（vacuolar transporter chaperone）タンパク質によって合成されるとともに、分解も触媒されることを示した。第3章では、ポリリン酸の細胞内局在の解析から、ポリリン酸はAM菌の細胞壁に局在することを明らかにし、AM菌はリンをポリリン酸の形で細胞外に放出していることを示した。以上の知見をもとに、本論文ではAM菌から植物へのリン輸送のモデルを提唱した。

(1) 本研究の背景と目的

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。AM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機能発現は大きく変動する。共生機能発現の制御のためには、菌根共生の養分輸送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共生におけるリン輸送の分子メカニズムを解明するため、AM菌のポリリン酸代謝を生化学および細胞生物学的観点から解析した。

(2) AM菌におけるポリリン酸の合成と分解

AM菌の細胞には大量のポリリン酸が蓄積しているが、ポリリン酸合成を触媒する酵素は不明であった。近年、酵母ではVTC4がポリリン酸合成に関与することが示されていることから、AM菌のVTC4の組換えタンパクを作製し、ポリリン酸合成活性を評価した。VTC4はATPを基質としてポリリン酸を合成し、ピロリン酸存在下で合成活性が高まることが示された。高濃度のADPが存在すると合成活性が低下することから、逆反応についても解析した。VTC4はポリリン酸とADPを基質として、ポリリン酸の低分子化とATP生成を触媒することが示された。AM菌のVTC4がポリリン酸の合成と分解を触媒することから、VTC複合体が細胞内のATP-ポリリン酸-Piホメオスタシスに関与している可能性が指摘された。

(3) AM共生におけるポリリン酸の局在とリン輸送における酸性ホスファターゼの関与

AM菌から植物へのリン輸送は樹枝状体と呼ばれるAM菌の器官で行われている。樹枝状体におけるポリリン酸の代謝を調べるため、共生的リン輸送が破綻した植物の*hal*変異体を用いて、そこに感染するAM菌のポリリン酸局在を解析した。ポリリン酸を特異的に染色し電子顕微鏡で観察したところ、ポリリン酸はトランク菌糸と一部のファインブランチ菌糸の細胞壁に検出された。また、ポリリン酸と酸性ホスファターゼ活性の二重染色により、樹枝状体ではそれらの局在が対照的であったことから、細胞壁に放出されたポリリン酸はアポプラストの酸性ホスファターゼによって分解されている可能性が示された。

(4) AM共生におけるリン輸送モデル

以上の知見から、AM共生におけるリン輸送のモデルを次のように提案した。土壤中のリン酸が外生菌糸によって取り込まれATPに変換されると、液胞膜上のVTC複合体によってATPを基質としてポリリン酸が合成される。ポリリン酸は内生菌糸まで運ばれ、VTC複合体の作用により

分解を受け低分子化する。最終的にポリリン酸は AM 菌の細胞壁に組み込まれ、そこで酸性ホスファターゼによって加水分解される。生成した無機リン酸は植物のリン酸トランスポーターを介して最終的に植物細胞に取り込まれる。今後、酸性ホスファターゼ遺伝子を特定する必要があるが、このリン輸送モデルは圃場での菌根機能を評価するための基礎的な知見になると考えられる。

本論文は、アーバスキュラー菌根共生のリン輸送メカニズムを生化学および細胞生物学的に解析したものであり、ポリリン酸代謝の観点からリンの輸送には VTC タンパク質や酸性ホスファターゼが重要な役割を果たす可能性があることを示しており、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な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 報掲載されている。本審査は博士（乙）での申請であるが、NGUYEN THI CUC 氏は 2022 年 3 月に信州大学大学院総合工学系研究科単位修得満期退学しており、退学後 1 年は過程博士の基準が適応されることから、基礎論文数の基準を満たしている。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)

Nguyen Thi Cuc, Katsuharu Saito (2021) Role of cell wall polyphosphates in phosphorus transfer at the arbuscular interface in mycorrhizas. *Frontiers in Plant Science*, Volume 12, Article no. 725939.

Nguyen Thi Cuc, Tatsuhiro Ezawa, Katsuharu Saito (2022) Polyphosphate polymerizing and depolymerizing activity of VTC4 protein in an arbuscular mycorrhizal fungus. *Soil Science and Plant Nutrition*, Volume 68, No. 2, pp. 256-267.