

## 根粒菌の侵入形式を決定するミヤコグサの新規遺伝子 *LAN*に関する研究

星野 元泉 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 壽崎 拓哉 (筑波大学 生命環境系)

### 【導入】

多くのマメ科植物は、窒素固定能を持つ土壌細菌である根粒菌との間に、根粒共生と呼ばれる相利共生関係を築いている。共生の初期過程において、マメ科のモデル植物ミヤコグサは根の細胞内に感染糸と呼ばれるトンネル構造を形成し、根粒菌はこれを通して植物内部へ侵入する。対して一部のミヤコグサ変異体では、感染糸を伴わないにもかかわらず根粒菌が根の傷や細胞間隙を通して侵入し、共生が成立することが知られている。植物側の変異によって根粒菌の侵入形式が変化することは、植物がその形式を決定する仕組みを持つことを示唆する。しかし、背後にある分子機構はほとんど明らかにされていない。

この謎に迫る手掛かりとして、当研究室ではミヤコグサ新規変異体 *late nodulation (lan)* を単離した。*lan* 変異体は野生型と比較して根粒共生が遅れるという表現型を示す。先行研究において、*lan* では感染糸を伴わずに共生が成立すること (図1を参照) や、原因遺伝子は新規のタンパクをコードする一遺伝子 *LAN* であることが明らかにされている。これらの知見は *LAN* 遺伝子が根粒菌の侵入形式決定に働くことを示唆する。

以上を踏まえ、ミヤコグサにおける *LAN* を介した根粒菌の侵入形式決定機構の実体に迫ることを目的として、本研究では既知の共生遺伝子と *LAN* の関係性を調査した。

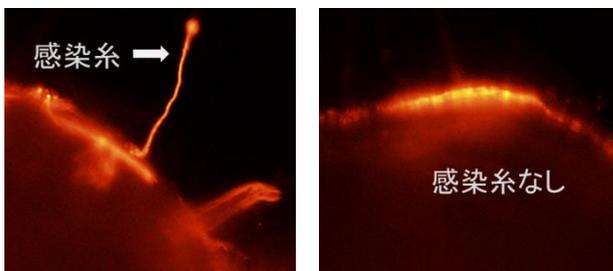


図1 野生型 (MG-20 系統、左) と *lan* (右) の根粒原基

### 【方法】

根粒共生は主に「根粒菌の感染成立」と「根粒の器官形成」という二大イベントからなり、両者が同調的に進行することで共生が成立する。この観点から、本研究では根粒共生の主要な遺伝子として *CCaMK*, *CYCLOPS*, *LHK1* の三因子に注目し、*LAN* との遺伝学的な関係について調べた。

*CCaMK* は根粒共生の最中枢に位置づけられるキナーゼであり、根粒菌の感染、根粒の器官形成双方に必須である。*CYCLOPS* は直接 *CCaMK* に活性化される転写因子であり、主に根粒菌の感染成立に寄与する。*LHK1* はサイトカニン受容体であり、*CCaMK* の下流で根粒形成に働く (以上図2)。



図2 *CCaMK*, *CYCLOPS*, *LHK1* の関係性

*CCaMK*, *LHK1* の機能獲得型変異である *CCaMK<sup>T265D</sup>*, *snf2* は、根粒菌非存在下で植物の根に自発的根粒と呼ばれる根粒様構造を誘導する。*lan* と各因子の二重変異体における自発的根粒の形成を調べることで、両者の関係性を分析した。

また、*cyclops* 変異体は根粒菌存在下で未熟な根粒を形成するものの、根粒菌の感染は成立しない。*lan cyclops* 二重変異体における共生の表現型を観察し、両因子の関係性を分析した。

### 【結果・考察】

*LAN* と *CYCLOPS* の関係について最も注目すべき結果が得られたので、本要旨ではこれについて報告する。

*lan cyclops* に根粒菌を接種し共生の表現型を調べたところ、同変異体では根粒形成が完全に抑制されることがわかった (図3左)。これは *LAN*, *CYCLOPS* 各一遺伝子の変異体とは異なる表現型であり、両因子が根粒形成の過程で分岐して働くことを示唆している (図3右)。

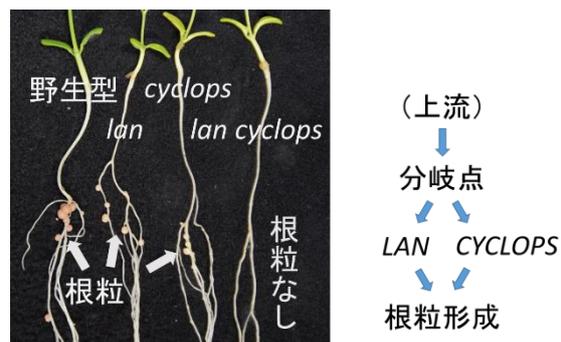


図3 左: 各ミヤコグサ系統における根粒形成の表現型 右: 示唆される *LAN* と *CYCLOPS* の関係

これを受けて、*lan cyclops* における根粒菌感染の表現型を調べた。根粒菌接種に際し、*lan* および *cyclops* では根毛の変形が起こり根粒菌をトラップするが、二重変異体では根粒菌に応じた根毛の変形がほぼ見られなかった。この結果は根粒形成に限らず、根粒菌感染の過程でも *LAN* と *CYCLOPS* が分岐して働くことを示唆する。

以上の形態的な観察に加え、遺伝子発現の観点からも *lan cyclops* の共生について調べた。qRT-PCRにより根粒共生誘導性のマスター遺伝子 *NIN* の発現量を測定したところ、*lan cyclops* では根粒菌の存在下でも *NIN* の発現上昇がほとんど見られなかったことがわかった。この結果は変異体の共生表現型と整合的である。

### 【結論】

本研究の結果から、根粒共生の過程で *LAN* と *CYCLOPS* が分岐して働くことが強く示唆された。この知見は *LAN* を共生の分子機構に位置づけるうえで重要なものと言える。

*CYCLOPS* 以外の因子と *LAN* の関係や、その他得られた結果については卒研発表会にて報告させていただく。