

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	海浜生マメ科植物ハマササゲの耐塩性機構に関する生理遺伝学・生化学的解析		
研究テーマ (英文)	Physiology, genetics and biochemistry of salt tolerance in a halophyte <i>Vigna marina</i>		
研究期間	2019年 ~ 2020年	研究機関名 農研機構遺伝資源センター	
研究代表者	氏名	(漢字)	内藤 健
		(カタカナ)	ナイトウ ケン
		(英文)	Ken Naito
	所属機関・職名	農研機構遺伝資源センター・上級研究員	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	近藤 竜彦
		(カタカナ)	コンドウ タツヒコ
		(英文)	Tatsuhiko Kondo
	所属機関・職名	名古屋大学生命農学研究科講師	

概要 (600字~800字程度にまとめてください。)

本研究は、海浜植物ハマササゲが持つ特異な耐塩性機構の解明を目指したものである。ハマササゲは ①根から Na^+ を積極的に排出すると同時に、② Na^+ 吸収を抑制する化合物を分泌することが明らかとなってきた。そこで、本研究では ① Na^+ 排出に関わる遺伝子の同定、および②塩ストレス誘導的に根から分泌される生理活性物質の単離、を目指した。

①について、 Na^+ 排出能力の異なる3系統についてトランスクリプトーム解析を行った結果、 Na^+ 輸送体である SOS1 遺伝子が恒常的に発現していることが明らかとなった。しかしながら、 Na^+/H^+ アンチポーターである SOS1 が Na^+ を排出し続ければ、同時に H^+ を取り込むことになるため根の周囲は pH が上昇してしまう。そのため、ハマササゲの根では H^+ -ATPase の発現も高くなっており、取り込んだ H^+ を排出することで pH 上昇を緩和していると考えられた。また、pH 上昇によって吸収が阻害されやすい鉄や硫黄の吸収に関わる遺伝子群の発現も上昇しており、塩ストレスによる二次的な影響に対しても対応できる能力を有することが示唆された。

②については、まず HILIC-HPLC によって目的物質の大量精製を試みた。課題は、水耕液中に含まれる大量の NaCl であり、これは HILIC-HPLC の分離能を大きく低下させてしまう。そこで、限外濾過を用いた脱塩を検討し、分画分子量が小さい限外濾過膜を用いれば目的物質の回収率は高くなる傾向が見られた。これを少量ずつ HILIC-HPLC を用いた分画を行い、目的物質 2.1mg を得た。しかしこの試料は水溶液中では不安定であり、保管中に分解してしまった。また、精製中において凍結乾燥を繰り返すうちに溶解性が変化し、もともと使用していた溶媒への溶解性が失われた。

これらの結果から、目的物質を精製、同定するためにはより大量の試料から速やかに目的物質を精製して分析を行う必要がある。さらなる検討の結果、水耕液を凍結乾燥して水分を完全に除いたあと、残渣に少量のメタノールを加えることで、目的物質を効率よく抽出しかつ NaCl を除去できることが明らかになった。このメタノール溶液中にはまだ一定量の塩化ナトリウムが溶解しているため、低温処理による析出などによってさらに塩化ナトリウムの濃度を低下させることで、直接 HILIC-HPLC による分取を行って目的物質を迅速に精製、構造解析することが可能になると考えている。

以上から、目的物質の単離には至らなかったものの、精製方法については概ね確立することができたと考えられる。一方で、ハマササゲの耐塩性および海岸適応を支配する遺伝子群を捉えることには成功しており、今後はモデル植物を用いた機能検証を通じて耐塩性作物の開発へとつなげていきたい。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）					
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年		巻号
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年		巻号
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年		巻号
図書	書名				
	著者名				
	出版社		発行年		総ページ
図書	書名				
	著者名				
	出版社		発行年		総ページ

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

The objective of this study is to reveal the mechanism of salt tolerance in a beach species *Vigna marina*. When salt-stressed, *V. marina* is able to excrete Na^+ out of the root. It also secretes unknown products that is deduced to prevent Na^+ absorption. Thus, by transcriptome analysis and HILIC-HPLC, we tried to identify genes involved in Na^+ excretion and the unknown product itself.

In the transcriptome analyses, we compared *V. marina* and two other species that are susceptible or relatively tolerant to salt stress. As a result, we found SOS1 gene, which encodes Na^+/H^+ antiporter and excludes Na^+ out of the cell, as one of the key genes. SOS1 is constitutively transcribed in *V. marina*, quickly up-regulated by salt stress in the relatively tolerant species, and hardly transcribed in the susceptible species. We also identified many other genes including those for counter-acting the side effects of constitutively activating SOS1 gene (e.g. increasing pH).

We also established how to isolate the unknown product secreted from the root of *V. marina*. However, we also found this compound is easily denatured in a solution and were not able to determine the structure of the product within this project term. Now we are developing a means to prevent denaturation of the product and will identify the product in the near future.