

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 平島 匡太郎

ウイルスは宿主と独立して自身のゲノムを複製するため、独自の複製酵素をコードしている。複製酵素は生命の本質とも言える複製を担うため病原性にも深く関与しており、また非常に多機能でユニークな機能をもつ。したがってウイルス複製酵素の知見を深めることは、ウイルス病への対策だけでなく、タンパク質工学にも貢献となると考えられる。そこで申請者は、代表的な植物ウイルスであるタバコモザイクウイルス (TMV) をモデルとし、複製酵素の研究を行った。

TMV は一本鎖 RNA をゲノムとし、126kDa と 183kDa の 2 つの複製酵素、移行タンパク質 (Movement Protein, MP)、コートタンパク質 (Coat Protein, CP) の 4 つのタンパク質をコードしている。TMV の植物体への感染過程は、①侵入した細胞内におけるウイルス RNA の細胞内複製、②感染細胞から隣接する細胞へと移行し、感染葉全体へと広がる細胞間移行、③感染葉から維管束系を通じて上葉に移行する遠距離移行、という 3 つのステップを経て植物体の全身に広がってゆく。このうち細胞間移行には MP が深く関与しており、CP は不要であることは古くからわかっていた。しかし複製酵素は、細胞間移行の前提である複製を担うタンパク質であるため解析が非常に困難であり、複製酵素が細胞間移行に関与するかどうかは明らかでなかった。申請者は修士課程において見いだした興味深いキメラウイルス、UR-hel を材料に、複製酵素が細胞間移行能を持つことを発見し、さらにその機構解明への手がかりとなるさまざまな結果を得た。

UR-hel は野性型である TMV-U1 を母体に、複製酵素の一部、RNA ヘリカーゼドメイン領域のみ他のウイルス由来とした配列を持つが、一細胞における複製能力は TMV-U1 と同様であった。ところが意外にも細胞間移行能力を失っており、しかもその原因は MP でないことが判明した。これらの結果から "TMV の細胞間移行には、MP だけ

でなく複製酵素も関与している"すなわち "TMV の複製酵素は複製だけでなく細胞間移行能という機能を持つ" ということを明らかにしたのである。

UR-hel は細胞間移行できるようになった変異体を一定の確率で生じる。これらの変異体 10 クローンの非保存領域と RNA ヘリカーゼドメインを含む領域を変異をもたない UR-hel に組み込み解析した結果、全てこの領域の組み込みにより細胞間移行できるようになった。この結果から複製酵素が細胞間移行に関与している領域は、RNA ヘリカーゼドメインと非保存領域であることが分かった。またいくつかの変異体は、非保存領域のみの変異により細胞間移行能力が復帰していたことから、RNA ヘリカーゼドメインとの相互作用が示唆された。

細胞間移行は、隣接する細胞どうしをつなぐ原形質連絡をゲノム RNA が通過することによって成立するが、それまでに感染細胞において複製酵素と MP はさまざまな形で細胞間移行に関与していると考えられる。そこで GFP の蛍光により、感染細胞におけるウイルスタンパク質の局在を解析したところ、TMV-U1、UR-hel の複製酵素および MP の局在に明確な差は見いだされなかった。そして TMV-U1 のみならず UR-hel 複製酵素についても原形質連絡と思われる細胞膜に局在が見られたことから、複製酵素が細胞間移行に関与するのは原形質連絡を介して隣接細胞に移る過程である可能性が高いことが示唆された。

以上のように、申請者は TMV 複製酵素が複製のみならず細胞間移行にも関与し、その領域は RNA ヘリカーゼドメインとその上流の非保存領域であり、その相互作用が重要であることを明らかとした。この“複製酵素が複製のみならずウイルスの移行にも関与している”という知見は、TMV だけでなくウイルス全般でも、全く新しい知見である。さらに平島君は、この研究を通じて分子生物学の手法、および科学的な思考とストラテジーを十分修得したと思われる。よって、申請者平島匡太郎君は博士（学術）の学位を授与するに値すると考える。