

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 守 智子

第 1 章では研究の背景と目的を述べている。植物には隣接する細胞を連結する原形質連絡 (plasmodesmata, PD) と呼ばれる構造があり、細胞間の水や代謝産物のやりとりを行っている。PD を通過することのできる物質の大きさには上限 (size exclusion limit, SEL) があり、約 1 kDa である。一方、分子量が数百万を越える植物ウイルスが PD を通り、細胞間を移行していく。これにはウイルス自身がコードする移行タンパク質 (MP) が必要である。また近年、植物由来のタンパク質も細胞間を移行することが報告されるようになり、植物栄養・肥料学研究室でイネ篩管液から単離、同定されたイネチオレドキシシン h (rice TRXh, 約 13 kDa) もその一つである。本研究では rice TRXh を発現させたタバコを用いて PD の SEL の変化と植物の成長やウイルスの移行の関係を明らかにすることを目的とした。

第 2 章では rice TRXh を過剰発現する形質転換タバコのホモラインを作成し、12 kDa の蛍光物質 F-dextran を葉肉細胞にマイクロインジェクションすることより、形質転換体の SEL に変化がみられるかどうかを調べた。その結果、rice TRXh を発現する形質転換体では野生型株に比べ有意に高い頻度で蛍光物質が細胞間を移行した。細胞間移行能力を持つ植物のタンパク質を植物体内で発現させ、SEL の増大が観察されたのは本研究が初めてである。SEL の増大により細胞間の輸送が変化し、植物の成長に影響をもたらす可能性があると考えられた。しかし、パーミキュライトおよび MS 固形培地上で栽培した rice TRXh を発現するタバコと野生型タバコの乾燥重、葉の面積や根の長さなどに有意な違いはみられなかった。

第 3 章では変異型トバモウイルスを用いて、ウイルスの細胞間移行に必要な MP と rice TRXh の機能を比較した。タバコモザイクウイルス (TMV) の MP を発現する形質転換体の SEL も増大しており、MP を持たない TMV ( $\Delta$ MP-TMV) の移行が相補されることが知られている。 $\Delta$ MP-TMV の感染実験の結果、rice TRXh は TMV の MP の機能を相補して野生型ウイルスと同程度の移行を引き起こすことはできなかった。これは MP が多くの機能を持っているのに対し、rice TRXh はその一部の PD の透過性を変化させるという機能しか持っていないためと考えられた。そこで、この機能だけに欠陥のある MP ならその機能を相補できるのではないかと考え、MP に変異を持つトマトモザイクトバモウイルス (ToMV) LQ37E (MP の 37 番目のセリンがグルタミン酸に変異、37E-MP)、LQ37T (同スレオニンに変異、37T-MP) を用いた。各 MP を 19.6 kDa F-dextran とともにマイクロインジェクションした結果、37E-MP は rice TRXh を発現する形質転換タバコで野生型タバコに比べ有意に移行頻度が高かったのに対し、37T-MP では違いがみられなかった。また、感染実験の結果からは、LQ37E は rice TRXh を発現するタバコでは 2 細胞以上に GFP の蛍光が拡がった頻度が野生型タバコに比べ有意に高かったのに対し、LQ37T では違いはみられなかった。以上の結果から、rice TRXh は 37E-MP の移行能力を相補し、LQ37E の移行を少なくとも一部相補することが示された。これは植物

由来の PD の移行性を変化させるタンパク質を用いて植物ウィルスの移行を制御した世界で初めての例である。

第 4 章では変異型 RCNMV (red clover necrotic mosaic virus) を用いて実験を行っている。RCNMV の宿主となる *Nicotiana benthamiana* を用いて rice TRXh を過剰発現する形質転換体を作成し、変異型 RCNMV の感染実験を行った結果、変異型 MP を持つ RCNMV の細胞間移行は rice TRXh により完全には相補されないことが示唆された。しかし、PD に局在していると考えられる GFP の蛍光が rice TRXh を発現する形質転換体で野生型植物と比べ有意に多く観察された。以上の結果から rice TRXh は変異型 MP の原形質連絡局在機能を相補している可能性が示唆された。

第 5 章では PD を移行する能力を持つ rice TRXh の機能と MP の機能について比較、考察を行っている。

以上本論文は、rice TRXh をタバコで発現させたとき、PD の SEL が増大すること、PD の SEL が高まることは植物の成長に影響を与えないこと、rice TRXh の細胞間移行とウィルスの移行との間には共通する機構があることを初めて示したもので、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。