

論文審査の結果の要旨

氏名 鍵和田 聡

本論文は5章からなり、第1章は序論、第2章は PVX 各系統の病原性とゲノム解析、第3章は病徴発現に関わる因子の解析、第4章は病徴型の決定に関わる因子の解析、および第5章は総合考察が述べられている。

第1章においては、植物ウイルスが宿主に引き起こす病徴、病徴決定に関わるウイルス側の因子、PVXにおけるこれまでの知見、我が国に発生する PVX について、研究の背景、特徴が詳細に述べられている。

第2章においては、我が国に発生する PVX 系統の病原性の解析とゲノム解析、系統学的解析について述べられている。日本各地より PVX 5 系統 (OS, BH, BS, OG, TO) を蒐集し、種々の検定植物に対して接種試験を行ったところ、系統により多様な病徴が生じた。とくにタバコ (SamsunNN) において、「輪状斑 (OS)」、「モザイク (BH)」、「無病徴 (BS, OG, TO)」に分類される3種の異なる特徴的な病徴型が観察されることを見出した。これら PVX 5 系統のゲノムの全塩基配列を決定し、相同性解析および系統学的解析を行ったところ、我が国の PVX 系統は南米系統に比べ、欧州系統により近縁であることを明らかにした。本研究は我が国に発生する PVX の系統学的位置付けを初めて行うものである。

第3章においては、病徴発現に関するウイルス側因子の解析について述べられている。PVX 5 系統のうち、タバコにおいて輪状斑を生ずる OS と、無病徴で全身感染する BS の病徴の違いに関わるウイルスゲノムの領域について解析した。両系統の感染性 cDNA クローンを構築し、これらを用いてキメラウイルスの構築、および部位特異的変異導入による変異株の作製を行い、その接種試験によってそれぞれの病徴型を確認したところ、複製酵素の 1422 番目のアミノ酸 (RdRp₁₄₂₂) がアスパラギン酸の場合に「輪状斑型」を示し、グルタミン酸の場合に「無病徴型」となることを明らかにした。これら系統について、タバコの接種葉の直上葉におけるウイルス蓄積量の比較をウエスタンおよびノーザンブロット解析によって行ったところ、有意な差は認められなかった。また、immuno-tissue blot 法による比較解析を行ったところ、接種直上葉において一致したウイルス分布パターンを示し、ウイルス感染領域の面積比較においても差がなかった。さらに、タバコ BY2 の培養細胞から単離したプロトプラストに接種することにより 1 細胞レベルにおけるゲノム RNA の複製効率を比較したところ、これについても差は認められなかった。以上の結果から、輪状斑の形成にはウイルスの複製や移行といったウイルス自身の性質の差によるものではなく、ウイルスと宿主との相互作用が要因であることが推測された。これに加え、モザイク病徴を引き起こす BH 系統も用いて病原性の解析を行ったところ、やはり RdRp₁₄₂₂ のアミノ酸がアスパラギン酸のときに「モザイク型」となり、グルタミン酸では「無病徴型」であった。以上の結果から、RdRp₁₄₂₂ のアミノ酸は、アスパラギン酸の場合、病徴を

発現する「病徴発現因子」であり、グルタミン酸の場合「病徴隠蔽因子」であることを明らかにした。

第4章においては、病徴型決定に関わるウイルス側因子の解析について述べられている。OS「モザイク型」およびBH「輪状斑型」の両病徴型を決定する領域を解析したところ、ゲノムの5'非翻訳領域の58番目の塩基(5'UTR₅₈)が「A」の場合には「輪状斑型」、「G」の場合には「モザイク型」となることを明らかにした。次いで、5'UTR₅₈をUに替える変異導入株を構築したところ、ともに「輪状モザイク型」の病徴を示し、また、5'UTR₅₈のC変異株はタバコに接種すると、必ずAに復帰変異することから、5'UTR₅₈は病徴型決定因子であるとともに、ウイルスの増殖過程において宿主因子との強い相互作用を行うものと推定された。一方、RdRp₁₄₂₂をアラニンに置換した変異株は、「輪状モザイク型」の病徴を示した。このことから、RdRp₁₄₂₂のアミノ酸を含む領域は5'UTR₅₈を含む病徴型を決定する領域に深く影響を与えることが示唆された。

第5章においては、これらの実験結果をふまえて、PVXにおける病徴決定因子についての考察が述べられ、さらに、植物ウイルスの宿主植物に対する病徴形成に関して考察が述べられている。

本研究では、「タバコ-PVX」の組合せにより、病原体が宿主植物において発現する病原性を解析するための実験系を構築した。さらに、ゲノム上のごくわずかな配列の変化により、植物ウイルスの病原性は宿主植物において多様性を示すことを明らかにし、「宿主-病原体」のせめぎ合いの相互作用を理解する上で重要な基盤的知見を得ている。これらの知見は、植物ウイルス学のみならず広く生命科学の発展に貢献するものである。

なお、本論文第2章は、山次康幸、中林仁美、宇垣正志、難波成任との共同研究であるが論文提出者が主体となって実験および解析を行ったもので、論文提出者の寄与が充分であると判断する。

従って、博士(生命科学)の学位を授与できると認める。