

論文審査の結果の要旨

氏名 高橋 修一郎

本論文は、5章から構成され、各章の概要は以下の通りである。

第1章においては、本研究の背景、着眼点が詳細に述べられている。植物ウイルスの多くは一本鎖RNAをゲノムに持ち自身のコードするRdRpを用いてゲノムの複製を行うが、RdRpは修復機構を持たないことからウイルスは感染植物体において少しずつゲノムに変異を持つウイルスの集団として存在する。しかし、このような感染植物体内におけるウイルスのゲノム配列および病原性の多様性について注目した研究は少ない。本研究は、同一の植物体内に存在するこのような擬似種ウイルスの多様な病原性について解析を行うことを目的とした。

第2章においては、モザイク症状を呈するコオニユリ (*Lilium maximowiczii*) より単離されたウイルス6分離株の病原性およびゲノム塩基配列の特徴について述べられている。様々な宿主植物への接種試験より、6分離株が多様な病原性を示し、特に、*Nicotiana benthamiana* においては、これらの分離株は「枯死型」の病徴を示すLi1-3分離株と「モザイク型」の病徴を示すLi4-6分離株に大別されることを見出した。これらの6分離株のゲノム塩基配列を決定したところ、これらの分離株は互いに99.5%以上のidentityを示す同一種のウイルスであり、既知のウイルスの塩基配列との比較から *Plantago asiatica mosaic virus* (PLAMV) であることを明らかにした。本研究は、我が国におけるPLAMVの初めての報告である。さらに、アミノ酸配列のidentityによる頻度分布解析の結果からこのウイルスが同一種別系統間において配列が多様化しているウイルスであることを見出した。

第3章においては、*N. benthamiana* における病徴型を決定するウイルス因子の解析について述べられている。「枯死型」および「モザイク型」を示すウイルス分離株よりそれぞれLi1、Li6分離株を用い、病徴型を決定しているウイルス因子の解析を行った。それに先立ちまず感染性cDNAクローンを構築し、これらのクローンにより原病徴が再現することを確認した。次いで、これらの感染性cDNAクローンをもとに種々のキメラコンストラクトを構築し *N. benthamiana* における病徴の解析を行うことにより、ゲノムのnt. 3213~4107の領域が病徴型を決定していることを明らかにした。さらに、Li1、Li6分離株のゲノム配列の比較からこの領域に2カ所のアミノ酸相違を見出し、部位特異的変異導入による病徴の解析により、RdRpの1154番目のアミノ酸がシステインである場合には「枯死型」の病徴を示し、チロシンである場合には「モザイク型」の病徴を示すことを明らかにした。

第4章においては、このような病徴型の違いを発現に関わる因子について述べられている。まず、病徴型の異なるウイルスの感染組織内における蓄積量を比較解析する目的で、それぞれの病徴型を示す感染性cDNAクローンを接種し、接種領域におけるウイルスのゲノムRNAおよびCPの蓄積をそれぞれノーザンブロット法およびウェスタンブロッ

ット法により解析した。その結果、RdRp の 1154 番目のアミノ酸の変異により病徴型だけでなくウイルス RNA および CP の蓄積量も変化するが、病徴型と蓄積量は相関しないことを明らかにした。次いで、immuno-tissue blot 法および RT-PCR によりウイルスの長距離移行を解析したところ、病徴型と長距離移行に関連は認められなかった。さらに、病徴型と植物の防御応答反応であるプログラム細胞死 (programmed cell death; PCD) との関連を DAB 染色およびイオンリークアッセイにより解析したところ、「枯死型」の病徴型において PCD 誘導が認められた。

第 5 章においては、本研究における実験結果をふまえて、単一植物体内に存在する擬似種ウイルスにおける病徴型決定因子についての考察が述べられ、さらに、枯死型の病徴における宿主植物の防御応答反応の誘導に関する考察が述べられている。

本研究は、単一個体内に共存するウイルスの多様性により植物における防御応答誘導能が大きく異なることを示唆した点において新規な視点を与えるものである。

以上の知見は、植物ウイルス学のみならず広くウイルス学に貢献するものであり、博士 (生命科学) の学位を授与できると認める。