

論文審査の結果の要旨

氏名 小松 健

本論文は5章からなり、第1章は序論、第2章は PIAMV 感染による全身壊死反応の解析、第3章は PIAMV 感染による全身壊死誘導メカニズムの解析、第4章は PIAMV による壊死のエリシターの解析、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、植物とウイルスの相互作用、ウイルス感受性植物における病徴発現の機構、ウイルス抵抗性植物における過敏感反応 (HR) の機構、ウイルス感染による全身壊死、オオバコモザイクウイルス (PIAMV) 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、PIAMV 感染による *Nicotiana benthamiana* における全身壊死反応の解析について述べられている。ユリより分離された PIAMV 分離株に由来する4つのウイルスである Li1 (*N. benthamiana* の植物体に全身壊死を引き起こす)、Li1-1154Y (無病徴)、Li6 (無病徴)、Li6-1154C (全身壊死) について、アグロインフィルトレーション法により *N. benthamiana* の展開葉に接種し、接種領域における病徴を比較したところ、Li1 と Li6-1154C (「壊死型」) は接種領域全体が一様に壊死したのに対し、Li6 と Li1-1154Y (「無病徴型」) の接種領域では壊死は観察されなかった。壊死型のウイルスの接種領域では核 DNA の断片化、細胞壊死、 H_2O_2 の生成、カロースの蓄積、および防御関連遺伝子の発現誘導など、HR の指標とされる現象が確認されたのに対して、無病徴型のウイルスの接種領域ではこれらの現象は確認されなかった。以上より、壊死型の PIAMV 感染による、PIAMV 感受性植物である *N. benthamiana* の全身壊死が、抵抗性の植物に典型的に認められる HR によるものであることが示されている。

第3章においては、PIAMV 感染による全身壊死誘導メカニズムの解析について述べられている。具体的には、抵抗性植物における HR 誘導に重要な因子である SGT1 と RAR1 の、TRV (*Tobacco rattle virus*) ベクターを利用した VIGS (virus-induced gene silencing) 法によるノックダウンが試みられている。*N. benthamiana* における両因子のノックダウンの確認および典型的な HR における両因子の重要性を確認したのち、両因子が壊死型の PIAMV 感染による全身壊死に重要であるかを解析した。その結果、両因子のノックダウン植物では、壊死型の PIAMV である Li1 による接種領域の壊死が抑制され、また接種領域における H_2O_2 の生成も認められなかった。すなわち、SGT1 および RAR1 が抵抗性における HR に重要なだけでなく、感受性に置ける全身壊死にも重要であることが示され、PIAMV による壊死には、SGT1、RAR1 の関与する既知の HR 誘導カスケードが関与していることが示された。

第4章においては、PIAMV による壊死のエリシターの解析について述べられている。HR はウイルスがコードする特定のタンパク質 (エリシター) と宿主の R タンパク質の相

相互作用により誘導されることから PIAMV における壊死のエリシターについて解析した結果、細胞間移行タンパク質 (TGBp1-3) および外被タンパク質 (CP) は壊死を誘導するエリシターでないことが示された。さらに、TGBp1-3 および CP をコードしない変異ウイルスを構築し、複製酵素 (RdRp) 抗体を作出しウエスタンブロット解析などを行うことにより、PIAMV の RdRp のタンパク質が壊死のエリシターであり、PIAMV 感染による壊死を誘導してい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、PIAMV による全身壊死反応に HR が関わることについて、および全身壊死に既知の HR 誘導カスケードが関わることについての考察が述べられ、さらに、全身壊死の分子機構に関する考察が述べられている。

本研究では、「*Nicotiana benthamiana* - PIAMV」の組合せおよびアグロインフィルトレーション法の利用により、植物ウイルスが宿主植物において全身壊死病徴を発現する機構を解析するための実験系を構築した。さらに、ウイルスに「感受性」の植物において認められる病徴である「全身壊死」が、ウイルスに「抵抗性」の植物に典型的に認められる HR によるものであることを明らかにし、「全身壊死」の誘導機構に関する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、本論文は、鍵和田聡・難波成任ら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。