

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 千秋 博子

植物ウイルスは作物に感染すると様々な病徴を引き起こし、品質低下や収量減少等の被害をもたらす。植物ウイルスは薬剤による化学的防除が困難であるため、防除には植物自身が備える防御機構の利用が有効と考えられる。植物は RNA サイレンシングと呼ばれる小分子 RNA を介したウイルス防御機構をもつが、ウイルスはサプレッサーによって宿主の RNA サイレンシングを抑制し、感染を成立させる。そこで本研究では、*Flexivirus* 科のウイルスについて、サプレッサーの同定と機能解析を行った。

1. *Potexvirus* 属ウイルスの RNA サイレンシング抑制能の比較解析

ウイルスの病原性や宿主範囲は多様であるため、RNA サイレンシング抑制能の強さもウイルスごとに異なる可能性がある。そこで、*Flexivirus* 科 *Potexvirus* 属の複数種のウイルスを用いて比較解析を行った。タイプ種では triple gene block protein 1 (TGBp1) がサプレッサーとして報告されているため、各ウイルスの TGBp1 の RNA サイレンシング抑制能を調べた。その結果、TGBp1 は複数の *Potexvirus* 属ウイルスにおいてサプレッサーとして機能するが、その抑制能に差があることを明らかにした。また、*Potexvirus* 属ウイルス感染時の RNA サイレンシング抑制能の差異は TGBp1 に起因することを明らかにした。本研究から同属ウイルスでも種によってサプレッサーの抑制能の強さは多様であることが示唆された。

2. PIAMV の TGBp1 の RNA サイレンシング抑制メカニズムの解析

Potexvirus 属ウイルスの TGBp1 の作用機作は解明されていない。そこで、前項において強い RNA サイレンシング抑制能を示したオオバコモザイクウイルス (PIAMV) の TGBp1 を用いて解析を行った。まず TGBp1 形質転換シロイヌナズナを作出し、解析を行った結果、TGBp1 は trans-acting siRNA (tasiRNA) 経路中の 2 本鎖 RNA 合成の段階を阻害することを明らかにした。

さらに詳細な解析の結果、TGBp1 は、2 本鎖 RNA 合成に関与する SGS3 および RDR6 と相互作用すること、SGS3 を凝集させること、ホモ多量体を形成することを明らかにした。これらの特徴は、RNA サイレンシング抑制能を欠失した TGBp1 変異体ではみられなかった。よって、TGBp1 は顆粒構造をとって点在する SGS3 および RDR6 と相互作用し、さらに TGBp1 同士の結合力によって凝集体を形成し、RNA サイレンシングを抑制することが示唆された。植物プラス 1 本鎖 RNA ウイルスでは、SGS3、RDR6 をターゲットとするサプレッサーは報告されていないため、本研究が初の知見となる。

3. PVM のサプレッサーの同定および機能解析

Flexivirus 科 *Carlavirus* 属のウイルスはサプレッサーが未同定だが、*Potexvirus* 属ウイルスのサ

プレッサーTGBp1 と *Vitivirus* 属 (*Flexivirus* 科) ウイルスのサブプレッサー cysteine rich protein (CRP) に相同なタンパク質の両方をゲノムにコードしている。そこで、ジャガイモ M ウイルス (PVM、*Carlavirus* 属) のサブプレッサーの同定を試みた。解析の結果、PVM の TGBp1 は RNA サイレncingの拡大の段階のみを抑制したが、CRP は初期細胞での RNA サイレncingとその拡大の段階の両方を抑制した。また、実際のウイルス感染において TGBp1 はウイルスの細胞間移行のみを促進したが、CRP は単一細胞レベルでウイルス蓄積量を増加させ、細胞間移行も促進した。以上から、PVM は機能の異なる 2 つのサブプレッサーを感染過程の 2 つの段階で使い分けていることが示唆された。

以上を要するに、本研究は *Flexivirus* 科の様々なウイルスのサブプレッサーを体系だって解析し、それらの機能的差異を含め RNA サイレncingにおける働きを明らかにしたもので、高く評価できる。具体的には、TGBp1 のターゲットタンパク質を同定し、作用機作の一端を解明した点、また、PVM における 2 つのサブプレッサーが異なるステップで機能していることを明らかにした点で研究としての新規性も非常に高い。本研究で明らかにしたサブプレッサーの多様性はウイルスが宿主に対して多面的な機構を発達させてきたことを示唆しており、RNA サイレncingを介したウイルス-植物間相互作用の一端を解明する成果である。また、本研究の成果は、真核生物に広く保存された RNA サイレncingの基礎的研究における貢献と、RNA サイレncingを利用したウイルス防除戦略への応用が期待され、きわめて価値が高い。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）に値するものと認めた。