

# 論文審査の結果の要旨

氏名 内堀 美和

本論文は、タバココナジラミのトマト黄化葉巻ウイルス(TYLCV)媒介機構に関する研究をまとめたものである。本論文は5章から成り、第I章は序論、第II章はTYLCV接種試験および媒介効率試験、第III章はタバココナジラミおよびオンシツコナジラミ消化管の細胞におけるTYLCV侵入および様態、第IV章はタバココナジラミ中腸円筒細胞へのTYLCV侵入経路解析、第V章は総合考察、となっている。

トマト黄化葉巻ウイルス (*Tomato yellow leaf curl virus* ; TYLCV) は、タバココナジラミ (*Bemisia tabaci*) によって循環型、非増殖型様式によって特異的に媒介される。この媒介昆虫特異性は中腸における体腔へのウイルス侵入の可否が関与すると推測される。しかし、タバココナジラミ消化管の上皮細胞へのTYLCVの侵入機構は不明である。また、薬剤耐性を有するタバココナジラミ バイオタイプ Q の媒介機構に関する詳細な報告はない。そこで、本研究ではTYLCVマイルド系統とタバココナジラミ バイオタイプ Q を用い、タバココナジラミ消化管へのTYLCV侵入機構の解明を試みた。

まず媒介試験を行い、バイオタイプ Q がTYLCVマイルド系統を媒介すること、非媒介昆虫であるオンシツコナジラミ (*Trialeurodes vaporariorum*) がTYLCVを媒介しないことを確認した。

次に、TYLCV感染トマトを獲得吸汁したタバココナジラミの消化管を二重染色および抗TYLCV抗体を用いて免疫染色し、透過型電子顕微鏡 (TEM) により観察した結果、上皮細胞の小胞様構造内の電子密度の高い構造が観察され、この構造物特異的に金コロイドの集積が認められた。小胞様構造への金コロイドの集積は、下行中腸だけではなく、上行中腸、盲のうにおいて観察された。一方、獲得吸汁していないタバココナジラミおよびTYLCV感染植物を7日間吸汁したオンシツコナジラミの中腸では小胞様構造は観

察されたものの、金コロイドの特異的な集積は観察されなかった。さらに、オンシツコナジラミの血リンパを含む脚から TYLCV が検出されなかった。これらの結果から、この小胞様構造が TYLCV の侵入、蓄積に関与すると推察され、媒介昆虫特異性が消化管細胞への侵入の可否に起因することが示唆された。タバココナジラミの盲のうに TYLCV が侵入することが示されたため、その性質や機能に関して調べ、盲のうは中腸と同様に何らかの消化機能を持つことが示唆された。また、盲のうと唾液腺の距離が媒介効率に影響する可能性が考えられた。

次に、エンドサイトーシス (EC) に着目し、タバココナジラミの中腸への侵入に関与する EC に関して調べた。各 EC で取り込まれる内部移行マーカートの蛍光観察により、タバココナジラミの中腸に脂質ラフト仲介型 EC およびクラスリン仲介型 EC が存在することが示唆された。これらの EC 阻害剤を用いて TYLCV の中腸から血リンパへの移行への影響を調べた結果、TYLCV の移行は脂質ラフト仲介型 EC 阻害剤であるナスタチンにより特異的に阻害された。さらに、脂質ラフト仲介型 EC 内部移行マーカートであるコレラトキシン beta サブユニットと TYLCV との共局在を観察した結果、中腸の小胞様構造内で共局在が観察された。このことから、TYLCV の中腸上皮細胞への侵入に脂質ラフト仲介型 EC が関与することが示唆された。

本論文の一部は宇垣正志、鈴木匡、平田愛子との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が充分であると判断する。

以上のように、本論文は、タバココナジラミのトマト黄化葉巻ウイルス(TYLCV)媒介機構に関して多くの新規な知見を見だし、植物ウイルスの昆虫媒介機構の解明に多大な貢献をなしたと認められることから、博士(生命科学)の学位を授与できると認める。

以上 1 6 4 1 字