

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 岡野 夕香里

植物ウイルスは、植物に様々な病徴を伴う病気を引き起こし、農業生産に被害を及ぼしている。ウイルスの病原性は、ウイルスと植物のせめぎあいの結果として現れるものと考えられるが、そのメカニズムはほとんど分かっていない。これを解明することは、ウイルス—植物の相互作用を理解するだけでなく、ウイルスの防除にも繋がるものである。

1. ウイルスの病原性に関わるウイルス因子に関する解析

まず、ポインセチアモザイクウイルス (PnMV) の病原性に関わる因子を解析した。本研究ではポインセチアに病徴を呈する 2 株、無病徴の 2 株、計 4 株の PnMV 分離株 (JO1, JO2, JO4, JO5) を用い、その全塩基配列を決定した。ゲノムにコードされる複製酵素 (RdRp) のアミノ酸配列について比較解析を行った結果、ヘリカーゼドメインとレプリカーゼドメインの間の 1218 番目のアミノ酸に、病徴型と相関性のある多型が見出された。このドメイン間領域は PnMV に近縁な *Tymovirus* 科 *Tymovirus* 属ウイルスにおいて自己切断が生じる領域であり、9 アミノ酸の配列をプロテアーゼドメインが認識することで切断が生じる。4 分離株で切断に重要なアミノ酸が保存されていたことから、PnMV でもこの部位で自己切断するものと考えられた。病徴型と相関のある 1218 番目のアミノ酸は、この推定切断部位より 2 アミノ酸下流に位置していた。従って、このアミノ酸がドメイン間における切断効率に影響を与え、病原性に関与するものと考えられた。

2. 植物によるウイルスの増殖抑制機構を抑止するサプレッサーの解析

植物では、RNA サイレンシングがウイルス抵抗性にも関わる。ウイルスは対抗手段として、RNA サイレンシング抑止タンパク質 (サプレッサー) を有する。サプレッサーに変異を入れると、感染性の喪失等が起きるため、RNA サイレンシングの抑止は、感染において重要な過程であると考えられる。また、サプレッサーは植物内在性の RNA サイレンシング経路を攪乱し、生育不良を誘導する。従って、サプレッサーはウイルスの病原性を制御する因子でもありと考えられ、植物ウイルスの病原性発現機構の解明においてサプレッサーの機能解析は重要である。

Plantago asiatica mosaic virus (PIAMV) は、*Alphaflexivirus* 科 *Potexvirus* 属に属する RNA ウイルスである。ゲノム上には RdRp、3 つの移行タンパク質 (TGBp1, -2, -3)、

外被タンパク質をコードする。このうち TGBp1 がサプレッサー活性を持つが、詳細な作用機構は不明である。本研究では、PIAMV の TGBp1 を用いて病原性制御に関する機能解析を行った。

まず、TGBp1 形質転換シロイヌナズナを作成し、解析を行ったところ、TGBp1 はシロイヌナズナの *trans*-acting siRNA (tasiRNA) 経路中の二本鎖 RNA 段階を阻害することが示された。二本鎖 RNA の合成には SGS3、RDR6 が関与するため、解析を行ったところ、TGBp1 は両者と相互作用することが示された。さらに、ウイルス感染において TGBp1 はウイルスの増殖を促進することが示された。

以上より、PIAMV の TGBp1 は、植物内在性の tasiRNA 経路を攪乱し形態異常を誘導するとともに、ウイルスに対する RNA サイレncing を抑止することによりウイルス増殖を促進し、PIAMV の病原性に関与していることが示唆された。

3. 植物のウイルス増殖抑制機構のサプレッサーを利用したタンパク質高発現系の構築

植物ウイルスベクターは、目的遺伝子を過剰発現するツールとして有用である。PVX ベクターが有名であるが、導入遺伝子の安定性に課題がある。本研究では、PVX より強いサプレッサーを持つ PIAMV を用いて、効率的なウイルスベクターの構築を試みた。挿入配列の脱落を防ぐ工夫を施して構築を行った結果、目的遺伝子が安定的に発現するベクターの作出に成功した。続いて、PVX ベクターと比較を行った結果、PIAMV ベクターの方が長期間目的遺伝子を発現し、さらに、RNA サイレncing の誘導能が低いことが示された。従って、PIAMV ベクターによる目的タンパク質の安定的な発現は、PIAMV の TGBp1 の持つ強いサプレッサー活性に起因しており、これによりウイルス増殖が促進されていることが示唆された。

以上から、ウイルスの病原性を制御する直接的要因は、ウイルスの病原性因子が植物内在性の代謝経路に与える阻害的な影響であると考えられる。さらにウイルス増殖も、病原性因子の発現量を制御することにより、間接的に病原性発現の要因となっていると考えられる。本研究はこれらウイルスによる病原性の直接的・間接的要因を包括的に解明した。以上より、本研究の成果は、学術上の新規性、また応用上極めて価値が高い。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。