

審査の結果の要旨

氏名 李煥改

オオムギ縞萎縮ウイルス (*Barley yellow mosaic virus*, BaYMV) とコムギ縞萎縮ウイルス (*Wheat yellow mosaic virus*, WYMV) は世界各地のオオムギ、コムギ栽培圃場で発生し生育阻害により収量の減少をもたらす重要病原である。BaYMV と WYMV は *Bymovirus* 属に属しゲノムは 2 分節性プラス鎖 RNA (RNA1 と RNA2) で構成される。自然界では土壤生息微生物 *Polymyxa graminis* の遊走子により土壤中を伝搬される。ウイルス感染性が厚膜休眠胞子内に永年保持されるため、発生圃場からのウイルス病原除去は困難である。従って *Bymovirus* 属ウイルスによる病害防除のため抵抗性品種が用いられることが多い。しかし宿主の抵抗性を打破する変異型ウイルスが頻発して問題となっている。一方、*Bymovirus* 属ウイルスは宿主植物種が限定され、BaYMV はオオムギ、WYMV はコムギのみに発病する。*Bymovirus* 属ウイルスが感染を成立させるメカニズム、宿主の抵抗性機構、さらに宿主域決定機構は明らかではない。そこで本研究では *Bymovirus* 属ウイルス病に対するより効果的な抵抗性品種の育成を目ざして、*Bymovirus* 属ウイルスの感染性機構と宿主植物の抵抗性機構を解明する目的で行われた。全体を通して BaYMV および WYMV の感染性全長 cDNA クローン由来の *in vitro* 転写産物が接種源として用いられ、オオムギおよびコムギの系統品種由来の葉肉プロトプラストおよび幼苗個体が接種対象として使用された。

第一章の緒論に続き、第二章では BaYMV の抵抗性打破機構が解析されている。用いられた BaYMV 栃木 JT10 株は *rym5* 抵抗性遺伝子を持つオオムギ品種から分離された *rym5* 抵抗性打破株である。対照として以前構築された *rym5* 抵抗性非打破の BaYMV 倉敷 JK05 株を用いた。栃木 JT10 株と倉敷 JK05 株間のキメラ cDNA クローンを作製し、*rym5* 抵抗性打破に関わるウイルス因子を絞り込んだ。その結果、RNA1 にコードされたウイルスゲノム結合性タンパク質 VPg が特定された。栃木 JT10 株と倉敷 JK05 株の VPg 間では、全長 187 個のアミノ酸のうち 6 箇所に置換が見出され。特に 118 番目と 142 番目のアミノ酸置換が *rym5* 細胞内複製に重要だが、*rym5* 個体への全身感染には 6 箇所全てのアミノ酸置換が必要であることが示された。*rym5* 抵抗性遺伝子は翻訳開始因子 4E (eIF4E) をコードする報告がある。そこで本研究では罹病性オオムギ品種交 A より eIF4E 遺伝子を単離し、倉敷 JK05 株 RNA2 を改変した発現ベクターに挿入し、倉敷 JK05 株 RNA1 と共に *rym5* 抵抗性オオムギ細胞内での複製能を調べた。その結果、罹病性交 A 由来 eIF4E 遺伝子を発現する倉敷 JK05 株変異体は *rym5* 細胞内でも複製能を示し、eIF4E が *rym5* 抵抗性を細胞レベルで打破する因子であることが直接証明された。一方全身感染性には未特定の宿主因子が存在することも示された。*rym2* 抵抗性打破についても同様の研究がなされ、ウイルス P3 タンパク質が *rym2* 抵抗性打破に関わっている可能性が示された。

第三章では BaYMV と WYMV の宿主域決定機構が解析された。BaYMV はオオムギ葉とコムギ葉由来のプロトプラストで複製したが、WYMV はコムギ葉由来のプロトプラストでのみ複製した。従って BaYMV はコムギの移行レベルで、WYMV はオオムギの細胞レベルで宿主域が決定している可能性が示された。さらに、コムギ eIF4E 遺伝子を WYMV RNA2 に挿入し、WYMV RNA1 と共にオオムギプロトプラストに接種した結果、コムギ eIF4E 発現 WYMV RNA2+WYMV RNA1 はオオムギ細胞内での複製能を示した。BaYMV RNA1 の VPg 遺伝子を WYMV VPg 遺伝子と置換した変異型 BaYMV RNA1 はオオムギ

ロトプラスト内の複製能を失ったが、コムギ eIF4E 遺伝子発現 BaYMV RNA2 と共に接種することで複製能を回復した。ウイルス VPg と宿主 eIF4E が細胞内での RNA 複製に機能していることを示す最初の結果となる。

第四章の総合考察では、本論文を総括し今後の展望が述べられている。

以上、本研究では *Bymovirus* 属植物ウイルスの感染性機構と宿主植物の抵抗性機構の一端を明らかにし、本分野の研究展開の筋道を切り開いた。従来の圃場での抵抗性観察ではなく細胞レベルと個体レベルでの抵抗性解析を可能にした点は高く評価出来る。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。