

氏 名	藤 田 泰 成
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1012 号
学位授与の日付	平 成 10 年 5 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 農 林 生 物 学 専 攻
学位論文題目	ROLE OF BROMOVIRUS 3A MOVEMENT PROTEIN GENE IN HOST SPECIFICITY (宿主特異性におけるプロモウイルス3a移行タンパク質遺伝子の役割) (主査)
論文調査委員	教 授 古 澤 巖 教 授 泉 井 桂 教 授 津 田 盛 也

### 論 文 内 容 の 要 旨

一本鎖のプラス鎖RNAウイルスであるプロモウイルス属のブロムモザイクウイルス (BMV) とササゲクロロティックモトルウイルス (CCMV) は、分子レベルでの相同性は高いが、宿主域が大きく異なっている。BMVでは、単子葉植物のオムギなどを宿主としており、CCMVでは、双子葉植物のササゲなどを宿主としている。本研究では、これら2種類のウイルスの宿主特異性において、それぞれのウイルスが持つ3a移行タンパク質遺伝子がどのような役割を果たしているのかを明らかにした。本論文の主な内容は以下のとおりである。

1. CCMVの3a遺伝子をBMVの3a遺伝子で置換したキメラCCMVは、CCMVの本来の宿主植物であるササゲに全身感染できない。しかし、キメラCCMVを接種した約10%のササゲ個体においては、適応変異体の出現の結果、全身感染が認められる。本研究では、このキメラウイルスがササゲに全身感染するのに必要な適応変異を同定するために、その適応変異体出現植物体から適応変異体ウイルスのcDNAクローンを作製した。その塩基配列の解析と人工変異体を用いた解析の結果、3a遺伝子中の1アミノ酸変異 (Ser180→Arg) を伴う1塩基置換 (A776→C) は、キメラウイルスがササゲに適応 (全身感染) するのに必要な変異であることが明らかになった。このことから、3a遺伝子中のこの部位が宿主特異性を決めるウイルス-宿主間相互作用において重要な役割を果たしていることが明らかになった。

2. 適応変異体が出現した上述のキメラCCMV接種ササゲ個体からさらに5つの適応変異体ウイルスのcDNAクローンを作製し、その変異部位の分布状況と感染性の観点から適応変異体ウイルスの集団構成についての解析を行った。その結果、適応変異体ウイルスの集団は、それぞれのウイルス分子が適応変異 (A776→C) を持っているものの、そのほかにさまざまな変異を持ち、遺伝的にも感染能力の点からみてもヘテロな集団であることが明らかになった。このことから、感染過程のある段階で選択圧がかかり、適応変異 (A776→C) をもつウイルスのみが選抜されたこと、また、適応変異をもつウイルスによつてこの変異をもたないウイルスの感染が相補されないことを示した。また、これらのウイルス集団の構成状況から、ウイルスの宿主特異性を決定するような重要な適応変異をより効率的に同定する方法を提案した。

3. BMV/CCMVキメラ3a遺伝子をもつCCMV変異体シリーズを作製し、CCMV3a遺伝子内において宿主特異性に関与している領域の同定を行った。ササゲ、*Nicotiana benthamiana*および*Chenopodium quinoa*への感染実験の結果、3a遺伝子の5'側4/5の領域と3'側1/5の領域がともに宿主特異性に単独でも関与しうることが示した。

4. BMVの3a遺伝子で置換したキメラCCMVは、ササゲに全身感染できないが、3a遺伝子中に適応変異 (A776→C) が起こることによって、全身感染できるようになる。宿主特異性においてこの適応変異と3a遺伝子がどのような役割を果たしているのかを解明するために、キメラCCMVの感染拡大がどの部位で止まっているのかを調べた。その結果、キメラCCMVは、接種葉の表皮細胞、葉肉細胞そして維管束鞘細胞に感染することはできるが、葉脈の師部組織への移行が阻害されることによって葉脈を介した移行ができなくなっていることが明らかになった。このことから、適応変異 (A776→C)

は、キメラCCMVが師部組織へ移行するのに必要な変異であること、そして、3a遺伝子は、宿主特異的な師部組織への移行に関与していることが明らかになった。

## 論文審査の結果の要旨

ある特定の“植物種－ウイルスの組み合わせ”の場合にのみ感染が成立するという宿主特異性のメカニズムの解明は、植物病理学においては生物学上の根源的な問題の一つであるが、その分子レベルでの研究は、まだ緒についたばかりである。本研究では、宿主範囲は異なるが分子レベルでの相同性が高い2種類のウイルス間で細胞間移行に関与する遺伝子（3a移行タンパク質遺伝子）を組み換え、新しく合成されたキメラウイルスが、本来適応していない植物に対してどのように適応したのかを分子レベルで明らかにすることによって、宿主特異性における3a移行タンパク質遺伝子の役割を明らかにした。本研究の成果として評価すべき点は次のとおりである。

1. 自然界においては、偶然、ウイルスが新しい植物に出会い、ごくまれにそれら植物に適応して、長い年月をかけて進化している機構が推定されている。本研究では、キメラウイルスを作製して、その非宿主植物に接種することにより、新しい“植物－ウイルス間の相互作用”の起きうる状況を人為的に作り出し、一週間程度の短期間で新しいウイルスを出現させる実験系を創出したところが独創的である。さらに、従来の進化適応に関する研究は、推定することはできても検証が不可能であったのに対し、本システムでは、実験室レベルで観察、再現できうるため、実験的に検証していくことが可能である。このシステムは、今後、ウイルスの適応や宿主特異性の問題を解明する上で大きく寄与することが期待できる。
2. 3a遺伝子中の変異部位（A776→C）が宿主特異性において重要な役割を果たしていることを明らかにしているが、これは、宿主特異性を決定する宿主-ウイルス間の相互作用のメカニズムを解明していく上できわめて重要な知見である。
3. ウイルスの適応現象の実態をその集団の観点から捉えたという成果は新規性が高く、ウイルスの宿主適応現象に対する理解を深める興味深い知見である。
4. 宿主特異性に関与する3a遺伝子内領域の同定は、より詳細な宿主特異性機構を理解するためには必要不可欠な成果である。
5. 本研究では、3a移行タンパク質遺伝子が表皮細胞における細胞間移行だけでなく、宿主特異的な師部組織への移行にも関与していることを初めて明らかにした。単子葉植物に適応しているBMVの3a遺伝子をもつキメラCCMVが、双子葉植物の維管束系への移行が阻害されているという結果は、宿主特異性が、宿主の葉脈の形態学的な違いに起因していることを示唆しており、ウイルスの進化を考える上で大変興味深い知見である。

以上のように、本論文は、植物ウイルスの宿主特異性のメカニズムの解明に多くの新知見を与えるとともに、広く植物ウイルス学および植物病理学の進展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成10年4月16日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。