

(論文内容の要旨)

ウイルスは、作物にとって極めて重要な病原体のひとつである。ウイルスの植物への感染は、時として様々な病徴を誘導し、植物体に深刻な被害をひき起こす。このような病害の防除においては、ウイルスの感染そのものを抑制すること、あるいは植物体の生理的・形態的な異常を抑えることが重要である。植物における病徴発現には、病原体の因子のみでなく、宿主植物の因子も重要な役割を果たしており、植物における病害の抑制には、病原体の因子だけではなく、宿主因子、およびそれらの相互作用に関する知見を得る事が必要である。しかし、宿主植物の因子の解析は立ち後れており、これらの植物の病徴発現に関わる植物内遺伝子の同定と解析は、植物ウイルスによる病害を理解し、抑制する上での基盤となると考えられる。本研究では、モデル植物のシロイヌナズナに感染するブロモウイルスの遺伝子操作系を確立し、さらに、ブロモウイルスがシロイヌナズナに感染した際に引き起こされる激しい全身壊疽病徴の発現に関わる植物の内在性遺伝子を同定し、その病徴発現メカニズムについて解析を行った。その主な内容は以下のとおりである。

1. これまでブロモウイルスの研究は主に *Brome mosaic virus* (BMV) を用いられてきたが、BMV はシロイヌナズナをはじめとするモデル植物に感染せず、宿主の研究は立ち後れていた。本研究では、BMV に近縁な *Cassia yellow blotch virus* (CYBV) がシロイヌナズナに感染することを確認、このウイルスを用いた宿主内遺伝子の解析を行うために、CYBV の遺伝子操作系を確立した。さらに、植物プロトプラストにおいて、CYBV と近縁な 3 種のブロモウイルス間でのゲノム交換体の複製能の検討を行うことで、これらのブロモウイルスの類縁関係を明らかにした。

2. 上述のCYBVに加え、シロイヌナズナに感染するプロモウイルス*Spring beauty latent virus* (SBLV)のシロイヌナズナの様々なアクセッションにおける感染性を調べた。その結果、SBLVはアクセッションCol-0 には無病徴で全身感染するが、アクセッションS96 には、全身感染するものの枯死を伴った激しい病徴を引き起こすことがわかった。本研究では、このCol-0 とS96 間での病徴発現の違いを引き起こす、核内の不完全優性の単一遺伝子座*SSB1* (Symptom development by SBLV infection)を第4染色体上の約100kbの領域内にマッピングし、さらに、この領域内の2つのTIR (Toll Interleukin Receptor) – NB (Nucleotide Binding site) – LRR (Leucine Rich Repeat)型のドメイン構造を持つ遺伝子*At4g36140* と*At4g36150* を*SSB1* として同定し、*SSB1A*、*SSB1B*と命名した。

3. *SSB1A*、*SSB1B* は抵抗性遺伝子に広く見られる TIR-NB-LRR 構造を持つが、プロモウイルス感染を抑制せず、植物体を全身壊疽させる遺伝子として機能している。*SSB1A*、*SSB1B* をもつ S96 において、植物の抵抗性に関わるサリチル酸の生合成遺伝子 *SID2* に変異を導入した結果、この全身壊疽病徴が著しく抑制された。また、SBLV の感染した S96 において、抵抗性反応の誘導の際に蓄積する *PR-1*、*EDS1* の mRNA の蓄積が観察された。また、NB-LRR 型の抵抗性遺伝子の機能発現に必要であるといわれている *SGT1*、*RAR1*、*HSP90* をジーンサイレンシングで抑制した植物において、*SSB1A*、*SSB1B* の壊死誘導能が抑制された。以上のことから、SBLV が感染した S96 における壊死病徴は、病原体に対する過敏感細胞死を伴う抵抗性反応が全身で起こり、植物体自体を枯死させているものであると考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

植物ウイルスは宿主植物に感染した際に、時として様々な病徴を引き起こし、植物体に深刻な被害を与える。このような病徴の発現には、ウイルス側の因子と植物側の因子の双方が関わっていると考えられる。本論文は、ブロモウイルスが感染した際に、シロイヌナズナに引き起こされる激しい全身壊疽病徴の原因遺伝子を同定するとともに、その病徴発現機構について解析し、この全身壊疽病徴が、本来、植物が自身を守るための抵抗性反応によって植物体自体を枯死させているという現象であることを示したものである。評価すべき点は以下のとおりである。

1. これまでブロモウイルスの研究は主に *Brome mosaic virus* (BMV)を用いられてきたが、BMV はシロイヌナズナをはじめとするモデル植物に感染せず、宿主の研究は立ち後れていた。本研究では、BMV に近縁な *Cassia yellow blotch virus* (CYBV) がシロイヌナズナに感染することを確認、このウイルスの遺伝子操作系を確立し、ブロモウイルスとシロイヌナズナを用いた宿主因子研究の基盤をつくった。

2. 上述のCYBVに加え、シロイヌナズナに感染するブロモウイルス *Spring beauty latent virus* (SBLV)のシロイヌナズナにおける感染性を調査したところ、これらのブロモウイルスがアクセッションCol-0 には無病徴で全身感染するが、アクセッションS96 には、全身感染するものの枯死を伴った激しい病徴を引き起こすことがわかった。本論文では、このCol-0 とS96 間での病徴発現の違いを引き起こすSSB1 (Symptom development by SBLV infection)遺伝子を同定した。この現象は隣接する2つの遺伝子SSB1A、SSB1Bによって引き起こされており、これらの遺伝子は、抵抗性遺伝子に広く見られるTIR (Toll Interleukin Receptor) – NB (Nucleotide Binding site) – LRR (Leucline Rich Repeat)型のドメイン構造を持つことを明らかに

した。

3. *SSB1A*、*SSB1B* は抵抗性遺伝子に広く見られる TIR-NB-LRR 構造を持つが、ブロモウイルス感染を抑制せず、植物体を全身壊疽させる遺伝子として機能している。*SSB1A*、*SSB1B* をもつ S96 において、植物の抵抗性に関わるサリチル酸の生合成経路を阻害するとブロモウイルス感染に伴う病徴が抑制され、さらに、ブロモウイルス感染に伴い、S96 では、抵抗性反応の指標とされる *PR-1*、*EDS1* の mRNA の蓄積が観察された。また、*SSB1A*、*SSB1B* は、多くの NB-LRR 型の抵抗性遺伝子と同じく *SGT1*、*RAR1*、*HSP90* による制御を受けていることが明らかになった。以上のことから、ブロモウイルスが感染した S96 における壊死病徴は、病原体に対する過敏感細胞死を伴う抵抗性反応の一種であり、抵抗性反応が植物体全身で起こり、植物体自体を枯死させているものであると考えられた。

以上のように、本論文は、ブロモウイルスの感染により植物体に全身壊疽病徴を引き起こす植物の内在性遺伝子を同定するとともに、その病徴発現機構は、本来、植物の植物病原体に対する過敏感細胞死を伴う抵抗性反応と共通するものであることを明らかにし、抵抗性遺伝子様の遺伝子が全身壊疽などの病徴を起こするという知見を示した。このような植物体に全身壊疽を起こすような植物の内在性遺伝子の同定例は過去になく、本論文は植物病理学とウイルス学の分野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 20 年 4 月 17 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。