

## 学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	八坂 亮祐		
審査委員	主査 佐賀大学 教授 大島 一里		
	副査 佐賀大学 准教授 草場 基章		
	副査 鹿児島大学 教授 岩井 久		
	副査 琉球大学 教授 田場 聰		
	副査 佐賀大学 准教授 徳田 誠		
審査協力者	印		
題目	アブラナ科ウイルスの時間尺度と拡散経路に関する研究 (Study on the timescales and migration routes of the viruses infecting Brassicaceae plants)		

動物ウイルスのインフルエンザウイルスやエイズウイルスなどでは、将来のワクチン生産に不可欠であるため、時間尺度や拡散経路に関する研究が精力的に行われている。一方植物ウイルスではウイルス病防除そして抵抗性植物育成にこのような研究が必要であるが、1本鎖DNAのジェミニウイルス科のウイルス種などにこれまで研究が限られている。そこで本研究では、未だ研究の行われていないアブラナ科植物に感染する約8kbの2本鎖DNAを持つカリフラワーモザイクウイルス(CaMV)と約9.8kbの1本鎖RNAを持つカブモザイクモザイクウイルス(TuMV)を取り上げ、両ウイルスの時間尺度と拡散経路について解析した。

CaMVについては、ギリシャ、iran、トルコおよび日本から67分離株を採集し全ゲノム構造を決定後、国際塩基配列データベースに登録されている9分離株の塩基配列と合わせた76分離株を用いて分子進化的に解析した。多くのCaMVゲノムに組換え部位が認められた。特にiranおよび日本産分離株のORF VIの5'および3'末端、ギリシャ産分離株のORF VIの3'末端において多くの組換え部位が検出された。組換え体を除きCaMV集団の進化速度、時間尺度および系統地

理学的なパターンを推定した。オープンリーディングフレーム (ORF) I-V と ORF VI 領域の分子進化的な比較から、両領域は異なる進化的な歴史を持っていたことが明らかになり、分子系統解析から本ウイルス集団は地理的隔離により分化した 4 グループが存在することが認められた。また ORF I-V および ORF VI 領域の塩基置換速度はそれぞれ 1.71 および  $5.81 \times 10^{-4}$  塩基/部位/年と算出された。この値を基に CaMV 集団の時間尺度を推定すると、共通祖先と考えられる集団から約 400-500 年前に分歧し、現在のユーラシア大陸諸国に広く拡がっていることが明らかとなった。また系統地理学的な解析から、特にトルコとその近隣諸国において遺伝子流動が起きていることが明らかとなった。

TuMVについては、オーストラリアおよびニュージーランドから 32 分離株を採集し全ゲノム構造を決定後、主に我々が解析し国際塩基配列データベースに登録している 197 分離株の塩基配列と合わせた 229 分離株について解析した。組換え解析から、両国でこれまでにない新たな 11 組換え体型が認められ、そのうち 1 組換え体型は両国間で共通していた。しかし両国間の遺伝集団は異なっており、またヨーロッパやアジア諸国の集団とも異なっていた。多くの TuMV ゲノム中に組換え部位が認められたため、組換え部位の少ない 3 遺伝子の一部の領域 [ヘルパー成分プロテアーゼタンパク質 (HC-Pro\*), 第 3 タンパク質 (P3\*) および核内封入体 b タンパク質 (NIb\*)] を用いて時間尺度と拡散経路について解析を行った。ベイズ合祖理論に基づいて解析した結果、HC-Pro\*, P3\* および NIb\* 遺伝子領域の塩基置換速度はそれぞれ 1.47, 1.35,  $1.30 \times 10^{-4}$  塩基/部位/年と算出された。病原性の違いや進化的背景を考慮すると、各ゲノム型サブグループごとに TuMV の拡散時期および経路は異なることが予想されたため、解析はこれらサブグループごとに行つた。その結果、おおよそ 80 年前以降にヨーロッパから両国に侵入し、basal-B2 分子系統サブグループが最も古い遺伝集団として両国へと侵入したと思われた。さらに組換え時期の推定を行うと、オーストラリアおよびニュージーランド分離株ではそれぞれ 1958-2001 年および 1947-2002 年に組換えが起きたことが明らかになった。

以上の結果から、本研究は、アブラナ科植物に感染する CaMV と TuMV の時間尺度と拡散経路を初めて明らかにし、両ウイルスが農業の発展の歴史や人類の移動に関係して拡散してきたことを明らかにした。本研究は植物ウイルスの地球規模での拡散に関わるモデルケースの研究になると思われ、これら知見により、国際的な植物防疫や発生予察に基づく抵抗性品種の作出などの応用研究が発展することが期待できるため、植物病理学上の貢献は極めて大きいと評価できる。

よって、本論文は博士（農学）の授与に十分な価値があるものと判断した。