

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏 名	リスカ
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 岩井 久
	副査 鹿児島大学 准教授 中村 正幸
	副査 佐賀大学 教授 大島 一里
	副査 鹿児島大学 教授 津田 勝男
	副査 佐賀大学 准教授 草場 基章
審査協力者	印
実施年月日	令和 2年 1月 25日
試験方法（該当のものを○で囲むこと。） (口答)・筆答	
<p>主査および副査は、令和2年1月25日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者
氏名

リスカ

[質問 1]

日本国内の4ヶ所から分離された EAPDV であるが、宿主範囲試験における検定植物の反応は、例外なく全てにおいて一致していたのか？

[回答 1]

全て一致していた。確かに、地理的にかなり離れた場所からの分離株にしては、接種植物の反応が全く一致しているのは奇異に思われるが、たぶん 2013 年前後に、罹病挿し木苗が空輸等によって短期間に移動したものと思われる。ポリプロテインのアミノ酸配列の相同性が相互に 98.4~98.9% と高いことから裏付けられる。

[質問 2]

EAPDV と EAPV を *P. foetida* に重複感染させた実験の結果についてであるが、病徴の激しさと植物体内でのウイルス粒子の増殖量が一致してはいないが、この結果の再現性はどの程度か？

[回答 2]

実験区ごとに5個体を供試し、それを2反復して、同じ結果を得た。

[質問 3]

それでは、病徴の程度とウイルス量が一致しない現象はどのように説明できるのか？

[回答 3]

これはある意味ウイルス学における大きな課題である。病徴と増殖量の不一致については、多くの先行研究や推定が成されてきている。病徴写真を注意して見ると解るが、葉のモザイク症状が劇症の場合に、退緑部分に細かい壊死部分が散在する。これは宿主側の抵抗反応と考えることもできる。つまりウイルスが侵入し増殖しつつある組織では、一種の過敏死（アポトーシスの一種）が誘導され、その結果ウイルスの増殖が抑制される可能性がある。それを推論するために、本研究の後半で、PR タンパク質（感染過程で特異的に発現する植物タンパク質）であるリボキシゲナーゼ 2 (LOX2) とカテプシン B 様システインプロテアーゼの遺伝子に着目し、両ウイルスの重複感染の態様によって発現量に違いがあるかどうかを調べた。その結果 LOX2 は、EAPDV と EAPV が重複感染した場合は（同時接種と時間差接種の区別なく）単独感染の場合よりも高い発現量を示した。またシステインプロテアーゼは、EAPDV と EAPV を混合して同時接種した場合のみに、単独感染の場合より高い発現量を示し、時間差接種の場合には、一次接種したウイルスが単独感染した場合と、同等の発現量を示す（つまり発現量は最初に接種したウイルスに影響される）という興味深い結果となった。これらを総括すると、劇症の組織中ではウイルス増殖を抑制する可能性のある PR 遺伝子の発現が活発になっていることが示唆される。

[質問 4]

その PR タンパク質は、他にも色々あると考えられるが、どうしてこの 2 種のみに着目したのか？

[回答 4]

トケイソウ科植物は、PR 遺伝子に限らず、ゲノム情報がまだ十分に蓄積されていない。その中において LOX2 とカテプシン B 様システインプロテアーゼについては、*P. edulis* の遺伝子がデータベース上に登録されていたので、それらをテンプレートにしてスクリーニングした結果、同様の遺伝子が、本研究で初めて *P. foetida* から捕捉された。

[質問 5]

P. foetida において初めて、ウイルス抵抗性に関与する PR 遺伝子を同定できたことは、新知見として論文にできるのではないか？

[回答 5]

今のところは、リアルタイム PCR に利用するための部分配列のみを明らかにしているの、今後は遺伝子の完全長の配列を明らかにし、できれば短報として発表したい。

[質問 6]

EAPDV と EAPV は、重複感染している場合に、同じ細胞中で共存しているのか？それとも感染組織を住み分けているのか？

[回答 6]

調べていないので解らない。また potyvirus 同士での知見はまだ無い。別の属同士では、互いに相補して細胞内での蓄積を安定させる例がある。例えば cucumovirus と potyvirus や、potexvirus と potyvirus などである。

[質問 7]

仮に EAPDV と EAPV が同じ細胞で共存しているとしたら、複製中にキメラ化して変異株を創る可能性はないか？

[回答 7]

文献によると、3'NCR (非翻訳領域) と 5'NCR 末端の VPg タンパク質がクロストークして複製ミスを防いでいるらしい。

[質問 8]

EAPV は台湾やベトナムまで分布域が広がっているとのことだが、インドネシアには侵入していないのか？

[回答 8]

本研究を進める過程で西スマトラの材料を輸入して調べたが、今のところ EAPDV と EAPV は見つかっておらず、奇形果も認められていない。