

学位論文題名

Molecular Evolution of *Cucumber Mosaic Virus*
Soybean Strains (SSVs) and Their Adaptation
to Cultivated and Wild Soybeans

(キュウリモザイクウイルスダイズ系統の分子進化と
ダイズやツルマメへの適応)

学位論文内容の要旨

キュウリモザイクウイルス (CMV) は1000種以上の植物に感染し、世界中の作物に多大な被害を与えている。特にダイズに感染するもの (CMVダイズ系統) は、過去にダイズ萎縮ウイルス (SSV) と呼ばれ、日本や東南アジアで被害報告が出された。SSV感染自体はさほど減収に直結することはないが、感染種子は表面に褐色の斑紋を形成し、商品価値が著しく低下してしまう。CMVの普通系統と比較してSSVの宿主範囲は狭くなっており、SSVの系統とダイズ品種との間には様々な抵抗性が存在する。他のCMVと宿主間にこれほど多様な抵抗性を観察することはない。SSVとダイズの組み合わせに特徴的と言える。今回、我々はこの抵抗性の多様性を生み出す原因について考察するために、8系統のSSVを日本、韓国、中国、インドネシアから収集し、分子生物学的、系統進化的解析を試みた。以下に研究結果についてその概略を箇条書きにする。

1. SSVの宿主範囲

SSVはダイズと野生ダイズ (ツルマメ) によく感染するが、CMVの一般的な宿主であるタバコ、トマトそしてキュウリなどには一部の例外を除いて全身感染しない。これは、SSVがダイズによく適応した結果と考えられる。

2. ダイズ品種のSSV抵抗性

日本で過去に収集されたSSVを4系統 (A, B, C, D)、中国分離株 (Ch)、インドネシア分離株 (In) そして当教室で独自にロシアで採集したツルマメから分離したもの (WR)、さらには韓国のツルマメから分離したもの (K) の8系統のSSVを準備した。これらをダイズとツルマメに接種して、SSVの寄生性を調査した結果、特にSSV-Inが日本の南部で採集されたツルマメに全身感染できないことが判明した。

3. SSVの塩基配列、アミノ酸配列の比較

SSVは他のCMV同様3本のゲノムRNAをもっている。各SSV系統のRNAをすべてクローニングし、全長の塩基配列を決定した。その結果、ゲノムの構造やコードしているタンパク質はすべてCMVのものと同じであり、高い相同性が観察された。しかし、各

遺伝子について塩基配列の系統樹を構築すると、SSVは他のCMVと独立したグループを作ることが明らかになり、ダイズへの適応の結果だと予想された。多数の植物を宿主とするCMVがその他のグループ (subgroup IA, IB, II) を作っていることから、SSVはこのウイルスの系統の中で例外的な存在といえる。

4. ダイズ品種への全身感染を決定するウイルス因子

ダイズ品種にはウイルス抵抗性因子が育種によって積極的に導入されているものと考えられる。もし、SSV抵抗性が複数の遺伝子に制御されているときには遺伝解析が難しくなる可能性があるため、ツルマメにSSVを接種してSSV遺伝子と抵抗性の関係について解析した。供試するツルマメはSSV-Dに全身感染して、SSV-Cに全身感染しないHyougoを選抜した。感染性のある転写産物をcDNAクローンから合成するシステムを構築し、様々なシュードリコンビナントウイルスやキメラウイルスを接種した。その結果、Hyougoに全身感染するために必要となる遺伝子は3aタンパク質の遺伝子であることが判明した。

5. 3a遺伝子の進化

SSVの3aタンパク質がダイズ (ツルマメ) の品種抵抗性に重要であることが明らかになったので、3a遺伝子をさらに詳細な系統進化学的な解析を行った。普通系統のCMVが属するsubgroup IAとSSV groupの中での1塩基あたりの非同義置換の数を比較したところ、SSVは前者の5倍のスピードで変化していることが判明した。これはSSVがダイズへ適応するために、3aタンパク質が選択圧にさらされて進化してきたことを示唆するものである。コートタンパク質 (CP) 遺伝子についても同様に比較した結果は、両者のグループで有意な差が検出できず、CPには3aタンパク質ほどの選択圧がなかったことがわかった。

6. SSVの進化とダイズ (ツルマメ) への適応

栽培ダイズは野生のダイズ (ツルマメ) から進化したと考えられ、両者には交配の障害が全くないため、自然界でも高率で遺伝子を交換している。栽培ダイズは必ずしも現在の栽培地で長期間育成されたものではないため、SSVに対する抵抗性の地理的な違いを観察するのに適していない。したがって、我々はツルマメとSSVの組合せが両者の進化を考察するために貴重な情報をもたらすものと判断した。SSV-Inのみが日本の南方のツルマメに全身感染できないことは、次のように理解できる。インドネシアにはツルマメが自生していないため、SSV-Inは栽培ダイズで経代してきたものと考えらる。したがって、インドネシアダイズと異なる遺伝子型をたまたま持つツルマメに感染する能力をもっていなかったとしても不思議ではない。我々が発見したSSVとツルマメとの適応関係は、「赤の女王仮説」によってよく説明されるかもしれない。「赤の女王仮説」はもともと進化における有性生殖の意義について説明するために考えられたものであり、病原体との競争こそ生物の進化の原動力となるという前提がある。「病原体が宿主を変化させ、宿主が病原体を変化させる」ということが繰り返し行われ、生物は進化すると説明される。ダイズやツルマメにたくさんの抵抗性遺伝子が存在することは宿主が変化してきたことを意味し、SSVの3aタンパクがアミノ酸配列を変えてきたことは、病原体が

変化したことを意味する。今後、さらなるSSVの分離株の解析を積み重ねることで、「赤の女王仮説」をうまく指示する具体例となるかもしれない。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 上 田 一 郎
副 査 教 授 増 田 税
副 査 教 授 伴 戸 久 徳

学 位 論 文 題 名

Molecular Evolution of *Cucumber Mosaic Virus* Soybean Strains (SSVs) and Their Adaptation to Cultivated and Wild Soybeans

(キュウリモザイクウイルスダイズ系統の分子進化と
ダイズやツルマメへの適応)

本研究は、図17、表9、引用文献110を含み、6章からなる総ページ数91の英文論文である。他に参考論文2編が添えられている。

キュウリモザイクウイルス (CMV) は1000種以上の植物に感染し、世界中の作物に多大な被害を与えている。特にダイズに感染するもの (CMV ダイズ系統) は、過去にダイズ萎縮ウイルス (SSV) と呼ばれ、日本や東南アジアで被害報告が出された。CMV の普通系統と比較して SSV の宿主範囲は狭くなっており、SSV の系統とダイズ品種との間には様々な抵抗性が存在し、SSV とダイズの組合せに特徴的である。この抵抗性の多様性を生み出す原因について考察するために、8系統の SSV について分子生物学的、系統進化学的解析を試みた。

1. SSV の宿主範囲

SSV はダイズと野生ダイズ (ツルマメ) によく感染するが、CMV の一般的な宿主であるタバコ、トマトそしてキュウリなどには一部の例外を除いて全身感染しない。これは、SSV がダイズによく適応した結果と考えられる。

2. ダイズ品種の SSV 抵抗性

日本で分離された SSV 4系統 (A, B, C, AE)、中国分離株 (Ch)、インドネシア分離株 (In) そして当教室で独自に分離したもの (WR)、さらには韓国のツルマメから分離したもの (K)、計8系統の SSV を準備した。これらをダイズとツルマメに接種して、SSV の寄生性を調査した結果、特に SSV-In が日本の南部で採集されたツルマメに全身感染できないことが判明した。

3. SSV の塩基配列、アミノ酸配列の比較

SSV は他の CMV 同様3本のゲノム RNA をもっている。各 SSV 系統の RNA をすべてクローニングし、全長の塩基配列を決定した。その結果、ゲノムの構造やコー

ドしているタンパク質はすべて CMV のものと同じであり、高い相同性が観察された。しかし、各遺伝子について塩基配列の系統樹を構築すると、SSV は他の CMV から独立したグループを作ることが明らかになり、ダイズへの適応の結果だと予想された。多数の植物を宿主とする CMV がその他のグループ (subgroup IA, IB, II) を作っていることから、SSV はこのウイルスの系統の中で例外的な存在といえる。

4. ダイズ品種への全身感染を決定するウイルス因子

野生ダイズであるツルマメに SSV を接種して SSV 遺伝子と抵抗性の関係について解析した。供試するツルマメは SSV-D に全身感染して、SSV-C に全身感染しない Hyougo を選抜した。感染性のある転写産物を cDNA クローンから合成するシステムを構築し、様々なシュードリコンピナントウイルスやキメラウイルスを接種した結果、Hyougo に全身感染するために必要となる遺伝子は 3a タンパク質の遺伝子であることが判明した。

5. 3a 遺伝子の進化

SSV の 3a タンパク質がダイズ (ツルマメ) の品種抵抗性に重要であることが明らかになったので、3a 遺伝子について系統進化学的な解析を行った。普通系統の CMV が属する subgroup IA と SSV group 中での 1 塩基あたりの非同義置換の数を比較したところ、SSV は前者の 5 倍のスピードで変化していることが判明した。これは SSV がダイズへ適応するために、3a タンパク質が選択圧にさらされて進化してきたことを示唆するものである。コートタンパク質 (CP) 遺伝子についても同様に比較した結果は、両者のグループで有意な差が検出できず、CP には 3a タンパク質ほどの選択圧がなかったことがわかった。

6. SSV の進化とダイズ (ツルマメ) への適応

栽培ダイズとツルマメの間には交配の障害がないため、自然界でも高率で遺伝子を交換している。SSV-In のみが日本の南方のツルマメに全身感染できなかったのは、インドネシアにツルマメが自生していないため、ツルマメと共進化してこなかったためではなかろうか。このような SSV とツルマメとの適応関係は、「赤の女王仮説」に当てはまるかもしれない。ダイズやツルマメにたくさんの抵抗性遺伝子が存在することは宿主が変化してきたことを意味し、SSV の 3a タンパク質がアミノ酸配列を変えてきたことは、病原体が変化したことを意味する。今後、さらなる SSV の分離株の解析を積み重ねることで、「赤の女王仮説」をうまく指示する結果が得られるかもしれない。

以上のように本論文はウイルスと宿主の共進化を遺伝子の系統進化学的解析によって説明しようとしたものであり、CMV に対する抵抗性遺伝子の出現メカニズムを考慮する上で非常に興味深い。これらの研究成果は、関連学会でも学術上の高い評価を受けている。

よって、審査員一同は、洪鎮成氏が博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有すると認めた。