



Title	系統樹駆動型研究アプローチの確立による植物ウイルス進化機構の解明 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	川久保, 修佑
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第15755号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91942
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kwakubo_Syusuke_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（農学） 氏名 川久保 修佑

審査担当者 主査 教授 増田 税
副査 教授 貴島 祐治
副査 講師 志村 華子

学位論文題名

系統樹駆動型研究アプローチの確立による植物ウイルス進化機構の解明

本論文は6章からなり、図38、表13、文献135を含む頁数140の和文論文である。別に参考論文5編が付されている。

植物ウイルスの進化機構の解明は、ウイルス病の防除対策や抵抗性品種の作出など安定した農業生産の発展に大きく寄与する。ウイルスは、外界とのマルチスケールな相互作用のもとで進化するため、ウイルス進化の包括的な理解には、分子生物学的手法・分子系統解析・生命情報科学解析などの多階層的な融合アプローチが重要である。しかし、これらのスケールを貫いた融合研究事例は未だ少ない。本研究では、系統樹を主導とした情報解析から実験までをマルチスケールに貫く系統樹駆動型研究アプローチを確立させ、複数の植物ウイルスを対象にその進化機構を解明することを目的とした。

1. リーキ黄色条斑ウイルス (LYSV) の宿主適応進化

LYSVが属するポティウイルスは、201種のウイルスによって構成される植物RNAウイルス最大の分類群であり、極めて広範な宿主域を持つ。ポティウイルスは進化の過程で何度も独立に宿主域を変化させており、その宿主決定機構は未だ明らかでないことが多い。LYSVはニンニクにおける重要病原ウイルスであるが、ニンニク以外のネギ属植物でも感染が報告されている。本研究では、ベイズ法を導入した時間系統樹の構築により、LYSVのP1遺伝子に欠失を持つS-typeと欠失を持たないN-typeが13世紀ごろに分岐したことを明らかにした。また、birth-death modelを用いた適応度推定に基づき、S-typeの方がN-typeよりも高い適応度を持つという仮説を立てた。そして、アグロインフィルトレーション法によるタンパク質発現実験により、S-typeのP1タンパク質が高いRNAサイレンシングサプレッサー(RSS)活性を持つことを明らかにし、本仮説が実験的に支持されることを示した。また、N-typeには、リーキ特異的に感染する分離株から構成される単系統グループが存在することを示し、ジャンボニンニクとニンニク、リーキの異種間交雑種にも同グループのLYSVが感染していることを確認した。RT-PCRにより、これらの分離株はリーキ細胞内では極低濃度で存在する一方で、ジャンボニンニクおよび交雑種の細胞内では高濃度で存在することを明らかにした。また、祖先状態復元法を用い、LYSV祖先宿主の推定を行ったところ、LYSVの共通祖先は分岐初期において、リーキを宿主としていた可能性が高いことを示した。そこで、ポティウイルスの主要なRSSタンパク質であるP1とHC-Proに着目し、LYSVの宿主適応進化における重要因子を探索した。P1とHC-Proをリーキ細胞で共発現させると、リーキ特異的系統グループに属するLYSVはニンニクに感染するLYSVよりも高いRSS活性を示した。このRSS活性の相乗効果現象はタマネギと*Nicotiana benthamiana*の細胞内では確認されなかった。LYSVは、P1とHC-Proの共発現下におけるRSS活性を宿主ごとに変化させることで、異なる宿主への適応を可能とすることを示した。LYSVの宿主適応進化における方向性決定機構

を、系統樹情報の解析と分子生物学実験を融合したアプローチにより示した。

2. カブモザイクウイルス (TuMV) の日本における系統地理学的解析

TuMV は LYSV と同じポティウイルスの 1 種で、世界中に広く分布するアブラナ野菜の重要病原ウイルスである。TuMV は 1951 年に日本でも発生が報告されているが、日本国内における拡散様式や集団の年代推移などについては明らかでない。本研究では、日本全土で約半世紀に渡り採取された TuMV の大規模ゲノム疫学データを用い、網羅的な組換え解析および時空間的系統地理学解析を行なった。そして、TuMV の日本への侵入時期は江戸時代後期であること、日本における TuMV 集団の 90% が組換え体で、そのほとんどが日本独自に存在する組換え体型であることを示した。TuMV の進化において、ゲノムの組換えが大きな推進力になっていることを示した。

3. アレキシウイルス属の種分岐過程の解析

アレキシウイルス属は、ニンニクに感染する 8 種のウイルスから構成される。ベイズ系統解析により、アレキシウイルスの種分岐過程初期において、CRP 遺伝子の 10-20 塩基挿入された系統群が出現したことを明らかにした。そしてこの挿入領域の有無が、RSS タンパク質である CRP の発現様式と細胞内局在を変化させ、相互排他的な進化方向性を生み出したことを示した。

以上のように本研究では、マルチスケールな研究手法を融合した系統樹駆動型研究アプローチを確立し、複数の植物ウイルスを対象に、宿主適応過程、進化推進力、進化方向性の一端を解明した。これらの成果は、農作物の安定生産だけでなく生物進化原理の解明にも大きく貢献すると期待され、学術的に高く評価される。

よって、審査員一同は、川久保修佑氏が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。