

農学博士四方英四郎君の「植物ウイルス及びウイロイドの研究」 に対する授賞審査要旨

四方英四郎君は、昭和二四年以来三六年間、一貫して植物ウイルス、とくに虫媒性ウイルスを対象とする電子顕微鏡的研究を続け、さらに昭和五一年以来一〇年間、ウイロイドの研究を發展させ、優れた業績を挙げた。

同君が、はじめて病原ウイルス粒子を同定、或いは宿主組織内に発見したウイルスは、イネ萎縮病、イネ黒条萎縮病⁽²⁰⁾、wound tumor、イネ ragged stunt、イネ tungro、イネ hoja blanca、イネ黄葉病⁽¹⁹⁾、ムギ北地モザイク病⁽¹⁾、ジャガイモ葉巻病⁽²⁷⁾、エンドウ enation モザイク病⁽²⁾、ハッサク萎縮病等の虫媒性ウイルスで、これらは、今まで全く実体が明らかでなかったものである。

同君は、植物レオウイルスグループのイネ萎縮^(2, 6, 48)、イネ黒条萎縮^(23, 45)、wound tumor^(3, 4)等のウイルスは植物の師部局在性であるが、媒介昆虫のほとんどの組織、器官中に全身感染していること、さらに、感染細胞に特有の微細構造 viro-plasm をはじめて両宿主体内に発見し、これがウイルス粒子形成の場と考えられることを詳細に電子顕微鏡で示した。また、ウイルス媒介昆虫の胚子の初代組織培養にも成功している^(17, 27)。

同君は、植物レオウイルス粒子の微細構造、分節ゲノム数と分子量を比較検討し^(12, 22, 28, 30)、イネ ragged stunt ウイルスの新しい subgroup を設け^(30, 50)、今日広く認められるようになった。

また、イネ黄葉ウイルスは弾丸形で細胞の核膜依存成熟型であるが、ムギ北地モザイクウイルスは大型長円形の小胞体依存成熟型^(11,49)で、両者共ラブドウイルスに属することを明らかにした。

同君は、ジャガイモ葉巻ウイルスについて、循環型ウイルスとしてはじめて師部細胞内の所在を明らかにした^(7,8)。また、エンドウ *enation* モザイクウイルスでは、植物ウイルスとして最初の核内増殖の発見をしている^(7,8)。

植物と昆虫の両宿主体内での虫媒性ウイルスの全容を明らかにしたのは同君が最初で、これら一連の研究は世界の研究者を瞠目させた。これによって昆虫体内でのウイルスの動静がようやく明らかとなり^(46,47)、虫体内増殖説に対する永年の国際的論争が完全に終結するに至ったのは、同君の功績である。

また、抗原抗体反応の電子顕微鏡的研究の実用化をはかり、作物ウイルスの同定、診断に欠かせない検出法として発展させた^(24,25)。

現在は、虫媒性ウイルスの遺伝子構造と機能に関する研究に進み、イネ萎縮、黒条萎縮、ragged stunt ウイルスの一二乃至一〇本の分節二本鎖 RNA 遺伝子の *in vitro* transcripts 合成⁽³¹⁾、ウイルス粒子由来の RNA 転写酵素の活性、分節遺伝子のクローニング等について成果が得られつつある。

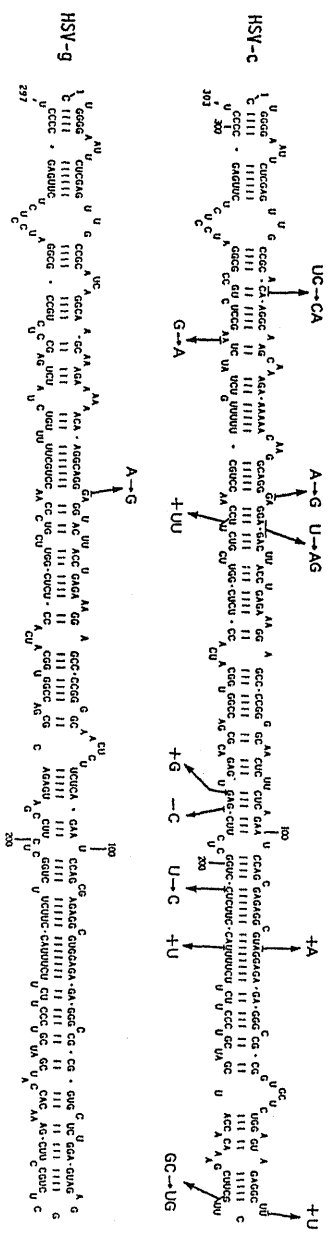
ホップ矮化病は、昭和三五年頃より東北各県に蔓延し大被害を与えたが、病原が不明で防除法が確立できなかった。昭和五二年、同君はキュウリによる生物検定法を発見してその防除法を確立し^(32,34,36)、その結果、ホップ矮化病はほとんど一掃されるに至った。また、同君は本病原が低分子の RNA、即ち、ウイルスである明確な証拠を示した^(33,35,51)。ウイルスは、昭和四六年、アメリカの Diener 博士が命名した新病原であるが、本邦では全く研究されておらず、世

界の趨勢に遠く立ち遅れていた。しかし、同君によってホップ矮化ウイロイドの分子構造が決定され、その後、本邦生化学者との共同研究により、ホップ矮化ウイロイドの相補 DNA (cDNA) から *in vitro* で合成した RNA 分子と、その cDNA 自体も病原性を有することが確認された^(38, 40)。この結果は、アメリカのジャガイモ spindle tuber ウイロイドの研究と相前後して報告され、ウイロイド cDNA の病原性発現に関する世界で唯一の例である。

同君は、オランダのキュウリ pale fruit ウイロイドの cDNA を合成し、その全塩基配列と二次構造を決定した⁽³⁹⁾。このウイロイドも相補性の高い環状一本鎖 RNA で、ホップ矮化ウイロイドより六塩基多い三〇三塩基であった。両者は病原性が同じで、塩基配列に九五%の相同性があり、ホップ矮化ウイロイドと同じ分子種で、そのキュウリ変異株 (HSV-c) であることを証明した⁽³⁹⁾。

ホップ矮化ウイロイドは本邦特有の病気である。同君はその由来を求め、本邦栽培ブドウからホップ矮化ウイロイドと同じ病原性を有し、HSV-a と相補性の高い低分子の RNA を発見し、その全塩基配列と二次構造を決定した⁽⁴¹⁾。同君は、ブドウのウイロイドもホップ矮化ウイロイドと同じ二九七塩基であるが、ループ部分に一塩基だけ置換があり、ホップ矮化ウイロイドのブドウ変異株 (HSV-g) であった⁽⁴²⁾。従ってホップ矮化病は、栽培地の接近しているブドウに由来した可能性があることも指摘した⁽⁴⁵⁾。(最近、さらにドイツ、フランス導入品種より抽出したブドウのウイロイドの分子構造をすべて決定したが、いずれも HSV-g と全く同じ塩基配列であった。)^(43, 45)

ブドウのウイロイドは世界で最初の発見である。本邦栽培品種と、欧米導入苗木からのごとく検出されたことは、今後のブドウの栽培上重大な問題である。しかし、同君の研究によりすでに生物検定法、遺伝子診断法が確立さ



図：上；キユウリ pale fruit ウィロイド (HSV-c) の2次構造と、下；ブドウのウィロイド (HSV-g) の2次構造。矢印の左は、ホップわい化ウイルス (HSV) の塩基配列、右は、置換された塩基を示す。+は HSV に対し挿入された塩基、-は欠損塩基。

れ、莖頂培養によるフリー化の実証等、今後の防除対策上貴重な成果が得られている。

そのほか同君は、棒状ウイルスの不活化に伴なう形態変化と抗原性の関係、ウイルスの血清反応及び診断及びマイコプラズマ様微生物に関する研究等があり、発表論文は一四八篇にのぼっている。

以上のように、同君は、植物ウイルス学上先駆的研究成果を挙げ、とくに虫媒性植物ウイルスと、イネのウイルスに関しては諸外国の追隨を許さぬ広範な研究をなし遂げ、世界で屈指の研究者となった。

一方、ウィロイドについては、ホップ矮化病の防除に貢献をしたほか、ホップとブドウの二種のウィロイドを発見

したのみならず、キャウリ pale fruit とブドウの二種のウイロイドの分子構造を決定して、ホップ矮化ウイロイドとの類縁関係を明らかにし、ウイロイドの研究上貴重な知見をもたらした。

同君の研究を契機に、本邦の植物ウイルスの電子顕微鏡的研究や、世界各国の虫媒性ウイルスの研究が大いに進展し、また、本邦のウイロイド研究が一躍世界の注視するところとなるなど、学問上の貢献多大である。このような研究に対し、同君は、昭和四二年、日本植物病理学会賞、昭和四九年、日本電子顕微鏡学会第一九回瀬藤賞を受賞した。とくに瀬藤賞は、農学分野で唯一人の受賞者である。

これまでに、国際的研究集会や諸外国の大学、研究所に招聘されたのは二〇回を超えている。現在は *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz* (Academie-Verlag, Berlin) の editor の一人でもある。

一、主要な論文目録

A 植物ウイルス

1. Fukushi, T., E. Shikata, I. Kimura and M. Nemoto: Electron microscopic studies on the rice dwarf virus. *Proc. Japan Acad.* 36: 352-357, 1960.
2. Fukushi, T., E. Shikata and I. Kimura: Some morphological characters of rice dwarf virus. *Virology* 18: 192-205, 1962.
3. Shikata, E., S. W. Orenski, H. Hiruki, J. Mitsuhashi and K. Maramorosch: Electron micrographs of wound tumor virus in an animal host and a plant tumor. *Ibid.*, 23: 441-444, 1964.

4. Shikata, E. and K. Maramorosch: Electron microscopic evidence for the systemic invasion of an insect host by a plant pathogenic virus. *Ibid.*, **27**: 461-467, 1965.
5. Shikata, E. and K. Maramorosch: An electron microscopic study of plant neoplasia induced by wound tumor virus. *J. Nat. Cancer Inst.* **36**: 97-116, 1966.
6. Shikata, E.: Electron microscopic studies on plant viruses. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* **55**: 1-110, 1966.
7. Shikata, E., K. Maramorosch and R. R. Granados: Electron microscopy of pea enation mosaic virus in plants and aphid vectors. *Virology* **29**: 426-436, 1966.
8. Shikata, E. and K. Maramorosch: Electron microscopy of pea enation mosaic virus in plant cell nuclei. *Ibid.*, **30**: 439-454, 1966.
9. Shikata, E. and K. Maramorosch: Electron microscopy of wound tumor virus assembly sites in insect vectors and plants. *Ibid.*, **32**: 363-377, 1967.
10. Shikata, E. and K. Maramorosch: Electron microscopy of the formation of wound tumor virus in abdominally inoculated insect vectors. *J. Virol.* **1**: 1052-1073, 1967.
11. Shikata, E. and Y. T. Lu: Electron microscopy of northern cereal mosaic virus in Japan. *Proc. Japan Acad.* **43**: 918-923, 1967.
12. Kimura, I. and E. Shikata: Structural model of rice dwarf virus. *Ibid.*, **44**: 538-543, 1968.
13. Kojima, M., E. Shikata, M. Sugawara and D. Murayama: Isolation and electron microscopy of potato leafroll virus from plants. *Virology* **35**: 612-615, 1968.
14. Shikata, E. and A. Sasaki: Long flexuous threads associated with Haasaku dwarf disease of

- citrus trees. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* 56: 119-224, 1969.
15. Shikata, E. and G. E. Galvez: Fine flexuous threadlike particles in cells of plants and insect hosts infected with rice hoja blanca virus. *Virology* 39: 635-641, 1969.
 16. Kojima, M., E. Shikata, M. Sugawara and D. Murayama: Purification and electron microscopy of potato leafroll virus. *Ibid.*, 39: 162-174, 1969.
 17. Shikata, E., K. Yamada and T. Tokumitsu: Embryonic tissue culture of planthopper and leafhopper vectors of plant pathogenic viruses. *J. Fac. Hokkaido Univ.* 56: 292-302, 1970.
 18. Galvez, G. E., E. Shikata and M. S. A. Miah: Transmission and electron microscopy of rice tungro virus strain. *Phytopath. Z.* 70: 53-61, 1971.
 19. Chen, M. J. and E. Shikata: Morphology and intercellular localization of rice transitory yellowing virus. *Virology* 46: 786-796, 1971.
 20. Kitagawa, Y. and E. Shikata: On some properties and purification of rice black-streaked dwarf virus. *Rev. Plant Prot. Res.* 4: 113-114, 1971.
 21. Chen, M. J. and E. Shikata: Electron microscopy and recovery of rice transitory yellowing virus from its leafhopper vector, *Nephotettix cincticeps*. *Virology* 47: 483-486, 1972.
 22. Reddy, D. V. R., E. Shikata, G. Boccardo and L. M. Black: Coelectrophoresis of double-stranded RNA from maize rough dwarf and rice black-streaked dwarf virus. *Ibid.*, 67: 279-282, 1975.
 23. Shikata, E. and Y. Kitagawa: Rice black-streaked dwarf virus. Its properties, morphology and intracellular localization. *Ibid.*, 77: 826-842, 1977.
 24. 中曾根恒一, 仙北俊弘, 小島 誠, 四方英四郎: 電子顕微鏡によるアム類ウイルスの検出—glow discharge

- 効果と leaf dip serology—北大農邦文紀要 11: 149-157, 1978.
25. Kojima, M., T.-G. Chou and E. Shikata: Rapid diagnosis of potato leaf roll virus by immune electron microscopy. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 44: 585-590, 1978.
26. Shikata, E., T. Senboku, K. Kamjūpai, T. G. Chou, E. R. Tiongco, E. R. and K. C. Ling: Rice ragged stunt virus, a new member of plant reovirus group. *Ibid.*, 45: 436-443, 1979.
27. 仙北俊弘, 四方英四郎: クロヌジツマヅロヨコバノ (*Nephotettix nigropictus* Stål), トビノロウソク (*Nilaparvata lugens* Stål) 胚子の組織培養について, 北大農邦文紀要 12: 101-108, 1980.
28. Uyeda, I. and E. Shikata: Ultrastructure of rice dwarf virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 48: 295-300, 1982.
29. Kawano, S. and E. Shikata: Purification and morphology of rice ragged stunt virus. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* 61: 209-218, 1983.
30. Kawano, S., I. Uyeda and E. Shikata: Particle structure and double-stranded RNA of rice ragged stunt virus. *Ibid.*, 61: 408-418, 1984.
31. Uyeda, I. and E. Shikata: Characterization of RNAs synthesized by the virion-associated transcriptase of rice dwarf virus *in vitro*. *Virus Research* 1: 527-532, 1984.
- 4
ホヤロヤ
32. Sasaki, M. and E. Shikata: Studies on the host range of hop stunt disease in Japan. *Proc. Japan Acad.* 53, ser. B: 103-108, 1977.
33. Sasaki, M. and E. Shikata: On some properties of hop stunt disease agent, A viroid. *Ibid.*, 53,

- ser. B: 109-112, 1977.
34. Sasaki, M. and E. Shikata: Studies on hop stunt disease I. Host range. Rept. Res. Lab. Kirin Brewery Co. Ltd. 21: 27-39, 1978.
35. Sasaki, M. and E. Shikata: Studies on hop stunt disease II. Properties of the casual agent, A viroid. Ibid., 21: 41-48, 1978.
36. Sasaki, M. and E. Shikata: Hop stunt disease. A new viroid disease occurring in Japan. Rev. Plant Prot. Res. 13: 97-113, 1980.
37. 佐野輝男, 佐々木真津生, 四方英四郎: ホウゾウ矮化ウイルスと Cucumber pale fruit viroid および potato spindle tuber viroid との関係について, 日植病報 47: 599-605, 1981.
38. Ohno, T., M. Ishikawa, N. Takamatu, T. Meshi, Y. Okada, T. Sano and E. Shikata: *In vitro* synthesis of infectious RNA molecules from cloned hop stunt viroid complementary DNA. Proc. Japan Acad. 59, ser. B: 251-254, 1983.
39. Sano, T., I. Uyeda, E. Shikata, T. Ohno and Y. Okada: Nucleotide sequence of cucumber pale fruit viroid: homology to hop stunt viroid. Nucleic Acid Res. 12: 3427-3434, 1984.
40. Meshi, T., M. Ishikawa, T. Ohno, Y. Okada, T. Sano, I. Uyeda and E. Shikata: Double-stranded cDNAs of hop stunt viroid are infectious. J. Biochem. 95: 1521-1524, 1984.
41. Shikata, E., T. Sano and I. Uyeda: An infectious low molecular weight RNA was detected in grapevines by molecular hybridization with hop stunt viroid cDNA. Proc. Japan Acad. 60, ser. B: 202-205, 1984.
42. Sano, T., I. Uyeda and E. Shikata: Comparative studies of hop stunt viroid and cucumber pale

- fruit viroid by polyacrylamide gel electrophoresis and electron microscopic examination. Ann. Phytopath. Soc. Japan 50: 339-345, 1984.
43. Sano, T., I. Uyeda, E. Shikata, T. Meshi, T. Ohno and Y. Okada: A viroid-like RNA isolated from grapevine has high sequence homology with hop stunt viroid. J. Gen. Virol. 66: 333-338, 1985.
44. Sano, T., I. Uyeda, E. Shikata, T. Meshi and Y. Okada: Nucleotide sequence of grapevine viroid: a grapevine isolate of hop stunt viroid. Proc. Japan Acad. 61, ser. B: 265-268, 1985.
45. 佐野輝男, 四方英四郎: フドヅから検出されるウイロイド, 植物防疫, 39: 361-364, 1985.

参考文献

46. Shikata, E. and K. Maramorosch: Electron microscopy of insect borne viruses *in situ*. in Viruses, Vectors, and Vegetation. (Maramorosch, K. ed.), Interscience Pub., New York, 393-415, 1969.
47. Maramorosch, K., E. Shikata and R.R. Granados: The fate of plant-pathogenic viruses in insect vectors: Electron microscopy observations. in Viruses, Vectors, and Vegetation. (Maramorosch, K. ed.), Interscience Pub., New York, 417-431, 1969.
48. Shikata, E.: Electron microscopic studies of rice viruses. in The Virus Diseases of The Rice Plant. (IRRI ed.), Johns Hopkins Press, Baltimore, 223-240, 1969.
49. Shikata, E.: Cytopathological changes in leafhopper vectors of plant viruses. in Leafhopper Vectors and Plant Disease Agents. (Maramorosch, K. and K. F. Harris eds.), Academic Press, New York, Chapter 7, 309-325, 1979.
50. Shikata, E.: Reoviruses. in Handbook of Plant Viruse Infections and Comparative Diagnosis.

- (E. Kurstak ed.), Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, New York, Oxford, 423-451, 1981.
51. Shikata, E.: Hop stunt viroid and hop viroid disease. *in* Subviral Pathogens of Plants and Animals: Viroid and Prions. (Maramorosch, K. and J. J. McKelvey Jr. eds.), Academic Press, New York, Chapter 5, 101-121, 1985.