

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	佐藤 一輝		
審査委員	主査	佐賀大学	准教授 吉賀 豊司
	副査	佐賀大学	教授 早川 洋一
	副査	鹿児島大学	准教授 坂巻 祥孝
	副査	鹿児島大学	教授 津田 勝男
	副査	佐賀大学	准教授 徳田 誠
審査協力者	印		
題目	<p>モデル線虫 <i>Caenorhabditis elegans</i> を用いた昆虫病原性細菌 <i>Photorhabdus luminescens</i> が発揮する病原性の遺伝学的解析 (Genetic analysis of virulence in the entomopathogenic bacterium <i>Photorhabdus luminescens</i> using model nematode <i>Caenorhabditis elegans</i>)</p>		
<p>昆虫病原性線虫は、様々な種類の昆虫に対して高い殺虫活性を示すが昆虫以外の動植物には寄生しないため、主に土壌中の害虫に対する有効な生物的防除資材として世界的に利用されている。昆虫病原性線虫の殺虫力は、腸内細菌科に属する昆虫病原性線虫に特異的な共生細菌に依存する部分が大きく、細菌のもつ病原性の解明は重要であるもののその全容はまだ解明されていない。その原因として、昆虫を宿主として病原性を解明する際に遺伝的解析が困難であり、病徴の進行過程を組織レベルで観察しにくいなどの実験上の様々な制約が挙げられる。一方、モデル生物として様々な分野で利用されている線虫 <i>Caenorhabditis elegans</i> は、ヒトなどの病原体と組み合わせる試みによって、病原性メカニズムや自然免疫系の研究にも利用されてきた。本研究では、昆虫病原性線虫 <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> と共生関係にある細菌 <i>Photorhabdus luminescens</i> の病原性メカニズムの解明を目指すため、<i>C. elegans</i> をモデル宿主として検討するとともに、<i>C. elegans</i> を用いた病原性解析のための新たな実験系を確立し、病原性因子の解析を行った。</p>			

まず *P. luminescens* が *C. elegans* に及ぼす影響について検討を行った。緑色蛍光タンパク質 (GFP) で標識した *P. luminescens* を摂食させた場合、体が透明である *C. elegans* では腸細胞が破壊される様子やその経過が観察された。また、*P. luminescens* の一部は咽頭を通過する際に破碎されずに生きてそのまま腸に達し、腸内で増殖することなく *C. elegans* を死亡させることが明らかとなった。次に、逆遺伝学的手法を用いた解析によって、*C. elegans* の自然免疫応答に関与するシグナル経路である p38 MAPK 経路および insulin/IGF-1 シグナル経路の *P. luminescens* に対する反応を調べた。p38 MAPK 経路は *P. luminescens* によって活性化され、線虫の生体防御に寄与しているのに対し、insulin/IGF-1 シグナル経路では *P. luminescens* によってインスリン様遺伝子が過発現し、その結果 insulin/IGF-1 シグナル経路を介した線虫の自然免疫応答は抑制されていることが明らかとなった。さらに、トランスポゾンの挿入により作出した変異株ライブラリについて *C. elegans* に対する病原性を指標としたスクリーニングを行い、*P. luminescens* の 700 株から病原性が減弱した 3 株を単離した。こうして得られた変異株の一つを解析した結果、細菌における新規ビタミン B₆ 生合成に必要な酵素である erythronate-4-phosphate dehydrogenase をコードする *pdxB* 遺伝子にトランスポゾンが挿入され、変異が生じていることが明らかとなった。*pdxB* 変異株は *C. elegans* に対する病原性と低栄養培地における増殖力が低下していたが、レスキュー実験またはビタミン B₆ を添加することで *C. elegans* に対する病原性や最少培地における増殖力が野生型と同じ程度にまで回復した。さらに *pdxB* 変異株は昆虫 (ジャイアントミールワーム) に対する殺虫活性も低下していた。これらの結果より、ビタミン B₆ の生産が *P. luminescens* の病原性の発現において重要であることを示唆する結果を得ている。

以上のように、本研究は *C. elegans* がモデル宿主として *P. luminescens* の病原性解析に有効であることを実証した。また、*P. luminescens* の病原性の発現においてはビタミン B₆ の生産が重要であることを初めて明らかにした。審査員一同は、本論文が博士 (農学) の学位論文として十分な価値があるものと認定した。