

(1027)

(学位第9号様式)

No. 1

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	吉田一貴
審査委員	主査 佐賀 大学 准教授 徳田 誠
	副査 佐賀 大学 教授 大島 一里
	副査 鹿児島 大学 准教授 坂巻 祥孝
	副査 琉球 大学 教授 辻 瑞樹
	副査 佐賀 大学 教授 吉賀 豊司
審査協力者	
実施年月日	令和 4年 8月 9日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答 <input type="radio"/> 筆答	
<p>主査及び副査は、令和4年8月9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	吉田 一貴
<p>[質問1] なぜヒメトビウンカのボルバキアによりRSVが抑制されるのか。そのメカニズムは物理的なものか。</p> <p>[回答1] ヒメトビウンカのボルバキアをカの培養細胞に感染させた先行研究では、ウイルスの細胞への侵入が抑制され、さらに、侵入後のウイルスの増殖も抑制されることが知られているため、おそらくこの2段階の抑制機構が存在するものと考えられる。</p> <p>[質問2] ヒメトビウンカのボルバキア株による他の共生者に対する抑制能力は他のボルバキア株に比べて強力である可能性があるかと考察していたが、その根拠は何か。</p> <p>[回答2] 今回の研究により、ヒメトビウンカのボルバキア株には細菌であるスピロプラズマとマイナス鎖RNAウイルスであるRSVを抑制する効果が確認されたが、このような効果は他のボルバキア株では確認されていないため、そのように考察した。またカの培養細胞を用いた先行研究では、ショウジョウバエ由来のボルバキア株が黄熱ウイルスに対して抑制効果を示さなかったのに対し、ヒメトビウンカのボルバキア株では顕著な抑制効果を示すことが確認されている。</p> <p>[質問3] ボルバキアの<i>cif</i>遺伝子の欠失は非常に興味深い現象であるが、これはどのくらいの期間の間に生じたと考えられるか。</p> <p>[回答3] 累代飼育を始めて約2年の間であるため、世代にして25世代程度の間が生じたと考えられる。</p> <p>[質問4] ヒメトビウンカ体内でのRSVやスピロプラズマ、ボルバキアの局在はどのようにになっているのか。空間的な競合はあるのか。</p> <p>[回答4] RSVは細胞内および口吻内などの細胞外に存在し、スピロプラズマは細胞内にも存在するが血リンパ内にも豊富に存在する。ボルバキアは細胞内に存在し、特に生殖細胞に局在することが知られている。細胞内など一部に空間的な競合も存在するが、それほど強いものではないと考えられる。</p> <p>[質問5] ボルバキアによりRSVが抑制されたというのは核酸レベルでの確認か。ウイルスの外被タンパク質レベルではどうか。</p> <p>[回答5] 今回はウイルスのゲノムRNA (vRNA)、cRNA、mRNA全てを含めたウイルスRNA配列を定量した。翻訳の段階での抑制があれば、今回の結果は抑制の程度を過小評価している可能性もあるため、今後タンパク質レベルでの解析も必要である。</p>	

[質問6] 第1章の生涯産卵数の結果で、Group 1の非感染系統の分散が大きいのが、この原因はどのようなことが考えられるか。

[回答6] 成虫寿命に有意差はなかったものの、非感染個体の一部は感染個体に比べて長期間生存して産卵し続けたものが見られた。そのため非感染系統の生涯産卵数の結果で分散が大きくなったと考えられる。

[質問7] 生涯産卵数の結果で、サンプル数をさらに増やせば有意差が確認されたのではないか。

[回答7] 今回の実験ではすべての個体の生涯にわたる産卵数を確認しており、定期的に交換したイネの幼苗をすべて解剖し、産み付けられたすべての卵を顕微鏡下で数えて正確な産卵数を確認した。労力的に、今回示した以上のサンプル数をこなすことは困難であった。また、先ほどの質問とも関連するが、非感染の処理区ではばらつきが大きかったことから、有意差が検出されるとしても大幅なサンプル量の増加が必要かもしれない。

[質問8] 先行研究として紹介されていたボルバキアによるフィラリア線虫やマラリア原虫、ウイルスの抑制メカニズムはどのようなものか。

[回答8] ボルバキアに感染したカの体内にフィラリアやマラリアが入ってもほとんど増殖・発生することができないことが確認されている。またカによるウイルスの獲得自体も妨げられる。ボルバキアが他者を攻撃するようなものではなく、宿主昆虫の免疫を上昇させて侵入を妨げているような状態であると考えられる。

[質問9] ボルバキアに対抗してRSVに変異が起こることは想定できないか。

[回答9] 起こり得ると考えられる。今回の実験に用いたRSV系統はボルバキア感染が宿主中にまん延している地域の由来であるため、ボルバキアによる抑制に対してすでに抵抗性を獲得している可能性もある。ボルバキア感染がまん延していない北海道などの地域のRSVがボルバキア感染に対してどのような応答を示すのかは非常に興味深く、今後の重要な研究課題と言える。

[質問10] 日本のヒメトビウンカに感染しているボルバキアの系統は遺伝的に一様なのか。

[回答10] 先行研究でボルバキア感染がヒメトビウンカの西日本から東日本方向に拡大していったことが示唆されており、国内のすべてのボルバキア系統は同一のものと考えられている。