

## 学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	降幡 駿介
審査委員	主査 佐賀大学 教授 早川 洋一
	副査 佐賀大学 教授 野間口真太郎
	副査 鹿児島大学 教授 杉元 康志
	副査 佐賀大学 准教授 吉賀 豊司
	副査 鹿児島大学 准教授 坂巻 祥孝
審査協力者	
題目	<p>Molecular biological analysis of parasitic strategies of endoparasitoid wasps.</p> <p>(内部寄生蜂の寄生戦略に関する分子生物学的解析)</p>
<p>広食性の内部寄生蜂 <i>Asobara japonica</i> は、ユニークな寄生戦略を用いて、ショウジョウバエ属昆虫の広範な種を宿主として利用する。<i>A. japonica</i> メス成虫は強毒性の毒液を持ち、寄生時に宿主に対し致死量の毒液を注入する。そして、毒液の注入直後、卵とともに毒液の殺虫活性を中和する側輸卵管液を注入する。本研究では、毒液成分が宿主の液性免疫活性には影響を及ぼさないものの、血球の伸展や貪食といった細胞性免疫活性を抑制することが明らかにした。また、毒液の注入により宿主の体液中でセリンプロテアーゼ活性が約100倍ほども上昇することもわかった。側輸卵管液中の解毒成分はセリンプロテアーゼ活性化を阻害するものの、細胞性免疫の抑制には影響を及ぼさなかった。さらに、広食性の <i>A. japonica</i> の毒液と比較し、狭食性の近縁種 <i>A. rossica</i> のそれには殺虫活性が見られなかった。これらのことから、<i>A. japonica</i> 毒液の強力な殺虫活性は、本種が広範囲のショウジョウバエ属昆虫を宿主として利用できることに貢献していると考えられる。さらに、興味深いことに、<i>A. japonica</i> 毒液は <i>A. japonica</i> が宿主として利用できないショウジョウバエ <i>Drosophila ficusphila</i> には毒性を示さない反面、異目種であるハスモンヨトウ幼虫には高い毒性を示すことが確認された。これは <i>D. ficusphila</i> 血清成分は毒液中和活性があるのに対して、ハスモンヨトウ血清にはそうした</p>	

学位申請者  
氏名

降幡 駿介

[質問1] 寄生蜂由来の毒液を宿主アワヨトウ幼虫に注射した場合、宿主血中セリンプロテアーゼ活性上昇を来し、最終的に宿主幼虫の個体死に至るという予想を述べられたが、そのメカニズムはどう考えるか？

[回答1] 宿主体内に毒液が注入されると血球の細胞死が進行する。その際、細胞内に存在するプロテアーゼが放出され、結果的に、今回、紹介したセリンプロテアーゼ活性上昇が誘起される。この活性化したセリンプロテアーゼが、どのように個体死を誘発するかについては何ら直接的実験データを持ち合わせていないが、恐らく、プロテアーゼによる中枢神経系への作用が最終的に宿主幼虫個体死に繋がるのではないかと考えている。この仮説については、今後、さらに検証する必要がある。

[質問2] 毒液による宿主血中セリンプロテアーゼの活性上昇は、毒液成分であるウイルス由来のプロテアーゼによるものか？

[回答2] 毒液成分にもプロテアーゼ活性は検出されるが、その活性は低く、これが毒液注射後に上昇する血中セリンプロテアーゼの主体とは考えていない。ウイルスによる血球崩壊がもたらす血球由来のプロテアーゼに因るものと考えている。

[質問3] 毒液ウイルスによる血球細胞死を ethidium bromide によって染色して検出しているが、これは細胞から漏れ出る DNA の染色に因るものか？

[回答3] そうではなく、死細胞の細胞膜は ethidium bromide の浸透を防ぐことができなくなる。したがって、死細胞内に入った ethidium bromide による染色像を細胞の生死判定に利用したことになる。

[質問4] 寄生蜂 *Asobara japonica* の宿主となり得ない *Drosophila ficusphila* 血清中に存在する *A. japonica* 毒液中和成分は、側輸卵管内中和成分と同じ分子と考えて良いか？

[回答4] 少なくとも毒液を無毒化する生理活性としては相同なものと看做して良いが、化学的に同一のものかどうかは分からない。今後、さらなる分析を要する。

[質問5] 宿主範囲の広い *A. japonica* と狭い *A. rosica* の違いは、寄生に際して前者が強い毒性を有する毒液を用いるのに対して、後者は毒性成分を用いないためという説明があった

が、系統的にはどちらが新しいタイプの寄生蜂と考えるか。

〔回答5〕強毒性の毒液を寄生に利用することは宿主を危険に曝す事になり、かなりのリスクを伴っている。しかしながら、それを中和する手段さえ確実に行使できれば、広い宿主範囲を得る事ができ、寄生の成功率は格段に上昇し得る。したがって、前者の *A. japonica* の方がより進化した寄生蜂のグループに分類して良いのではないかと考える。

〔質問6〕毒液成分による宿主ショウジョウバエ幼虫体液のプロテアーゼ活性上昇は、寄生蜂幼虫に対して悪い影響を与える可能性はないか？

〔回答6〕通常の寄生の際、毒液成分注入直後に側輸卵管成分が卵と共に注入される。したがって、側輸卵管成分によって毒液によるプロテアーゼ活性上昇は正常に寄生された場合には起きることはないので、寄生蜂幼虫が活性化したプロテアーゼに曝されることはない。

〔質問7〕Western blotting による毒液ウイルス粒子成分の検出の際、pre-immune serum による非特異的交差反応はチェックしたか？

〔回答7〕pre-immune 抗体を用いる予備実験は行い、今回紹介した交差反応は起こらないことを確認している。

〔質問8〕同様の pre-immune 抗体によって毒液成分の中和反応が起こらないことは確かめたか？

〔回答8〕pre-immune serum による毒液中和反応は確認していないが、コントロールとして BSA を用いた実験では、毒液中和効果は全く確認されなかった。

〔質問9〕今回、同定された毒液内 Iridovirus 様ウイルスは、Polydnavirus と比較した場合、進化的にどのように位置付けられるか？

〔回答9〕明確な系統関係は不明であるが、ただ、Polydnavirus は鱗翅目昆虫を宿主とする寄生バチにのみ確認されている。今回同定した Iridovirus 様ウイルスは、ショウジョウバエを宿主とする *A. japonica* に存在することから、近縁ではないように想像する。