

# 論文審査の結果の要旨

氏名 鈴木 志穂

本論文は 5 章からなり、第 1 章は緒論、第 2 章は OY ファイトプラズマの主要抗原膜タンパク質(IDP)と昆虫宿主間の相互作用解析、第 3 章は IDP と宿主ミオシンモーターの結合に関与する要因の解析、第 4 章は IDP-宿主ミオシンモーターの結合と宿主特異性、第 5 章は総合考察について述べられている。本論文は、重要な植物病原細菌でありかつ培養が困難なファイトプラズマを材料として研究を行っている。ファイトプラズマは細胞壁を持たず、宿主の細胞内に寄生するという特徴から、その菌体表面の大半を覆っている IDP は宿主との相互作用に重要な役割を果たすと予想し、本論文では *Candidatus Phytoplasma asteris*, OY strain (OY) の IDP と相互作用する昆虫宿主タンパク質についての解析を行っている。

第 1 章の緒論では、ファイトプラズマの歴史や特徴について詳細に述べられている。

第 2 章では、IDP と昆虫宿主であるヒメフタテンヨコバイのタンパク質との相互作用解析について述べられている。カラムアフィニティークロマトグラフィーを用いて IDP に結合する昆虫宿主タンパク質 (P30, P42, P200) を単離し、MALDI TOF-MS を用いた peptide mass fingerprinting、ペプチドシーケンス解析、ウエスタンブロット解析により、これらが myosin light chain(MLC), アクチン, myosin heavy chain(MHC)であることを明らかにした。また、IDP をプローブとしたファーウエスタンブロット解析により、IDP が MLC に結合し、アクチン, MHC と複合体形成をすることを示した。更に、抗 IDP 抗体アフィニティークラムを用いて保毒昆虫細胞内に存在する IDP-ミオシン-アクチン複合体を単離することにより、*in vivo* における複合体形成を裏付けた。ミオシンは真核細胞内において分泌小胞やオルガネラを輸送するモータータンパク質であるが、一部の病原細菌ではミオシンモーターを菌体移動のために利用すると考えられており、同様にファイトプラズマにおいてもミオシンモーターに結合しアクチンフィラメント上をすべり運動することにより移行する可能性を示した。本章の実験により得られた結果は、ファイトプラズマと宿主との相互作用を示す初めての知見である。

第 3 章においては、IDP と宿主ミオシンモーターの結合に関与する要因の解析について述べている。昆虫宿主から MLC を cDNA クローニングし、大腸菌内でタンパク質発現させ、精製した。精製 MLC と IDP との間には結合能が認められず、そして、昆虫タンパク質の糖変性処理により IDP との結合能が失われることから、結合に糖鎖修飾が関与する可能性を示した。

第 4 章においては、本研究において認められた相互作用とファイトプラズマの昆虫宿主決定との関連性について述べている。OY 媒介性ヨコバイ 3 種 (ヒメフタテンヨコバイ、ヒシモンヨコバイ、ヒシモンモドキ)、OY 非媒介性ヨコバイ 2 種 (キマダラヒロヨコバイ、ツマグロヨコバイ) からそれぞれ可溶性タンパク質を抽出し、IDP アフィニティ

一カラムに通すことにより、IDP に対する結合能を検証した結果、媒介性ヨコバイのタンパク質のみが IDP に対する結合能を有することを明らかにした。本章の結果により、IDP とアクチン、ミオシン間の複合体形成が、ファイトプラズマの昆虫宿主決定に深く関与する重要な要因であることを示した。昆虫伝搬性の病原体全般において媒介昆虫を決定する機構はわかっておらず、本研究において得られた知見は、マラリア原虫、リケッチアなど、甚大な被害を及ぼす他の昆虫伝搬性病原体の研究に対して大きく寄与するものと思われる。

第 5 章においては、本論文の全般にわたる広範な考察が述べられている。ファイトプラズマは他の細菌がもつ鞭毛や線毛等の構造を欠き、菌体移行や宿主への接着に関与する因子が見出されていないことから、今まで宿主特異性のメカニズムは不明であった。本研究により、これまで全く未知であったファイトプラズマと昆虫宿主との相互作用における新知見を得ることができ、ファイトプラズマの宿主決定や病原性の解明への道を開く基盤的知見を得ることができたと考えられる。

なお、本論文第 2-5 章は、難波成任氏・宇垣正志氏・山本一夫氏・大島研郎氏・柿澤茂之氏・宮田伸一氏・山次康幸氏・西川尚志氏・鄭熙英氏・魏薇氏・嵐田亮氏・中田大介氏・田中穰氏・中島智氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析および執筆を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。