

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 大門 高明

---

バキュロウイルスは主に鱗翅目昆虫を宿主とする大型の二本鎖 DNA ウイルスである。養蚕業へ大損害を与える病原体として知られ、また生物農薬や遺伝子発現ベクターとして有用なウイルスでもある。バキュロウイルスの遺伝子数はおよそ 80~150 であり、進化の過程で大規模な遺伝子の獲得と喪失が起きてきたと考えられている。バキュロウイルスは細胞レベル・個体レベルで高度な宿主制御を行う。バキュロウイルス感染細胞では宿主遺伝子の発現抑制やアポトーシスの阻止が観察され、組織・個体レベルでは脱皮ホルモンの不活化による脱皮阻害、徘徊行動の誘発、死亡宿主の液状化などが観察される。また、バキュロウイルスは宿主細胞の核内で自身のゲノムを複製するが、その際にしばしば宿主由来の転移因子が転移することがよく知られている。

本論文は、バキュロウイルスによる高度な宿主制御を可能とした要因の1つとして遺伝子水平転移による宿主遺伝子の獲得(gene capture)を提案し、そのような遺伝子の1つであるバキュロウイルスのキチナーゼ遺伝子(*v-chiA*)について、その機能と進化的シナリオについて検討したものである。本論文は、General introduction、それに続く5章、および General discussion から構成される。

第1章では、*v-chiA* のカイコホモログである *BmChi-h* の構造と発現について検討している。*BmChi-h* は腸内細菌科の細菌がコードするキチナーゼ (*Serratia marcescens* *chiA* など) やバキュロウイルスがコードするキチナーゼ (*v-chiA*) と非常に高い相同性を示した。*v-chiA/BmChi-h* ホモログをコードする生物は非常に限られており、真核生物では鱗翅目昆虫のみであり、ウイルスでは鱗翅目昆虫を宿主とするバキュロウイルスのみであった。系統解析の結果、*v-chiA* は宿主あるいは細菌からの遺伝子水平転移の産物であることが示唆された。また、発現解析を行い、*BmChi-h* mRNA は脱皮期に特異的に発現し、キチン分解が行われる組織において特に強く発現することを明らかにした。

第2章では、*BmChi-h* の酵素学的性質および BmCHI-h タンパクの組織局在を検討している。リコンビナント BmCHI-h タンパクを発現・精製し、BmCHI-h がエキソ型のキチナーゼであることを示した。また、免疫染色を行い、BmCHI-h が脱皮期に限定的に発現し、外骨格・気管といったキチン分解が起きる組織に局在することを明らかにした。

第3章では、カイコ核多角体病ウイルス(BmNPV)の *v-chiA* と *BmChi-h* の比較解析を行い、両者の性質の異動について検討している。組換えBmNPVの実験系を用いて両者の性状を比較した結果、BmNPV V-CHIA には宿主ホモログが持たない固有の性質(アルカリ適応・細胞内局在・宿主液状化能)が存在することが示唆された。

第4章では、宿主液状化における *v-chiA* の役割について、活性中心に変異を導入した変異型 *v-chiA* を用いて検討している。オートグラフア核多角体病ウイルスを用いた先行研究で、バキュロウイルスがコードする V-CATH のフォールディングにおいて V-CHIA がシャペロンとして機能するのではないか、という仮説が提案されていた。そこでまず、*v-chiA* 欠損 BmNPV に感染した細胞内でも V-CATH が不溶化することを確認した。そして、変異型 V-CHIA には V-CATH へのシャペロン様活性が無いことが明らかになり、両者の相相互作用には N-結合型糖鎖が介することが示唆された。

第5章では、コドリガ(*Cydia pomonella*)顆粒体病ウイルス(CpGV)がコードする *v-chiA* の機能について検討している。BmNPV *v-chiA* を CpGV *v-chiA* に置換した組換え BmNPV (103CpGV)を作成し、CpGV CHIA の酵素学的性質を明らかにした。103CpGV に感染した宿主は死亡後に液状化すること、103CpGV に感染した細胞では BmNPV CATH のフォールディングが正常に行われることから、GV キチナーゼも V-CATH のフォールディングにおいてシャペロンとして機能することが示唆された。

以上、本論文は、バキュロウイルスのキチナーゼ遺伝子の機能解析およびその宿主ホモログとの比較によって、バキュロウイルスが新規遺伝子を獲得し、それを改変しながら利用してきた経緯を明らかにしたものであり、学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。