

論文審査の要旨（課程博士）

生物システム応用科学府長 殿

審査委員 主査 佐藤 令一 (印)  
副査 安藤 哲 (印)  
副査 梶田 真也 (印)  
副査 岩渕喜久男 (印)  
副査 仲井まどか (印)

学 位 申 請 者	<u>循環生産システム学 専修 平成 24 年度入学 学籍番号 12701301</u>  氏名     田 中 詩 穂
申 請 学 位	博士（ 農学 ）
論 文 題 目	<p>論文審査要旨 (2,000 字程度)</p> <p>土壌細菌 <i>Bacillus thuringiensis</i> が産生する殺虫性タンパク質 (Cry 殺虫毒素) は人畜、生態系に対する安全性の高さから、日本では微生物殺虫剤として、また世界においては今や主要な穀物において主流となりつつある組換え食品に応用されてきた。その結果、Cry 殺虫毒素は世界で最も産業利用されているタンパク質毒素であると言えるようになった。しかし、この毒素の安全性を担保するうえで最も重要なことの1つであるはずの「Cry 殺虫毒素の作用機構理解」はどうも完結したとは言い難い。それどころか、疑問が残る仮説がまことしやかに語られてきたと言える。そして、最近報告された害虫の抵抗性研究の成果は、この仮説の矛盾を明確に指摘するに至り、いよいよ正しい作用機構の理解が求められるようになった。一方、これまでは昆虫個体死の説明は、単にこのタンパク質毒素が昆虫の消化管細胞を殺す機構だけで説明されてきた。しかし、近年の知見は、消化管の崩壊は単にCry 殺虫毒素の作用のみによっておこるイベントではなく、Cry 殺虫毒素の作用に対抗して宿主細胞や、組織が引き起こす反応を加えた総和であることを予見するに至っていた。よって、この発想に沿った個体死の機構の再検討が求められていた。本研究はこれらの課題に立ち向かい、見事に答えた、<i>Bacillus thuringiensis</i> Cry 殺虫毒素学において新しい展望を開いた研究である。</p> <p>第1章では、消化管で起こる2種類の細胞死の存在と、その実態を見事に示した。既に述べたとおり、これまでもCry 殺虫毒素によって昆虫の消化管の細胞が死に、組織が崩壊することは示されていた。しかし、この過程と同時に、宿主の消化管細胞と消化管組織全体においてCry 毒素の傷害作用に対抗する反応が起こっていることをこの研究は明らかにした。すなわち、消化管の細胞ではアポトーシスと呼ばれるある種の免疫応答と表現できるプログラム化された細胞死が起き、また消化管組織全体でみると、脱落した部位を補う組織再生反応が起こることを証明した。すなわち、Cry 殺虫毒素によって引き起こされる昆虫消化管のイベントは、予想通り、単なる毒素による傷害作用ばかりではなく、同時に起こる宿主側の身を守る応答との複合反応であることが実証された。この成果はインパクトファクター4.3の権威ある生化学雑誌FEBS Journal のvol. 279 (6), 1071-1079 (2012)に発表された。</p> <p>第2章では、害虫のCry 殺虫毒素抵抗性遺伝子の研究成果に鑑み、これまでに一度も語</p>

られたことのないABCC2 と呼ばれるトランスポーターが、Cry 殺虫毒素の作用に必要な分子であることを実証した。また、この章では、多様なCry 殺虫毒素にとってはABCC2 が必ずしも作用上必要な分子ではない事例についても実証した。すなわち、これらのことは、これまで語られてきたCry 殺虫毒素の作用機構仮説に包含された嘘を指摘するとともに、「多様なCry 殺虫毒素が一筋縄では理解しきれない多様な作用機構を持つ毒素集団であるとする概念」を提示した。同時、これらのことは、微生物殺虫剤や組換え食品に応用されるCry 殺虫毒素に「抵抗性を生み出させないCry 殺虫毒素の使い方」を考える上で意味深い概念を提供した。

第3章では、消化管細胞における真の作用機構の理解に迫る試みがなされ、「昆虫個体がCry 殺虫毒素に対して示す感受性の決定因子の全体像」の解析が行われた。すなわち、第2章で明らかになったABCC2 トランスポーターとカドヘリン様タンパク質と呼ばれる分子が相乗的に働くことで昆虫細胞はCry 殺虫毒素に高い感受性を示すこと、および、この相乗作用が昆虫個体のCry 殺虫毒素に対する感受性と深い関わりを持つことが明らかにされた。既に述べたとおり、これまで示されて来たCry 殺虫毒素の作用機構仮説には多くの疑問があった。この章で示した作用機構仮説はこれまで示されてきた様々な報告事項と矛盾が少なく、真の作用機構仮説に迫るものであると期待できた。第2章の多くと第3章の一部はFEBS Journal. 280 (8), 1782-1794 (2013)に発表された。

第4章では第2章、第3章で明らかにされたABCC2 トランスポーターとCry 殺虫毒素の相互作用課程に関する詳細な検討が行われた。その結果、ABCC2 トランスポーター上のCry 殺虫毒素結合部位が明らかになるとともに、ABCC2 トランスポーターはCry 殺虫毒素に対して他の受容体分子には見られない特徴的な結合の性状を持つこと、この性状がABCC2 トランスポーターが他の受容体分子に勝って、宿主細胞上でCry 殺虫毒素の作用に対して最も重要な分子として機能する原因となることを示した。

以上の通り、本論文は、昆虫個体で起こる「Cry 殺虫毒素の作用と宿主細胞や組織が引き起こす反応の総和」を世界で始めて明示した。また、長年求められていた「Cry 殺虫毒素の真の作用機構の解明」に大きな前進をもたらした。これらはCry 殺虫毒素の安全性の理解に欠かせない基盤知識となり、微生物殺虫剤組換え食品の安全な使用に多大な貢献をもたらすものと評価することができる。よって、本論文は博士論文に十分に値すると評価した。