

(様式11)

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 ㊞

副査 豊田 剛己 ㊞

副査 梶田 真也 ㊞

副査 鈴木 丈詞 ㊞

副査 天竺 桂弘子 ㊞

学位申請者	<u>生物システム応用科学 専修 平成25年度入学 学籍番号 50013701303</u> 氏名 舒 敏
申請学位	博士（農学）
論文題目	Mechanisms of nodule-specific melanization in the hemocoel of the silkworm, <i>Bombyx mori</i> .

論文審査要旨（2,000字程度）

ノジュール形成反応（侵入微生物凝集反応）とメラニン化反応（固化させ殺菌物質を産生する反応）は、昆虫の免疫において最も重要な細胞性および体液性の反応である。しかし、それらの反応の意義や分子機構に関しては未だに多くの問題が残されたままになっていた。特に、メラニン化反応は体液において起こる反応と考えられてきたが、その意義には多くの疑問が残されていた。すなわち、メラニン化反応は体液中のドーパ等の基質を Phenoloxidase がメラニン化してタンパク質や微生物を凝集させ、その反応の間に活性酸素を放出して微生物を殺傷する機能を持つとわかっていたが、体液がこの反応を起こすことは同時に周りの自身の組織をも障害することを意味しており、「メラニン化が体液で起こる」とする考えには矛盾があった。そこで、舒敏氏は新たな仮説として「メラニン化は侵入微生物を捕らえたノジュールを強固に固化し、そこで殺菌を行う仕組み」の考えを提唱した。本研究はその仮説を基にして、その仮説が正しいならば存在するはずの「周りの自身の組織に障害を与えずにノジュールを特異的にメラニン化する仕組み」の解明をカイコガ幼虫を題材にして試みたものである。またそれは、昆虫免疫学の最も重要なノジュール形成反応とメラニン化反応に関する残された最大の課題への挑戦であった。

本論文は3章で構成された。第一章では、侵入微生物が持つ特異構造（PAMPs）を認識する、PAMPs Recognition Proteins (PRPs) の各種微生物への対応関係を網羅的にまとめ上げた。PRPs はメラニン化の諸反応の引き金を引く最初のタンパク質であると考えられるが、これまでは、一部の PAMPs に対応する PRPs が明らかにされているのみであった。また、昆虫ごとに見渡した場合には、ある昆虫種の一部の PRPs のみの認識機能が明らかにされているばかりであった。すなわち、一つの昆虫種の PRPs の侵入微生物への対応関係が網羅的に明らかにされたことは無かった。本研究ではそれをほぼ完全と言ってよいレベルで網羅的に解析した。その結果、同じグループの微生物に対して異なる PRPs を含む幾つかの PRPs が重複して結合する様式で

カイコガが「侵入微生物認識網」を形成していることが明らかになった。また、これらの異なる種類のPRPsが複数種結合した形で侵入微生物はノジュールに取り込まれることが明らかになった。更に、1種類の侵入微生物に複数種のPRPsが結合するといった知見は、第3章で明らかになる「PRPsに役割分担がある」と言った新概念が創造される基盤知識となった。

第2章では、メラニン化反応を進める proPO 活性化系を構成する血液プロテアーゼが「ノジュール中に集まるのか」また「その仕組みはどのようなものであるか」が検討された。その結果、一つの血液プロテアーゼは侵入微生物に結合性を持ち、その結合性に依存して侵入微生物とともにノジュール中に集まることが明らかになった。一方、他の血液プロテアーゼに関しては侵入微生物に結合する仕組みは解明できなかったが、やはり侵入微生物表面に結合した形でノジュール中に集まることは明らかになった。すなわち、メラニン化反応を進める血液プロテアーゼは直接的に結合性を持つか、あるいはPRPsに依存して効果的にノジュール中に集まることが世界で始めて明確に示された。

第3章では、Phenoloxidase 前駆体の活性化を制御している Serine Protease Homologue (SPH1 と SPH2) がメラニン化されるべき部位であるノジュールに効率的に集まる仕組みの解析が行われた。その結果、抗体を用いた Pull Down Assay によって、SPH1 と SPH2 が C-type Lectin ファミリーの PRPs だけと複合体を構成しており、 β -1, 3 Glucan Recognition Protein ファミリーの PRPs や Peptidoglycan Recognition Protein ファミリーの PRPs とは複合体を構成していないことが明らかになった。すなわち、PRPs には役割分担があり、C-type Lectin は SPH1 と SPH2 を「Phenoloxidase 前駆体を活性化したい場所に運ぶ役割を果たしている」といったこれまでにない新概念が示された。

以上の通り、本論文は、昆虫の免疫システムにおいて最も基盤的なものの一つである「ノジュールのメラニン化が他の組織を傷つけないで達成される仕組み」の主要な部分の解明を見事に達成した。すなわち「メラニン化を制御する因子群がPRPsを介した、あるいは直接的な結合性に依存してノジュールに集まる仕組み」を世界に先駆けて明らかにした。これらの成果は昆虫生化学系ジャーナルの最高峰である *Insect Biochemistry and Molecular Biology* (Impact factor 3.45) に受理された。よって審査委員会は本論文が博士論文に十分に値すると評価した。