

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (学 術)	氏名	Abdelmonim Ali Ahmad Ebrahim
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>Biotechnological application of bacteriophages for controlling citrus canker and citrus bacterial spot</p> <p>(カンキツかいよう病バイオコントロールへのファージの有効利用)</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教 授 山 田 隆 印</p> <p>審査委員 教 授 加 藤 純 一 印</p> <p>審査委員 教 授 田 中 伸 和 印</p>			
<p>〔論文審査の要旨〕</p> <p>薬剤に依存しない農作物病害の防除法として、自然生態系のダイナミクスを理解し、病害菌を天敵バクテリオファージ（ファージ）を活用して制御するという技術開発の研究である。対象病害として「カンキツかいよう病」を設定し有効なファージの分離、特徴付け、有効活用の実際を詳述している。</p> <p>第1章では、カンキツかいよう病の病徴、世界における被害状況、従来の対策方法と問題点を説明し、さらに病原細菌 <i>Xanthomonas axonopodica</i> pv. <i>citri</i> (<i>X. citri</i>; <i>Xac</i>) の系統学的位置づけ、病原型(pathovar)の多様性、宿主植物への感染プロセスと発病機構について従来の知見を整理している。特に、ゲノム情報に基づく病原遺伝子の同定、宿主植物との相互作用に関わる遺伝子の作用と変異機構等、分子レベルにおける最新の研究データを集積し、<i>Xac</i> による病害への理解を深めている。従来の化学農薬（銅剤）に替わる持続的コントロール技術としてファージの利用を提唱し、<i>Xac</i> ファージに関する研究の歴史も紹介している。</p> <p>第2章では、カンキツかいよう病菌 (<i>Xac</i>) の分類に歴史的用いられ、また、カンキツ類海外輸出時の検疫にも必須なファージ2種 Cp1, Cp2 の高度な特徴付けを行っている。日本における <i>Xac</i> は Cp1 感受性型と Cp2 感受性型に2分されるが、その理由、感受性の科学基盤、ファージの実体等については長い間謎のままであった。そこで、Cp1, Cp2 をウイルス学的、分子生物学的に高度に解析し、それぞれ Siphovirus, Podovirus の全く異なる「科」に属する事を示すとともに、全ゲノム解読データをデータベースに登録し、既知ファージとの網羅的相同性検索結果を基にはじめて実体を明らかにした。さらに、Cp1, Cp2 が感受性に関係なくほとんどの <i>Xac</i> 株細胞に結合し、ゲノム DNA の注入まで行なう事を明らかにした。すなわち、宿主識別機構は細胞表面の受容体に関係なく、宿主細胞内における DNA の安定性や遺伝子発現レベルで作用する。Cp1, Cp2 両者に感受性の菌株、両者に耐性の菌株も取得しており、この詳細な識別機構解明に道筋を開いている。この宿主識別機構の解明はファージ・宿主菌相互作用の学術的理</p>			

解に重要なだけでなく、ファージ耐性対策、ファージ設計の技術につながり、一般病害菌のファージコントロール実用面でも大きな意味がある。

第3章では、*Xac* のバイオコントロール研究用に多数のファージを自然界よりスクリーニングする中で分離した、新規繊維状ファージ *XacF1* の解析を行っている。*XacF1* は宿主共存型感染サイクルをとり、宿主細胞で増殖するとともに宿主の性質に大きな影響を与える。特に *XacF1* 感染菌はその病原性を大幅に低下させ、レモン葉接種実験において長期にわたり顕著な病徴を抑えた。この理由として、*XacF1* 感染菌において二大病原因子「twitching 運動性」「菌体外多糖キサンタン生成」が顕著に低下することを見いだした。ここに *XacF1* をカンキツかいよう病コントロール技術に利用する可能性が開けた。さらに、*XacF1* が宿主の *XerC/D* 組換え系を利用して宿主ゲノムへ組込まれる（溶原化）機構を明らかにした。この機構では、ファージゲノムは宿主ゲノムの *dif* サイト (*attB*) に組み込まれる。*attP* は *XacF1* ゲノム上、転写制御因子コード領域内にあり、ファージのフリー型とプロファージ型で制御活性が異なると予想される。このように、病原性の制御機構、プロファージ効果、宿主との共存等々学術的に重要な問題の解明に道を開いた。

第4章では、研究の総括としてファージを利用したバイオコントロールにおける問題点、(1) ファージ抵抗性対策と (2) 自然環境下におけるファージの安定性について議論している。すなわち、*Cp1*, *Cp2* を含めた多様なファージの整備とファージ単独ではなく *XacF1*-感染菌投与の有効性を提言している。

以上のように、カンキツかいよう病菌のファージを高度に解析し、その特性を活用して病害を防除する技術開発に大きく貢献した。宿主菌とファージの相互作用について得られた新たな知見は学術的価値が極めて高い。

以上より、本論文の著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと判断する。