

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	徳永雄平
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 杉元康志
	副査 鹿児島大学准教授 大塚彰
	副査 佐賀大学 教授 渡邊啓一
	副査 佐賀大学 教授 光富勝
	副査 鹿児島大学 教授 玉置尚徳
審査協力者	
実施年月日	平成26年 1月 8日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答・筆答	
<p>主査および副査は、平成26年1月8日の公開審査会において学位申請者に対して学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について諮問を行った。具体的には別紙のような質疑がなされ、いずれも満足できる回答を得ることが出来た。</p> <p>その結果、審査委員会は、申請者が大学院連合農学研究科博士課程修了者としての学力および識見を有するものと認め、博士(農学)の学位を与えるに十分な資格を持つものと判定した。</p>	

No. 2

学位申請者
氏 名

徳 永 雄 平

質問 1) 高温で、酸性条件下での何故、線維化しやすいのか？ 58℃の意味は？

回答 1) 酸性下で高温に晒すとタンパク質はアスパラギン酸で切断され、断片化するので、これまで凝集を防いでいた立体構造がなくなり、疎水性領域が表面に現れ、分子の会合、凝集そして線維化が起こると推定される。58℃は断片化するのに適した温度である。

質問 2) リゾチームがアミロイド線維を作るのに必要な配列はあるのか？

回答 2) 一般にアミロイド線維を作るタンパク質には共通のアミノ酸配列はないが、リゾチームの場合、今回見出したKペプチドにはC末端にトリプトファンあるいはチロシンといった芳香族アミノ酸があり、これらとKペプチドのN末端側の疎水性アミノ酸と線維を作るのに最適な組み合わせがあると思う。

質問 3) Kペプチドを他のアミノ酸に置換した実験で62番のトリプトファンをグリシンに置換した理由は何か？

回答 3) 全長のタンパク質を使ったこれまで報告された実験で、62番のトリプトファンをグリシンに換えた場合、リゾチームがアミロイド線維を作らないとされていることから、今回、Kペプチドにおいてグリシンに置換して線維を作るかどうかを調べた。ヒトのチロシンにおいても同じように行った。

質問 4) リゾチームでコア領域のKペプチドが選ばれた要素は何か？

回答 4) 62番のトリプトファンはタンパク質のフォールディングに重要なアミノ酸であり、フォールディング後は分子内部に位置している。 α -ドメインと β -ドメインを繋ぐKペプチド領域は分子構造を維持するための要となっている。これが線維を作るための必要要素となっているが、結果的に線維を作るものであると考えられ、タンパク自体が線維を作ることは付加的現象である。

質問 5) リゾチームにおいてKペプチド領域以外にアミロイド線維形成に重要な領域はあるのか?

回答 5) 現在、Kペプチド以外の疎水性クラスター領域の解析は行っていないが、トリプトファンを含むC末端のペプチドがリゾチームのアミロイド線維形成を促進することが報告されている。補足的要因となる領域はいくつかあると推定される。

質問 6) 線維形成に使用したタンパク質濃度は2 mg/mlであるが、根拠は?

回答 6) タンパク濃度が薄いと線維は出来にくい。2 mg/ml以上あると今回使った実験では必ず再現できる。卵白にはリゾチームは約3%含まれているので、アミロイド線維を作るのに十分な状態にあると考える。

質問 7) タンパク質のアミロイド線維を作る領域あるいはアミノ酸配列を予想するソフト Walt Softは何を指標として予測するのか?

回答 7) 詳細は分からないが、分子内の疎水性領域を特定し、その部分のアミノ酸配列からアミロイド線維を作りそうな領域を選ぶのではないと考える。

質問 8) リゾチームとHPではTFEによってアミロイド線維形成が明らかに異なるのはどのような原因か?

回答 8) 本試薬による線維形成の違いはタンパクの変性の様式が異なることである。リゾチームは中性pHでは線維が出来にくい、HPは20%TFE下で容易に線維を形成する。つまり、この程度の有機溶媒でも分子構造に大きな変化が見られ、会合、凝集が起こるが、リゾチームは構造が安定であるため中性pHでは凝集は起こらないと推定される。

質問 9) HPは複数の領域が線維を形成し、リゾチームは1つのコア領域で線維形成が起こるが、両者のメカニズムは違うのか?

回答 8) HPにおいて詳しいメカニズムは分からないが、複数の領域が関係していることはあまり例がなく、大変興味あることである。

質問 10) HPは可溶性の高いタンパク質であるが?

回答 10) 分子内部には疎水性アミノ酸が多く、構造変化で表面に現れると思われる。