

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	Ishmael Mutanda
審査委員	主査 琉球大学教授 屋 宏典
	副査 琉球大学准教授 福田 雅一
	副査 佐賀大学教授 渡邊 啓一
	副査 鹿児島大学教授 橋本文雄
	副査 琉球大学准教授 小西 照子
審査協力者	印
実施年月日	平成 29 年 1 月 5 日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答 <input type="radio"/> 筆答	
<p>主査、副査及び審査協力者は、平成 29 年 1 月 5 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、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者 氏名	Ishmael Mutanda
-------------	-----------------

質問1 イソプレン放出とイソプレン合成酵素mRNA量は相関が低い、一方イソプレン合成酵素タンパク質量とはよく相関している。このような場合実際はどちらが重要と考えるのか？

回答1 イソプレンは合成されると同時に放出され、その合成は長期的にはイソプレン合成酵素遺伝子の発現、短期的にはイソプレン合成酵素によって調節される。よって、今回の実験条件の場合は合成活性を直接支配している、イソプレン合成酵素の調節がより重要と考えている。

質問2 イソプレン合成放出に関する温度の影響について主に解析されているが、光の影響についてはどうか？

回答2 イソプレン合成は光の影響も当然受けている。しかしながら、今回の実験においては、光の強さは一定の条件で温度のみを変化させている。このため、遺伝子オントロジー解析では温度関連の因子がより多く抽出されたものと考えている。

質問3 どのようにしてイソプレン放出予測式G-93のパラメーターを最適化するPingPong法を発想するに至ったのか？

回答3 イソプレンの合成と放出は光と温度の関数であり、しかも自然条件では光と温度はほぼ相関しながら平行した挙動で変化する。従って、両者のパラメーターを自然条件下で同時に最適化した方が、より精度が高くなるのではないかとの着想が初めにあった。

質問4 両方の因子が変化する状況でパラメーターを最適化するこの方法はいいのか？

回答4 実測値と予測値の差が縮減し、従来のパラメーターを採用した場合に比べて予測精度は向上した。

質問5 オオバイヌビワのイソプレン合成酵素遺伝子のプロモーター領域の解析を行っているが、ポプラと異なるシスエレメントはあるのか？

回答5 HSE、Circadian clock element、G-Box等はポプラに類似していたが、W-Box、WBOXNTERF、LTRECOREATCOR15等異なるエレメントも確認できた。

質問6 プロモーター領域のゲルシフトアセイはやっているのか？

回答6 残念ながらやっていない。今後検討したい。

質問7 イソプレン合成酵素タンパク質は安定か？タンパク質の分解が放出に影響することはないか？

回答7 イソプレン合成酵素の安定性が放出に影響するとは考えていない。

質問8 イソプレン合成酵素の基質となる代謝産物は影響してないとの主張であるが、イソプレン合成酵素が局在するクロロプラスト内の濃度を測定しているわけではないのでこの点についてはどう考えるか？

回答8 代謝産物については細胞質も含めた総量を測定しているが、全サンプルについて同一の手法を用いているので、比較は可能と考えている。ただ、ご指摘のようにクロロプラスト内の濃度を直接測定した方がより確実である。今後検討したい。

質問9 C3植物とC4植物ではイソプレンの合成と放出に差はあるのか？

回答9 これまでそのような研究はないと思われる。今後さらに調査を行う必要がある。

質問10 重要な調節因子と思われるLHYのノックアウトは作成されているのか？

回答10 私の知る限りでは、ないと思われる。

質問11 イソペン合成酵素の親和性が調節因子となると本論中では述べられているが、実際に遺伝子クローニングを行ったのか？

回答11 当研究室のこれまでのデータと今回の測定から、そのように推定している。

質問12 酵素活性は温度依存的に変化する。イソペン放出に及ぼす温度の影響を測定する際に、測定温度の影響は考慮しなくてよいのか？

回答12 今回の実験では植物の生育温度を変化させるが、放出測定は一定温度で行っている。従って、測定温度は常に一定となっており、タンパク質の温度依存性の影響は排除できていると考えている。