

最終試験結果の要旨

| | |
|----------------------|--|
| 学位申請者 氏名 | 舟橋 亞希 |
| 審査委員 | 主査 鹿児島 大学 教授 上西 由翁 |
| | 副査 鹿児島 大学 准教授 小松 正治 |
| | 副査 琉球 大学 教授 屋 宏典 |
| | 副査 鹿児島 大学 教授 侯 徳興 |
| | 副査 鹿児島 大学 准教授 塩崎 一弘 |
| 審査協力者 | 印 |
| 実施年月日 | 平成 29年 1月 11日 |
| 試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) | <input checked="" type="radio"/> 口答・筆答 |

主査及び副査は、平成29年1月11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。

以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（水産学）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。

| | |
|--------------|-------|
| 学位申請者 氏 名 | 舟橋 亞希 |
|--------------|-------|

[質問1] 蛍光がないものでも抗酸化能をもつ物質はあるが、そもそも螢光をもつ必要性と、さらには螢光を発するためには励起エネルギーが必要であるが、それと筋肉内のGFPとのかかわりについてどのように考えているか。

[回答1] 一般的に螢光をもつ生物では、仲間を認識する役割や相手を威嚇するための生体防御に使われているのではないかと考えられている。学部内の共同研究でウナギの視覚についても調べたが、水深100~200mくらいの光は励起光近くであり、強い螢光を発し透明であるシラスウナギではお互いを認識しているかもしれないが、ウナギ自体の生態が不明なために想像の域を出ない。

[質問2] 筋肉内でGFPが作用するには、遺伝子発現レベルとビリルビンの存在が必要である。この点についてのコメントがあればお聞きしたい。

[回答2] 萤光強度の強い脊椎付近やシラスウナギでは、それに応じた遺伝子の転写が行われていることを確認している。筋肉中のビリルビン濃度は、文献によるとビリベルジンが高くビリルビンは少ないと報告されているが、当研究室での途中結果ではビリベルジンはほとんどなく、ビリルビンは筋肉中に存在し、皮側より脊椎付近で若干高い状態であった。

[質問3] シラスで螢光強度が高いとあるが、レプトセファルスでも螢光はあると思われるか。

[回答3] 他の研究機関からの情報では、レプトセファルスでは赤血球がなく、そのため筋肉中に螢光は観察されていないと聞いている。

[質問4] 培養細胞に導入したベクターにGFPを発現するために、ウナギのプロモーター領域が入っているのか。また、細胞を培養する際に加えた牛血清のビリルビン濃度は測定したのか。

[回答4] 導入したベクターは、強制的にタンパク質を作ることができるので、ウナギのプロモーター領域は導入していない。牛血清中のビリルビン濃度は測定していない。

[質問5] ビリルビンと結合していないGFP単体では、抗酸化機能を有するのか。そのためには、無血清培地を用いるなどの実験系を工夫することで調べることが可能か。

[回答5] 牛血清がないと細胞の成長に影響するために、今回は無血清での培養系は考慮していない。

[質問6] ビリルビン自体が抗酸化能をもつが、培養細胞系を用いた実験ではすべてにおいて同条件でビリルビンは含まれている。なぜ、GFPと結合することで、抗酸化能が強くなるか。

[回答6] GFPのアミノ酸配列をみると、ビリルビン認識部位および蛍光の発色に関するトリペプチドの付近と、8カ所のビリルビン認識部位の中心にラジカルを補足するフェノール基を持つチロシンが存在する。これらが介在して、ビリルビンを酸化しビリベルジンとなって抗酸化機能を発していると推測している。