

最終試験結果の要旨

学位申請者 氏名	大貝 茂希
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・教授 石橋 松二郎
	副査 琉球大学・教授 小西 照子
審査協力者	
実施年月日	令和2年 1月 29日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) 口答 ・筆答	
<p>主査、副査及び審査協力者は、令和2年1月29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	大貝 茂希
<p>質問1 ミモシナーゼとCBLのミモシンとシスタチオニンに対する基質特異性の違いについて、活性部位のポケットサイズが強調されているが、ミモシンとシスタチオニンの化学構造の差異に由来する性質例えば電荷とかが特異性に影響する可能性についても議論が必要ではないか？</p> <p>回答1 活性部位近傍の残基と基質との相互作用について、モデルの検証も含めて再確認したい。</p> <p>質問2 関連の質問だが、基質の形の影響についてはどうか？</p> <p>回答2 ミモシンに比べてシスタチオニンの分子サイズの計算は行っているが、基質の形についてはこれまで特に考慮していない。今後検証したい。</p> <p>質問3 変異導入試験でチロシンをリジンに置き換えた際、特異性の変化に対するリジンのプラス電荷の影響についても議論が必要なのでは？</p> <p>回答3 今後検証して、論文に追記させていただきたい。</p> <p>質問4 酵素のモデリングの検証はしていないのか？</p> <p>回答4 モデラーで酵素モデルを10個作成し、分子シミュレーション後のエネルギーが安定な分子を選んでドッキングに使用している。特定の検証は行っていない。</p> <p>質問5 選ぶ基準は何か？例えばラマチャンドラプロットのような評価をしたのか？</p> <p>回答5 水溶液中のモデルの構造を分子シミュレーションにより推定し、出現頻度が高く、エネルギー的に安定な分子を選ぶという手法を用いているので、タンパク質分子の構造ひずみについては最適化されていると考えられ、ラマチャンドラプロットは行っていない。</p> <p>質問6 ミモシナーゼとCBLの活性中心は同じ位置か？</p> <p>回答6 両者ともダイマー構造のモノマーとモノマーの分子間にあり、ほぼ同じ位置だが活性残基が異なっている。</p> <p>質問7 シスタチオニンに対するオジギソウのミモシナーゼのKmが低いのはなぜか？</p> <p>回答7 Kcatが低いため、見かけ上Km値が低くなっていると考えている。</p> <p>質問8 ミモシナーゼとCBLはそれぞれダイマーを形成しているのか？</p> <p>回答8 両方ともダイマーを構成するモノマーの分子間に活性部位がある。ダイマー構造である。</p> <p>質問9 ダイマーを形成していることは実験的に検証しているのか？</p> <p>回答9 ゲル濾過により分子量を測定し、ダイマーであることを確認している。</p> <p>質問10 変位導入の標的残基を選んだ理由はなにか？</p> <p>回答10 基質との相互作用が強いもの及びこれまで報告されている重要な活性残基を選定した。</p> <p>質問11 土壌細菌のミモシナーゼと植物のミモシナーゼの相同性はどうか？</p> <p>回答11 系統樹解析により、土壌細菌のミモシナーゼと植物ミモシナーゼの相同性は低いことを確認している。</p> <p>質問12 この土壌細菌はグラム陽性菌か？</p> <p>回答12 グラム陽性菌である。</p> <p>質問13 土壌細菌のミモシナーゼ活性は植物ミモシナーゼの20倍だが、原因はなにか？</p> <p>回答13 活性残基Phe34が基質を適切な位置に配位していることが要因だと考えている。</p> <p>質問14 細菌を用いた植物ミモシナーゼの発現量はどうか？</p> <p>回答14 発現量はさほど多くない。</p> <p>質問15 微生物ミモシナーゼと植物ミモシナーゼ間で共通の活性残基はあるか？</p> <p>回答15 植物で特に保存されている残基はなかった。</p>	