

(学位第9号様式)

No. 1

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	曾 伝濤
審査委員	主査 鹿児島大学 准教授 吉崎 由美子 印
	副査 鹿児島大学 教授 高峯 和則
	副査 琉球大学 准教授 橋 信二郎
	副査 佐賀大学 教授 後藤 正利
	副査 鹿児島大学 准教授 二神 泰基
審査協力者	
実施年月日	令和3年1月29日
試験方法（該当のものを○で囲むこと。） <input type="checkbox"/> 口答・筆答	
<p>主査および副査5名は、令和3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論文についての説明を求め、その内容および関連事項について諮問を行った。具体的には別紙の質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答が得られた。</p> <p>以上の経緯から、審査委員会は、申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要かつ十分な学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者 氏名	曾 伝 瀧
-------------	-------

【質問 1】麴の電子顕微鏡観察において、隙間がみられる部分に酵素が作用していると理解して良いか。

【回答 1】細胞内のデンプン粒が外側から分解を受けることで隙間ができていると考えている。

【質問 2】酸不耐性 α -アミラーゼまたは酸耐性 α -アミラーゼを欠損している *ΔamyA* と *ΔasaA* 株は同じくらい麴の菌体量が多いが、培養前半に発現している *amyA* を欠損している *ΔamyA* 株で菌体の増殖が抑制されない理由はどのように考えるか。

【回答 2】*ΔamyA* 株には後半に発現する酸耐性 α -アミラーゼが発現しており、グルコアミラーゼも発現しているので出麴の時点で増殖の程度が一致したと考えている。

【質問 3】二重欠損株では、 α -アミラーゼを欠損しているから還元糖やグルコースの生成が抑えられて生育が遅くなっていると考えても良いか。そうであるなら、そのデータも加えた方が良い。

【回答 3】そのように考えている。二重欠損株を用いた麴に含まれる還元糖とグルコースの量は測定しており、コントロール株と比較して極端に還元糖もグルコースも減少していることを確認している。結果を追加したい。

【質問 4】二重欠損株でクエン酸の産生量が少ないことも糖が少ないことが影響しているのか。

【回答 4】クエン酸生合成も最初の糖が少ないことにより減少したと考えている。

【質問 5】黄麴菌では、アミラーゼ遺伝子の発現は転写因子 *amyR* で制御する経路が明らかになっているが、白麴菌の *amyA* や *asaA* の遺伝子の制御は異なる制御系があるか。

【回答 5】いまは調べていないので、これから調べたい。

【質問 6】二重欠損株の麴を用いた発酵もろみで、コントロール株の麴と比べて高

級アルコールが高く、逆にエステル化合物が低くなっているが、香気成分の生成が反対になっている理由はどのように考えているか。

【回答 6】二重欠損株はプロテアーゼや酸性カルボキシペプチダーゼの産生量が少ない。そのため、もろみ中のアミノ酸量が少なかったと考えている。もろみ中のアミノ酸量が少ないことで酵母のアミノ酸生合成経路が活性化されて結果的に高級アルコールの生成量が増加することが報告されている。今回のもろみでも同じようなことが起きていると考えている。エステルは酵母がグルコースなどの糖質が多い時に生成量が増加することが報告されていることから、二重欠損株ではグルコースの生成量が少ないことでエステルの生成量が減少したと考えている。

【質問 7】紅麴の水添加のタイミングを培養 48 時間後に行っているが、水添加を行う時間を早めたり、遅くしたりすることで赤色色素の生成量に変化があるのか。

【回答 7】今回は水添加の効果に着目したもので、水添加タイミングまでは調べていない。今後の研究で添加のタイミングの影響を調べてみたい。

【質問 8】紅麴において、水添加が色素以外の二次代謝産物（モノコリン K）の生成量に影響するか調べているか。

【回答 8】影響はあると考えているが、調べてはいない。Acetyl-CoA 量が変わっているので影響があると考えている。

【質問 9】紅麴の生育を 4 日間で行っているが、それ以上長く培養したことはあるか。

【回答 9】今回は 4 日間で実験を行っている。今回は水添加の効果に着目しているので効果が見られた時点で調べた。

【質問 10】この実験では *Monascus purpureus* を使用しているが、他の種で試したことはありますか。

【回答 10】今回は *Monascus purpureus* だけで試験を行った。他の *Monascus* でも試験を行いたい。

【質問 11】水添加による遺伝子発現の変化が小さいように思うが、遺伝子発現を調べるタイミングを遅くした方が良かったのではないか。

【回答 11】今回調べた遺伝子以外の影響もあると考えている。また、長く培養することも試してみたい。

【質問 12】紅麹の孢子数は観察しているか。

【回答 12】今回の研究では、紅麹の孢子は観察していない。

【質問 13】菌体量を *N*-アセチルグルコサミンで測定しているが、細胞壁中の *N*-アセチルグルコサミン量は培養条件で変わる可能性があるので、実際は水添加によって増殖速度に影響している可能性があったのではないか。麹の様子は観察しているか。

【回答 13】目視において、水添加なしと水添加ありでは菌体量に差は観察されおらず、色の違いが一番大きかった。