

(学位第9号様式)

1012

No. 1

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	馬場 嵩一朗
審査委員	主査 佐賀大学 教授 小林 元太
	副査 佐賀大学 教授 後藤 正利
	副査 鹿児島大学 教授 玉置 尚徳
	副査 鹿児島大学 准教授 二神 泰基
	副査 佐賀大学 准教授 木村 圭
審査協力者	印
実施年月日	令和4年1月21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>主査及び副査は、令和4年1月21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	馬場 高一朗
<p>[質問1] RNA-seqは実施しなかったのか？</p> <p>[回答1] RNA-seqに関しては実施しており、qPCRの結果とも整合性は取れている。</p> <p>[質問2] 新規酵母を分離したということだが、実製造酵母が混入したという可能性はないのか？</p> <p>[回答2] MAT座について、協会酵母やY52株はヘテロ型であるが、本研究の有明海分離酵母はホモ型であることを確認しているため、新しい酵母であると考えている。</p> <p>[質問3] 新規分離酵母のキラー性の確認は実施したか？</p> <p>[回答3] キラー性がないことは確認している。</p> <p>[質問4] MDH3に関する輸送性に関してはどのような輸送なのか？</p> <p>[回答4] MDH3はPEX5と一緒に輸送されていることは分かっている。</p> <p>[質問5] GFP-MDH3について、時間経過と共に細胞全体が光るので細胞質に溢れ出ているということか？</p> <p>[回答5] ホログラフィック顕微鏡観察により、H3-1株はペルオキソームに点在しているが、変異株は細胞全体が光っており、明らかに差異が見いだされている。</p> <p>[質問6] GFP-MDH3タンパク質が健全かどうか、ウェスタンブロッティングは行ったか？</p> <p>[回答6] ウェスタンブロッティングは行っていないが、健全であることを前提として仮説を構築している。</p> <p>[質問7] シンクロトロン光照射による変異について、Over 5bpとはどういうことなのか？</p> <p>[回答7] 6-8bp程度であり、10bpを越えるものは1ヶ所程度である。</p> <p>[質問8] シンクロトロン光照射による変異について、カプロン酸エチル高生産に関する遺伝子の知見についてはどうなのか？</p> <p>[回答8] C19株については、カプロン酸エチル高生産に寄与すると言われているFAS2遺伝子の変異が生じていなかったため、他の要因と思われる。</p> <p>[質問9] GFP-MDH3の局在に関して、光っていない細胞に関しては、何が起きているのか？</p> <p>[回答9] DMSS233株については、MDH3の発現量が低下しているため、蛍光が微弱になっ</p>	

1012

ていると推察している。また、今回、構築した株はGFPを高発現させたわけではないので、微弱になっているものと推察している。

[質問10] ペルキソーム内に入ったMDH3が外に出る(エクスポート)遺伝子に何が変異が入っているのではないかと推察している。

[回答10] エクスポートや分解機構に関しては報告がほとんど無く、グリオキシル酸回路でのクエン酸合成酵素の分解に関する知見しか無いので、その点については不明であるが、エクスポートに関しては可能性がある。

[質問11] 細胞の各画分のMDHの活性を測定は出来ないのか？

[回答11] 測定は可能であると思われるので、活性を測定したいと思う。

[質問12] ユビキチン化されないということはないのか？

[回答12] それもありうると思う。

[質問13] シンクロトロン光照射による変異について、Indelの比率が高いということがシンクロトロン光を用いた変異の特徴なのか？

[回答13] それが特徴と言える。シンクロトロン光は赤外線からX線まで幅広い波長領域を利用出来るので、変異の多様性をもたらすことが出来ると言え、変異原として有効であると考えられる。

[質問14] PEX5をノックアウトすると、同様の現象が起こるのか？PEX5に変異はないのか？

[回答14] PEX5に変異はなく、PEX5をノックアウトした場合は同様の現象が起きると推察される。

[質問15] SCF複合体によってMDH3が分解するという仮説についてはどうか？

[回答15] MDH3に特異的なユビキチンリガーゼは見いだされていないが、グリオキシル酸回路で機能するCIT2と同様にMDH3もユビキチンによる分解の可能性を推察した。

[質問16] MDHのタンパク質レベルの発現量は測定していないのか？

[回答16] タンパク質レベルでの発現量は分からないが、活性測定も含めて測定する必要がある。

[質問17] リンゴ酸のトランスポーターの挙動は確認しているのか？

[回答17] トランスポーターについては解析していないが、PEX群の発現量が低下しているので、輸送自体の機能は低下していると考えられる。

[質問18] 有機酸分析でリン酸は同時に測定出来るのか？

[回答18] 他の有機酸と同じ分析系で測定出来る。