

最終試験結果の要旨

報告番号	理工研 第 430 号	氏 名	外川内 亜美
審査委員	主 査	有馬 一成	
	副 査	内海 俊樹	伊東 祐二
		濱田 季之	

最終試験は、以下の要領で博士論文の発表会を行い、研究発表内容の質や発表状況、質疑応答の内容を総合的に審査した。

博士論文の発表会は、平成28年8月10日の10時30分より鹿児島大学理学部2号館214号教室にて開催され、30分の博士論文内容の発表後、約30分間の諮問を含む質疑応答が行われた。具体的な質疑応答の内容の一部を以下に示す。

1) プロペプチドによるククミシンの阻害における阻害定数 K_i を示さなかったのはなぜか。

回答：プロペプチドによる阻害はククミシンの活性部位以外の部分への結合も必要であるため、単純な競合阻害ではない。さらに、合成基質とプロペプチドの分子サイズに差がありすぎるため、阻害剤と基質を同時に作用させなければならない K_i の算出に向かなかったことから、 K_i ではなくプロペプチドを作用させていないククミシンの活性を100%として、ククミシンとプロペプチドをブレインキュベート後の相対活性を示した。

2) ククミシンを阻害しているプロペプチドの分解にトリプシンを用いた理由は何か。

回答：プロペプチドの分解で阻害されていたククミシンの活性が回復するかを確かめるのに使用する合成基質が、後に添加したプロテアーゼで切断されないことが必要であるため、ククミシンやククミシンに類似のプロテアーゼは使用できなかった。さらに、後に添加するプロテアーゼの基質特異性が広いものであるとククミシン自体が分解を受け、活性を失うことが予想されたため、基質特異性が限定的であるトリプシンを使用した。

3) 構造の比較に使用しているトマト由来のSBT3はトマトのどの部分から抽出したものなのか。

回答：SBT3はトマトの植物体からは得られておらず、構造解析に使用したSBT3はトマトの細胞にSBT3を遺伝子導入して過剰発現させ、トマトの茎から抽出したものである。

4) ククミシンの基質の P_2 位にプロリンを好む理由は、ジスルフィド結合が活性サイトの近傍にあるということでのよいのか。

回答：サブサイト2の上部にジスルフィド結合が存在しており、側鎖の大きいアミノ酸は立体障害によりサブサイトに入りにくいと考えられる。さらに P_2 位にプロリンを好む理由として、サブサイト1のポケットが上方向にあるため、基質の P_2 位がプロリンであると、二面角の制限により P_1 残基の側鎖が基質結合ポケットに結合しやすくなると考えられる。

5) ククミシンのPAドメインおよびFn-IIIドメインの機能は何か。

回答：植物プロテアーゼの構造についての研究は少なく、これらドメインの機能は明らかにされていない。特にククミシンは組換え体の作製方法が確立されていないため、ドメインの機能研究はされていない。トマトSBT3を例とすれば、PAドメインとFn-IIIドメインは細胞外への輸送に必要であるとされている。

上記のような質問が審査員から上がり、審査対象者は、適宜適切な回答を行った。

以上のことから審査委員会は、申請者が大学院博士後期課程の修了者としての学力ならびに見識を有するものと認め、博士（理学）の学位を与えるに足る資格を有するものと判定した。