

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	Mahanama Geegana Gamage Awanthi
審査委員	主査 琉球大学 教授 小西 照子
	副査 琉球大学 教授 屋 宏典
	副査 鹿児島大学 教授 北原 兼文
	副査 鹿児島大学 教授 寺田 竜太
	副査 琉球大学 准教授 稲福 征志
審査協力者	
実施年月日	令和 5 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>主査および副査は、令和5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)の学位を与え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	Mahanama Geegana Gamage Awanthi
[質問 1]	ウミブドウSPのヒアルロニダーゼ阻害活性が、フコイダンやアルギン酸など他の硫酸化多糖に比べて少し弱いように見えるが、どう考えるか？
[回答 1]	Table 2.2 で示されているように、海藻由来硫酸化多糖のIC ₅₀ の値は2.9-210 µg/mLであり、SPのIC ₅₀ の値は163 µg/mLであり、それほど低いとは言えない。ただ、フコイダンのようなフコースを含む硫酸化多糖は高い阻害活性を示すことから、もしかすると阻害活性は多糖を構成する糖の影響を受けるのかもしれない。
[質問 2]	ヒアルロニダーゼ阻害活性において、dose-dependent阻害曲線がシグモイドやハイパーボリックなどのパターンを示すことは興味深い。何が影響していると想像するか。
[回答 2]	阻害曲線の違いは、おそらく競争阻害や非競争阻害など阻害機構が異なるためと考える。阻害機構を確認するためには、Lineweaver-Burkプロットなどを用いてさらに解析する必要がある。現段階では実際に何が影響しているのかを答えるのは難しいが、既報では、硫酸化多糖の硫酸基の負の電荷とヒアルロニダーゼのリシン残基の正の電荷とのイオン結合が、ヒアルロニダーゼを不活化することが推測されている。
[質問 3]	博士論文では本研究で得られた結果に基づいてオキナワモズクの細胞壁構造モデルが提案されていた。なぜ説明しなかったのか。可能であれば推定モデルを説明して欲しい。
[回答 3]	博士論文の図3.6 でオキナワモズクの細胞壁の全体構造の推定モデルを提示している。オキナワモズクの細胞壁は、一つ目にHC-Iのフコイダンとセルロースとの相互作用、二つ目にHWのフコイダンとアルギン酸の相互作用の二つの相互作用がポイントとなっている。本研究では、HWのフコイダンはこれまで知られているフコイダンと同じである一方で、HC-Iのフコイダンが、細胞壁中でセルロースと架橋構造を取り、細胞壁の強度維持の役割を果たしている可能性について初めて示唆した。
[質問 4]	サンプル採集の時期を1点だけとしているが、なぜその時期を選んだのか。また、その時期のオキナワモズクの細胞壁の構造は一定なのか。
[回答 4]	本研究では、採集時期としてオキナワモズクの収穫時期のピークを選んだ。以前の研究によると、この時期のオキナワモズクは他の時期のものとは比べて、フコイダン含量が高く、硫酸含量も高く、分子量も大きく、フコイダンの原料として使用するには最適であると考えたから。
[質問 5]	オキナワモズクには成長段階がある。顕微鏡レベルのサイズのもの、肉眼で見えるサイズのもの、細胞壁多糖の構造は似ているのか。
[回答 5]	細胞壁多糖の収量や組成は環境要因や成長段階で異なる。実際に、成長の早い段階と遅い段階の藻体では、細胞壁多糖の収量や構造が異なることは確認している。
[質問 6]	なぜHWのフコイダンは浸透圧調整に、またHC-Iのフコイダンは強度に関与していると言えるのか。
[回答 6]	HWのフコイダンは既知のフコイダンと同じであり、細胞壁に弱く結合しており、既報によると浸透圧の調節に関与していることが推察されているから。

一方、HC-IのフコイタンはHWのフコイタンとは構造が異なり、特に他の多糖と相互作用する。植物の細胞壁多糖のHC-Iはセルロースと架橋し、細胞壁を強固にする働きがあることから、HC-Iのフコイタンも同様な働きがあると推察した。

[質問7] なぜオキナワモズクの形態に差が見られるのか。形態の違いは水温や光などの環境要因か、または波など海の中の物理的な要因なのか。

[回答7] 本研究では海的环境までは調査していないので、直接的な要因を述べることは難しい。しかし、各養殖地の海的环境は同じではないと考える。

[質問8] なぜSPを低分子化するとヒアルロニダーゼ阻害活性が無くなるのか。

[回答8] SPの阻害活性は分子量だけに起因するものではないが、少なくとも、本研究で、多糖の阻害活性にはある程度の分子量の大きさが必要であることが示された。しかし、直接的な理由はわからない。

[質問9] 博士論文の図3.3のフコイタンの構造は、オリゴ糖ユニットの繰り返し構造になっているということか。

[回答9] 現段階では、HC-Iのフコイタンに1,4結合のキシロースや1,4結合のフコースの存在が明らかとなったが、これらの糖残基がどのように結合して多糖を形成しているのかまではわからず、今後の検討課題である。可能性としてこのような部位があると推測したものであり、繰り返し構造になっているかについては不明である。

[質問10] ヒアルロニダーゼは細胞内の酵素であるが、SPの利用についてはどのように考えるか。多糖は非常に高分子の化合物であり、体内に取り込むことは難しいのではないか。

[回答10] 多糖を体内に取り込むのは難しいと考える。例えば、近年ではフコイタンを低分子化したオリゴ糖の利用に注目が集まっており、SPについても低分子化したオリゴ糖としての利用が可能と考える。SPの阻害活性をどのように利用するかについては今後の課題としたい。