

最終試験結果の要旨

報告番号	理工研 第401号	氏名	梶 健太郎
審査委員	主査	九町 健一	
	副査	内海 俊樹	伊東 祐二
		笠井 聖仙	

平成26年1月31日に、審査委員を含む約20名の聴衆の前で学位申請者 梶健太郎 氏による学位論文発表会が開催された。約45分間の研究発表のあと、内容及び関連事項について約20分間の質疑応答が行われた。その内容の一部を以下に示す。

Q1. 導入したDNAがフランキアの制限酵素により分解されるとのことだったが、その認識配列は分かっているのか？また、分解に関わる制限酵素遺伝子は同定されているのか？

回答：認識配列の同定は現在進行中である。フランキアのゲノム中にいくつかの制限酵素遺伝子が存在することはわかってる。それらに対応する組換えタンパク質を大腸菌で合成し、切断試験を行うことにより、どの遺伝子が分解に関与するかを明らかにすることができる。

Q2. 本研究で開発した菌系のクローン化法を、形質転換体の単離に応用することは可能か？

回答：可能である。相同組換えによるターゲティングと組み合わせることにより、任意の遺伝子を破壊する系が確立できるかもしれない。

Q3. いくつかの変異株を単離しているが、その変異表現型の原因となる遺伝子は推定できるか？

回答：ゲノムシーケンスにより、各変異株で変異している塩基は分かっている。窒素固定変異株については、既知の窒素固定関連遺伝子上には変異は見つからなかったため、現時点では推定は難しい。色素変異株については、複数の変異株で同じ遺伝子に起こっている変異が見つかっており、これが原因となっている可能性がある。

Q4. 変異株のゲノムに起こった突然変異の数はどれくらいか？突然変異体の出現率はどれくらいか？

回答：変異はゲノム中に20から30個程度検出された。色素変異株の場合、その出現率は1/1000程度だった。

Q5. 細胞に導入したDNAは分解されているにも関わらず、マーカー遺伝子の転写産物がRT-PCRで検出できたのはなぜか？

回答：サザンプロットやPCRにより、分解産物の中には完全長のマーカー遺伝子が含まれることが分かっている。転写産物はこれらの分子に由来すると考えられる。

Q6. GFP遺伝子について、転写産物は検出されたのに蛍光が検出されなかったのはなぜか？

回答：蛍光が検出できるほどの量のタンパク質が翻訳されなかったのかもしれない。またタンパク質の適切なフォールディングや修飾が起らなかった可能性も考えられる。

いずれの質問にも的確に回答した。以上のことから審査委員会は、申請者が博士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りる資格を有するものと判定した。