

最終試験結果の要旨

学位申請者 氏名	下川倫子			
審査委員	主査	鹿児島大学	教授	北原兼文
	副査	鹿児島大学	准教授	南雄二
	副査	佐賀大学	教授	渡邊啓一
	副査	鹿児島大学	教授	杉元康志
	副査	佐賀大学	教授	光富勝
審査協力者	鹿児島大学 名誉教授 八木史郎			
実施年月日	平成27年 1月15日			
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。)				<input checked="" type="checkbox"/> 口答・筆答
<p>主査および副査は、平成27年1月15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

下川倫子

【質問 1】シバフタケレクチン(MOL)にはヘテロジェネティー(heterogeneity・微不均一性)が存在するのか。一般的に植物由来のタンパク質にはヘテロジェネティーが多く存在するが、キノコにも同様の傾向がみられるのか。

【回答 1】MOLのNative PAGEの結果より単一バンドが確認されているため、MOLにはヘテロジェネティーは存在しない。キノコの遺伝子は、イントロンが非常に少ない、またはイントロンが存在しないものもあるため、発現されるタンパク質の種類は限定的である。そのため、植物とは異なり、キノコ由来のタンパク質ではヘテロジェネティーが非常に少ない傾向にある。

【質問 2】MOLにはマンノース結合モチーフが存在するのにマンノースを結合しないのはなぜか。

【回答 2】MOLの一次構造にはマンノース結合モチーフが保存されているが、立体構造をとった時に、必ずしもマンノース結合モチーフが構造表面に配置されるとは限らない、またマンノース結合モチーフが構造表面に配置されたとしても周囲のアミノ酸の配置によっては相互作用できる糖の種類が変化する可能性があると考えている。

【質問 3】スノードロップ型マンノース結合モチーフを持たないレクチンで、マンノースを結合するものがあるのか。

【回答 3】豆科レクチンのコンカナバリンAやマンノース結合型ジャカリン近縁レクチンなどは、スノードロップ型マンノース結合モチーフとは異なる結合モチーフを持っているが、マンノースを結合するレクチンである。

【質問 4】アフリカパンノキレクチンのTAA-Gにどのような機能性、応用の可能性があるか。

【回答 4】TAA-GはCore 3 O-結合型糖鎖に対して高い糖結合特異性を持つので、レクチンアレイの固定糖鎖として使用すると糖鎖解析のアイテムの1つとなる。また、Core 3 O-結合型糖鎖は癌細胞の悪性化に関与する糖鎖であるため、医学の分野での応用の可能性もあると考えられる。

【質問 5】TAA-Gの α 鎖と β 鎖を分離するときは、前処理等の必要があるか。

【回答 5】TAA-Gの α 鎖と β 鎖は非共有結合(水素結合)で結合しているので前処理の必要はない。

【質問 6】ガラクトース認識ジャカリン近縁レクチン(gJRL)に β 鎖は必要があるのか。

【回答 6】 β 鎖にはgJRLの糖鎖認識に直接関わるアミノ酸は存在しないが、立体構造を形成するうえで重要な役割を果たしていると報告されている。

【質問 7】 遺伝子的に TAA-G の α 鎖と β 鎖はどのようにになっているのか。

【回答 7】 TAA-G の α 鎖と β 鎖は一つの遺伝子からタンパク質が発現して、プロセッシングを受けて、 α 鎖と β 鎖になる。

【質問 8】 ガラクトース認識の gJRL とマンノース認識の mJRL の細胞内局在性はどのようにになっているのか。

【回答 8】 本研究では両者の局在性については調べていないが、gJRL はゴルジ体または液胞に局在し、mJRL は細胞質に局在するレクチンであると別の論文により報告されている。

【質問 9】 欧米産シバフタケと日本産シバフタケは発現しているレクチンが異なっていた。両種は別種であるのか。

【回答 9】 発現しているタンパク質が異なるという点で差異がある。しかし、別種であるかはわからない。なぜならば、遺伝子が 95% 一致していたとしても、同種でないキノコもあり、キノコの種判別は極めて難しいためである。

【質問 10】 糖鎖認識部位近傍に 2 残基のアミノ酸が挿入されたことが、本当に糖鎖認識を変化させる原因であるか。

【回答 10】 糖鎖認識の変化については、実際に立体構造解析を行って見ないとわからない。しかし、糖鎖認識に関わる全てのアミノ酸が保存されていて、他の gJRL と高いアミノ酸配列相同性が確認されているので、一次構造から考えられる原因としては 2 残基のアミノ酸の挿入による変化であると考えている。

【質問 11】 モデリングにより Core1 糖鎖を認識出来ないと考えているのか。

【回答 11】 モデリングにより糖鎖認識部位近傍に 2 残基のアミノ酸が挿入されていることにより、78 番目のチロシンの位置が、より糖鎖に近づくことで立体障害を起こす可能性が高いと考えている。

【質問 12】 モデリングソフトには PyMOL ではなく MOE (Molecular Operating Environment) を使うべきではないか。

【回答 12】 モデリングに関する知識、技術が不足しており MOE を使用するには至らなかった。今後検討したい。

【質問 13】 MOL が二量体であることは重要なことであるか。

【回答 13】 血球凝集活性は、血球の表面糖鎖を認識したレクチンと二個以上の血球が結合し、レクチン分子を介した架橋構造を形成することで起こる。そのため、単量体で糖鎖認識部位を二カ所以上持たないレクチンが血球凝集活性を持つためには二量体を形成する必要がある。また、単量体で糖鎖認識部位を二カ所以上もっているレクチンにおいても多量体を形成することで糖鎖認識をより効率良く行えるようになると考えている。