

要旨

シアリダーゼは糖タンパク質や糖脂質の非還元末端よりシアル酸を遊離させる糖鎖分解酵素である。シアリダーゼによるシアル酸の遊離（脱シアリル化）は糖鎖分解を促進するだけでなく、糖鎖分子のコンホメーションやレセプターによる認識機構、細胞接着や免疫機構などに影響を与えることから、哺乳類において様々な生理機能を持つことが知られている。一方、魚類におけるシアリダーゼの生理機能についてはよくわかっていない。そこで、本研究では、その形態や生態が多様なシクリッド科のナイルティラピアに着目し、魚類シアリダーゼの性状解析およびその生理機能を明らかにすることを目的とした。

ティラピアシアリダーゼ遺伝子群のうち、未同定の2つの *neu1* (*neu1a* および *neu1b*) および1つの *neu4* のクローニングを行い、酵素学的性状を解析した。その結果、ティラピア *Neu1a* および *Neu1b* は、哺乳類 *Neu1* やメダカ *Neu1* と同様にリソソームに局在し、酸性 pH で最大活性を示した。また、ティラピア *Neu1a* はシアロオリゴ糖を良い基質としたが、*Neu1b* は人工基質 MU-*Neu5Ac* のみに活性を示した。一方、ティラピア *Neu4* は酸性 pH から中性 pH まで活性を示し、ガングリオシドやシアロオリゴ糖を基質とした。ティラピア *Neu4* は細胞内局在を核に示し、これはリソソーム局在のメダカ *Neu4*、小胞体局在のゼブラフィッシュ *Neu4* とは大きく異なっていた。

これまで核に局在を示すシアリダーゼは報告されておらず、魚類における核シアリダーゼの分布を検討した。*in silico* 解析により、棘鱗上目の魚類 *Neu4* に核移行シグナル (NLS) が

予想されるものの、実際の局在はこれと異なっていた。そこで、ティラピア Neu4 の立体構造予測解析を行ったところ、ティラピア Neu4 には限られた種類のアミノ酸が連続する低複雑領域（LC）が存在し、NLS の近傍に位置することが明らかとなった。Neu4 変異体を作成し、蛍光免疫染色法や免疫沈降法で解析したところ、LC が核輸送タンパク質と相互作用することにより、Neu4 は核に局在することが示唆された。NLS と LC 領域をともに有する魚類はスズキ類のみであり、実際に同じスズキ類のカンパチ Neu4 も核局在を示した。

次に、ティラピアシアリダーゼの胚発生における機能を明らかにするために、各シアリダーゼの発生段階における遺伝子発現をリアルタイム PCR により解析した。その結果、*neu1a* および *neu1b* は胚発生の初期、*neu3a* は後期、*neu4* は孵化直前に高い発現を示した。このことから、各ティラピアシアリダーゼは発生段階において異なる機能を持つことが示唆され、特に Neu4 は神経新生における働きが予想された。そこで暗闇でティラピア仔魚を飼育し、視神経の発達を遅延させたところ、*neu4* 遺伝子の発現低下に伴う中性シアリダーゼ活性の減少が認められた。さらに、ティラピア *neu4* を導入した神経細胞株では、神経突起の形成が有意に促進された。このことから、ティラピア Neu4 は網膜の神経新生に関与していることが推察された。