

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	本田 晃伸
審査委員	主査 鹿児島 大学 准教授 塩崎 一弘
	副査 鹿児島 大学 教授 小松 正治
	副査 鹿児島 大学 准教授 藤田 清貴
	副査 鹿児島 大学 教授 小谷 知也
	副査 鹿児島 大学 准教授 二神 泰基
審査協力者	印
題目	<p>ティラピアにおける脱シアリル化機構の意義とその生理機能 (Significance and physiological function of desialylation in Nile tilapia)</p>
<p>シアリダーゼは糖鎖の非還元末端からシアル酸を遊離させる加水分解酵素である。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、本論文では、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。</p> <p>初めに本論文では、ナイルティラピア脳より2種のリソソーム局在型シアリダーゼ (Neu1a および Neu1b) と核局在型シアリダーゼ (Neu4) のクローニングと性状解析に成功した。多くの魚類ではリソソーム局在型シアリダーゼは1つであるが、シクリッド科では2つの Neu1 パラログが存在しており、そのうちの1つ (Neu1b) は通常の Neu1 シアリダーゼが基質とすることが出来ないデアミノノイラミン酸 (KDN) を加水分解できることが明らかとなった。</p>	

さらに本論文では、ティラピアのNeu4シアリダーゼが核に局在することを見出した。これは脊椎動物で核に局在する糖鎖分解酵素について初の報告である。この核局在Neu4は、魚類の中でもスズキ目にのみに存在が認められた。続いてこのティラピアNeu4の核局在メカニズムの解明を試みた。一般に核局在を示すタンパク質には、塩基性アミノ酸から構成される核移行シグナル配列 (NLS) が存在する。ティラピアNeu4においてもC-末端付近にNLSが存在したが、核に局在を示さない他魚種 (メダカ、ブラティ) Neu4においてもNLSが認められたことから、ティラピアNeu4の核局在にはNLS以外の要因が関与することが示唆された。そこで種々のNeu4変異体を作製して解析を進めたところ、セリン/スレオニンの繰り返し配列に富むLow Complexity (LC) 領域がティラピアNeu4の核局在に重要であることが明らかとなった。このLC領域にはO-glycosylationやO-GlcNAc修飾などは認められず、セリン/スレオニンを他のアミノ酸に置換するとその核局在が失われた。さらにNeu4のLC欠損変異体では、インポーチン α との相互作用が有意に低下しており、LC/NLS/インポーチン α の複合体形成がNeu4の核局在に必須であることが発見された。

次にティラピアシアリダーゼの生理機能を明らかにするために、胚発生の各段階における遺伝子発現を解析した。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*を遺伝子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示唆された。

以上、本論文ではナイルティラピアにおける脱シアリル化経路をすべて明らかにし、シクリッド科特異的に認められるシアル酸分解系の存在を見出した。特に本論文で発見されたNeu4シアリダーゼは、脊椎動物における初の核局在型の糖鎖分解酵素であることから、今後の糖鎖生物学に与えるインパクトは非常に大きい。こうした理由から、本論文の学術的内容は高く評価されるものであり、博士 (水産学) の学位を与えるに十分な価値を有するものと判断した。