

最終試験結果の要旨	
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
実施年月日	令和3年1月25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>主査及び副査5名は、令和3年1月25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（水産学）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	本田 晃伸
-------------	-------

【質問1】 ティラピアNeu4は核内に常に存在するのか、または必要な時だけ細胞質から核に移行するのか？

【回答1】 蛍光染色の結果では、核以外に局在するNeu4は検出されない。核外輸送シグナル配列を持たないことから、Neu4は常に核に局在すると予想される。

【質問2】 Neu4を培養細胞に一過性発現させて実験を行っているが、このタンパク質の安定性についてはどう考えているか？

【回答2】 半減期の検討は行っていないが、凍結融解を繰り返しても粗酵素液の酵素活性はほとんど低下しないことから、安定性は高いと思われる。

【質問3】 Neu4のLC配列はセリン/スレオニンに富むが、この部分にO型糖鎖が付加する可能性はあるのか？

【回答3】 配列予想からはO型糖鎖付加の可能性は低いと考えられる。O-GlcNAc修飾については、特異抗体を用いてウエスタンブロットで解析したが検出されなかった。

【質問4】 「Neu1bが存在することにより、新規の糖鎖修飾にKDNが利用可能」という考察はどのような意味なのか？

【回答4】 リソソームのKDN-シアリダーゼにより生じた遊離KDNは、その後CMP-KDNに変換されて新たな糖鎖修飾に用いられる、という意味である。

【質問5】 一般に脳の形成において、シアル酸転移酵素とシアリダーゼの関係性はどうか？

【回答5】 マウスでは発生初期に糖転移酵素の発現が高く、発生段階につれ、シアリダーゼの発現が高くなることが知られている。おそらく魚類でも同様の傾向があると思われる。

【質問6】 Neu4のLC配列の変異体はどこに局在するのか？

【回答6】 蛍光免疫染色による解析では、S/T変異体は細胞質に、LC欠損変異体は小胞体に局在しているように観察されるが、その詳細は不明である。

【質問7】核に局在するNeu4は、脱シアリル化酵素以外の機能はないのか？

【回答7】カンパチNeu4にはzinc fingerのモチーフが予想されているので、転写因子としての機能も考えられるが、詳細は不明である。

【質問8】Neu4がGM1を生成することで、なぜ神経分化が促進されるのか？

【回答8】GM1はNeuroDなどの神経分化に関与する転写因子のプロモーター領域に結合し、ヒストンのアセチル化を促進することが知られている。また、Ca/Naイオン交換体の輸送活性がGM1により活性化され、Caイオンを取り込む。以上の2つの作用により、神経細胞の分化が促進されたと考えている。

【質問9】LC領域のセリンとスレオニンをアラニンに置換したNeu4変異体において、タンパク質のホールディングは正常に行われているのか？

【回答9】この変異体のシアリダーゼ活性に変化が見られないことから、ホールディングは正常に行われていると考える。

【質問10】哺乳類と異なりNeu2が魚類で存在しないことから、ティラピアではNeu4がNeu2の代わりに神経分化を促進していると考えてよいか？

【回答10】細胞内局在が異なるため哺乳類Neu2とはメカニズムは異なるが、神経分化を促進するという点ではティラピアNeu4が代替の働きをしていると考える。

【質問11】LC配列とインポーチン α の相互作用の報告はあるのか？

【回答11】FUSタンパク質のLC配列が、インポーチンファミリーと相互作用する報告がある。また、核膜孔を形成するヌクレオポリンのFGリピートはLC配列であり、インポーチンファミリーが核膜孔を通る際には、このFGリピートとの相互作用が重要とされる。