

28P-pm02S

哺乳動物組織においてシアリダーゼ活性を高感度に検出する蛍光プローブの構築
○家野 太輔¹, 南 彰¹, 大坪 忠宗², 池田 潔², 金澤 寛明³, 清水 広介⁴,
石橋 さやか¹, 崔 紗希¹, 福元 北斗¹, 田口 理紗¹, 稲田 真里¹, 堀井 雄樹¹,
高橋 忠伸¹, 奥 直人⁴, 鈴木 隆¹ (¹静岡県大葉・生化学, ²広島国際大葉・有機合成
化学, ³静岡県大看・機能形態学, ⁴静岡県大葉・医薬生命化学)

【目的】シアリダーゼは糖鎖からシアル酸を脱離する加水分解酵素であり、記憶やシナプス可塑性などの神経機能に関与する。哺乳動物におけるシアリダーゼの酵素活性はウイルスやバクテリアと比較して弱く、組織学的にシアリダーゼ活性の詳細な強度分布を知ることは困難であった。大腸がんなどにおけるがん細胞ではシアリダーゼが異常に高発現することが報告されており、哺乳動物組織においてシアリダーゼ活性の高感度検出が可能となれば、神経などの生理機能解明のみならず、大腸がんの治療や診断においても有用である。本研究では、組織染色用を開発した新規シアリダーゼ活性検出プローブ (BTP4-Neu5Ac) を利用し、哺乳動物の脳や胎児、がん組織におけるシアリダーゼ活性の分布をイメージングした。

【方法】BTP4-Neu5Ac (10-1,000 μ M) を含む緩衝液 (pH 7.3) 中で、バクテリア由来シアリダーゼやラット脳急性切片 (400 μ m 厚)、ラット胎児の凍結全身切片 (300 μ m 厚)、がん細胞 (Colon26 NL-17) を移植したマウス大腸組織 (無固定) などを1-24時間インキュベートした。洗浄した後、蛍光顕微鏡で観察した。

【結果・考察】シアル酸と蛍光物質 (BTP4) がグリコシド結合した BTP4-Neu5Ac は、バクテリア由来シアリダーゼの添加によって BTP4 が生成し蛍光強度が顕著に増加した。次に、BTP4-Neu5Ac を利用して脳や胎児の切片を染色した結果、脳白質領域や胎児の皮膚や腸、脊髄などに比較的強い蛍光が観察された。これらの蛍光は、シアリダーゼ阻害剤 (DANA) やグルタルアルデヒドを作用させることで消失した。そこで、がん細胞を移植した大腸を染色した結果、がん組織に強い蛍光が観察された。以上より、BTP4-Neu5Ac はシアリダーゼの基質となること、哺乳動物の組織においてシアリダーゼ活性を高感度に検出できることが見出された。