

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	O-グルコース型糖鎖修飾による Notch 活性化機構の解析				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	竹内 英之
	研究分担者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	高橋 忠伸
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	南 彰
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	紅林 佑希
	発表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	竹内 英之

講演題目	O-グルコース型糖鎖修飾による Notch 活性化機構の解析
------	--------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望	<p>研究の目的 本研究では、申請者が切り開いてきた独自の糖鎖科学研究を実践することにより、生化学分野における教育の推進を図る。Notch シグナルは、進化的によく保存された細胞の運命決定を司る極めて重要な細胞間シグナル伝達経路である。哺乳類では、Notch 遺伝子は 4 種類存在する。Notch の細胞外部位には、29-36 個の上皮増殖因子様 (EGF) ドメインの繰り返し構造が存在し、この部分がリガンドとの結合を担う。これまでに、申請者は、Notch の細胞外部位における糖鎖修飾が、その活性化に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。申請者は、Notch の EGF ドメインの特定の位置のセリン残基に O-グルコースを付加する糖転移酵素 POGLUT1 を、Notch の活性化に必須の因子として同定した [Cell 2008]。申請者は、POGLUT1 中のミスセンス変異により、POGLUT1 の酵素活性が低下し、筋肉の幹細胞である衛星細胞の数の減少と衛星細胞における Notch シグナルの低下が起こり、このことが、成人後に発症する肢帯型筋ジストロフィーの原因となることを見出した [EMBO Mol Med 2016, Acta Neuropathologica 2020]。衛星細胞では、POGLUT1 は、発現している 3 種類全ての NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3 を糖鎖修飾することによって機能していると考えられる。しかしながら、現状、NOTCH4 も含め、各々の Notch の生体内における O-グルコース糖鎖修飾の付加と伸長度は明らかにされていない。そこで、本研究では、Notch 上の O-グルコース糖鎖修飾の全容を質量分析技術を用いて明らかにし、さらには、O-グルコース糖鎖修飾が Notch 受容体の活性化をどのように制御するか調べることを目的とした。</p> <p>研究成果 O-グルコース糖鎖修飾の解析に取り組み、次の成果を得た。ヒト培養細胞 HEK293T 細胞、および、マウス筋芽細胞 C2C12 細胞において、MycHis タグを付加した形でマウス NOTCH2 の全長型あるいは細胞外ドメインを強制発現させた。発現タンパク質を Ni-NTA アガロースカラムにより精製した。また、C2C12 細胞において内因性に発現している NOTCH2 を免疫沈降法により精製した。これらの NOTCH2 タンパク質を対象として、質量分析計を用いて、糖鎖修飾を解析した結果、両細胞に発現させた NOTCH2 上には、O-グルコース糖鎖三糖構造が存在していることが確認された。興味深いことに、各 EGF ドメインにおける O-グルコース糖鎖修飾のパターンが類似していることが分かった。さらに、本研究により、骨格筋系列の細胞に内因性に発現した NOTCH2 の O-グルコース糖鎖修飾を世界で初めて明らかとなった。</p> <p>今後の展望 今後、Notch シグナルの活性化レベルを多面的に調べることで、O-グルコース糖鎖修飾が Notch 受容体の活性化を制御する分子メカニズムを明らかにする。研究成果は、筋ジストロフィーなど、Notch シグナル異常に起因する様々なヒトの疾患の理解に役立つ。</p>
-----------------	---