

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

研 究 テーマ	糖鎖修飾による Notch 受容体活性化制御機構に関する研究				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	竹内 英之
	研究協力者	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	紅林 佑希
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	塚本 庸平
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	竹内 英之

講演題目	
糖鎖修飾による Notch 受容体活性化制御機構に関する研究	
研究の目的、成果及び今後の展望	
<u>研究の目的</u> 本研究では、申請者が開拓してきた独自の糖鎖科学研究を遂行し、生化学分野における教育の推進を図る。Notch シグナルは、細胞の運命決定を司る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する。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 ドメインに O-グルコースを付加する糖転移酵素 POGLUT1 を、Notch シグナルに必須の因子として同定した [Cell 2008]。申請者は、POGLUT1 のミスセンス変異により、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、そのことが、肢帯型筋ジストロフィーの原因となることを見出した [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。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により明らかにし、さらに、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。 <u>成果</u> NOTCH2 の O-グルコース糖鎖構造を調べるため、HEK293T および C2C12 細胞の NOTCH2 に対して LC-MS/MS を用いたグライコプロテオミクス解析を実施した。さらに、NOTCH2 の活性化度に対する O-グルコース糖鎖伸長の影響をレポーターアッセイにより評価した。具体的には、O-グルコース糖鎖修飾に関与する各糖転移酵素を欠損させた細胞を用いて NOTCH2 を発現させ、リガンドと反応させた際の Notch 依存性プロモーター制御遺伝子の発現効率を測定した。NOTCH2 の O-グルコース糖鎖は、ほとんどの EGF ドメインで三糖まで伸長していた。O-グルコース糖鎖伸長に関与する糖転移酵素を各々欠損させると、NOTCH2 の活性化と細胞膜上の発現量が低下し、その影響は糖鎖伸長度と一定の相関性がみられた。以上より、O-グルコース糖鎖はその有無のみならず伸長度に応じて NOTCH2 の細胞膜発現や活性化を制御することが示唆された。 <u>今後の展望</u> NOTCH2 は骨格筋において筋衛星細胞の機能調節や筋萎縮に関与することが報告されている。今後の研究により、O-グルコース糖鎖による NOTCH2 の制御メカニズムの理解を通じて、骨格筋の再生機構の解明や筋萎縮の治療法開発につながることを期待される。	