

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

研 究 テーマ	Notch 糖タンパク質のグライコプロテオミクスを志向した O結合型糖鎖認識分子の探索				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	紅林 佑希
	研究協力者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	竹内 英之
		所属・職名	薬学部・准教授	氏名	高橋 忠伸
		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・講師	氏名	紅林 佑希

講演題目
Notch 糖タンパク質のグライコプロテオミクスを志向した O結合型糖鎖認識分子の探索
研究の目的、成果及び今後の展望
糖鎖は、DNA、タンパク質に続く、第三の生命鎖であり、その構造や機能、生体における発現パターンの変化を知することは生命現象を理解するうえで重要である。糖鎖はあらゆる細胞の表面に存在する一方、その多様性と不均一性から解析が困難であり、糖鎖解析の技術は未だ発展途上である。近年、糖鎖のみならず糖鎖修飾を受けたタンパク質を含めた網羅的解析すなわちグライコプロテオミクスの研究が精力的に行われている。グライコプロテオミクスは糖鎖の構造がどのように制御されているのか、また糖鎖がどのようにタンパク質を制御するのかを明らかにするために必要不可欠な解析技術であるが、一方でその発展段階は未だ黎明期と呼べる状況である。 Notch シグナルは Notch 受容体とリガンドの相互作用により発生する細胞内シグナルであり、細胞の増殖や分化などの運命決定に機能する。Notch 受容体の細胞外領域に存在する O結合型糖鎖修飾は Notch シグナルの制御因子として機能しており、糖鎖修飾の異常は筋ジストロフィーやがん等の疾患と関連する。そのため、Notch 受容体における O結合型糖鎖の構造的特徴の解析技術は、その機能解明やバイオマーカーとしての利用に繋がると期待される。しかし現状、生体試料を用いた Notch 受容体の糖鎖修飾の解析はタンパク質としての希少性から困難である。そこで本研究では Notch 受容体の O結合型糖鎖を認識するレクチンを探索し、レクチンプルダウンによる濃縮法を開発することで、グライコプロテオミクスによる糖鎖情報の取得やバイオマーカーの探索に貢献することを目的とした。 O結合型糖鎖結合レクチン探索用モデルとしてヒト NOTCH1 のリコンビナントタンパク質を作製した。リコンビナント NOTCH1 と 30 種類のレクチンとの結合性を評価し、O結合型糖鎖結合性のレクチンを探索した結果、AAL (<i>Aleuria aurantia</i> Lectin) がリコンビナント NOTCH1 に高い結合性を示した。AAL と糖鎖構造を改変した NOTCH1 由来タンパク質との結合性を解析した結果、AAL は NOTCH 上の O-Fuc 単糖を認識していることが示された。さらに、AAL を用いたレクチンプルダウンによりマウス生体組織から内因性 Notch 受容体の濃縮を試行した。マウス脳や肝臓、血清からの AAL を用いプルダウン後の濃縮物において内因性 NOTCH1 が検出された。今後、マウスおよびヒト血清を用いた Notch 受容体の濃縮を行い、濃縮産物に対するグライコプロテオミクス解析を行っていく予定である。 レクチンを用いた濃縮法では、分子特異的な抗体と異なり O結合型糖鎖を持つ分子を網羅的に捕捉できることが見込まれる。今後、本手法により Notch 受容体の網羅的 O-グライコプロテオミクスが達成されることで、糖鎖の機能解明や新たなバイオマーカーの発見に繋がることが期待される。