

Title	Dual roles of O-glucose glycans redundant with monosaccharide O-fucose on Notch in Notch trafficking
Author(s)	松本, 顕治郎
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/59518
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (松本 颯治郎)

論文題名

Dual roles of *O*-glucose glycans redundant with monosaccharide *O*-fucose on Notch in Notch trafficking (Notchの*O*-グルコースグリカン修飾が示す*O*-フコース修飾と冗長的なNotchの小胞輸送における二つの機能に関する研究)

論文内容の要旨

発生過程において、細胞運命決定や形態形成には、細胞間の相互作用が重要な役割をはたしている。Notchシグナルは、細胞間の相互作用で広く機能している。Notchシグナルは、細胞膜に提示された一回膜貫通型の受容体のNotchに、隣接した細胞の細胞膜に提示された膜貫通型のリガンドが、細胞外ドメインを介して結合することで活性化される。ショウジョウバエNotchや脊椎動物Notch-1、-2の細胞外ドメインには、36のEGF様リピート配列が存在し、そのほとんどが糖鎖修飾を受ける。この糖鎖修飾として*O*-グルコースグリカン修飾と*O*-フコース単糖修飾がある。*O*-フコース単糖の欠損、及び*O*-グルコースグリカン修飾を単独で欠損させた場合、野生型とほぼ同様のNotchシグナルの活性化が観察される(Ishio et al., 2015)。しかし、*O*-フコース単糖と*O*-グルコースグリカン修飾を同時欠損させると、Notchシグナルは顕著に低下する (Ishio et al., 2015)。このことから*O*-フコース単糖と*O*-グルコースグリカン修飾がNotchシグナルの活性化に冗長的に働くことが示された。*O*-グルコースグリカン修飾は”グルコース-キシロース-キシロース”の3糖からなる。以前の研究では、*O*-グルコースグリカン修飾のどの糖が*O*-フコース単糖修飾と冗長的な機能を持つかということは不明であった。そこで、本研究は*O*-フコース単糖と冗長的な機能を持つ*O*-グルコースグリカン修飾の糖の同定を目的とした。

Notchは、小胞体内で*O*-フコース単糖修飾と*O*-グルコースグリカン修飾を受ける。*O*-フコース単糖修飾を触媒するのは*O*-fucosyltransferase 1 (*O*-fut1) である。また、Rumiが*O*-グルコースグリカンの始めのグルコースを、Shamsがそのグルコースにキシロースを付加する。そこで本研究は、これらの酵素をコードする遺伝子の突然変異体の表現型を観察することで、*O*-グルコースグリカンのどの糖が*O*-フコース単糖修飾と冗長的な機能を持つのかということをはっきりとすることを目的とした。*O*-fut1、shams、rumi突然変異単独では、平温条件下においてNotchシグナルは野生型とほとんど変わらなかった。しかし、平温条件下におけるshamsと*O*-fut1、rumiと*O*-fut1のそれぞれの二重突然変異体は、Notch情報伝達系の顕著な低下を示した。このことから、Notchの*O*-フコース単糖と*O*-グルコース単糖、および、Notchの*O*-フコースと*O*-グルコースグリカン末端のキシロース2糖が、それぞれが冗長的に働くことでNotchシグナルが正常に活性化されているということが示された。Notchシグナルの活性化には、Notchの正常な輸送が必要である(Sasaki et al., 2007)。まず、Notchは小胞体翻訳後修飾の後、Notchは細胞の上皮細胞の頂端面の細胞膜に輸送される。次に、トランスエンドサイトーシスにより接着帯に局在する。最後に、NotchのリガンドであるDeltaとの結合が起こりNotchシグナルの活性化が起こる。また、Notchは小胞体から接着帯に直接的に輸送されないことが示唆されている(Sasaki et al., 2007)。shamsと*O*-fut1の二重突然変異体細胞では、Notchが頂端面の細胞膜に蓄積し、接着帯のNotchは消失していた。また、rumiと*O*-fut1の二重突然変異体細胞ではNotchが小胞体に蓄積し、細胞膜表面及び接着帯のNotchが消失していた。このことから、*O*-グルコースグリカンの、グルコースとキシロース2糖には異なった働きがあり、それぞれが*O*-フコース単糖と冗長的に働いているということが示された。

Notchシグナルは二種類の異なる糖鎖の冗長的な機能により、制御されていることが示された。多くの膜タンパク質は、*O*-フコースグリカンと*O*-グルコースグリカンを含む、様々な*O*型糖鎖の共通配列を持つ。そのため、本研究より膜タンパク質における糖鎖の真の機能を理解するためには、様々な*O*型糖鎖を同時に欠損させたときの表現型の観察する必要があることが本研究により示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (松本 顕治郎)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	松野 健治
	副 査	教授	柿本 辰男
	副 査	教授	梶原 康宏
	副 査	准教授	樺山 一哉

論文審査の結果の要旨

細胞運命決定には、細胞間の相互作用が重要な役割をはたしている。Notch シグナルは、細胞間の相互作用で広く機能している。Notch シグナルは、一回膜貫通型の Notch 受容体に、隣接した細胞の細胞膜に提示された膜貫通型のリガンドが、それぞれの細胞外ドメインを介して結合することで活性化される。ショウジョウバエや脊椎動物の Notch の細胞外ドメインには、36 の EGF 様リピート配列が存在し、そのほとんどが糖鎖修飾を受ける。この糖鎖修飾には、N型糖鎖修飾と、5種類のO型糖鎖修飾がある。このうち、O-グルコースグリカンとO-フコース単糖修飾の機能についての研究が進んでいる。ショウジョウバエにおいて、O-フコース単糖またはO-グルコースグリカン修飾をそれぞれ単独で欠損させた場合、通常の状態では、Notch シグナルの活性化には大きな影響はない。しかし、O-フコース単糖とO-グルコースグリカン修飾を同時欠損させると、Notch シグナルは顕著に低下する。このことからO-フコース単糖とO-グルコースグリカン修飾がNotch シグナルの活性化に冗長的に働くことが示されていた。一方、O-グルコースグリカン修飾は”グルコース-キシロース-キシロース”の3糖からなる。これまでの研究では、O-グルコースグリカン修飾のどの糖がO-フコース単糖修飾と冗長的な機能を持つかということは不明であった。申請者は、O-フコース単糖と冗長的な機能を持つO-グルコースグリカン修飾の糖の同定を目的として研究を行った。

Notch は、小胞体内でO-フコース単糖修飾とO-グルコースグリカン修飾を受ける。O-フコース単糖修飾を触媒するのはO-fucosyltransferase 1 (O-fut1) である。また、Rumi がO-グルコースグリカンの始めのグルコースを、Shams がそのグルコースにキシロースを付加する。申請者は、これらの酵素をコードする遺伝子の突然変異について、一重、二重突然変異体表現型を調べた。O-fut1、shams、rumi 突然変異単独では、Notch シグナルに顕著な影響は認められなかった。しかし、shamsとO-fut1、rumiとO-fut1のそれぞれの二重突然変異体は、Notch シグナルの顕著な低下を示した。このことから、Notch のO-フコース単糖とO-グルコース単糖、および、Notch のO-フコースとO-グルコースグリカン末端のキシロース二糖が、それぞれが冗長的に働くことで、Notch シグナルが正常に活性化されていることを明らかにした。

Notch シグナルの活性化には、Notch の正常な輸送が必要である。Notch は小胞体翻訳後修飾の後、上皮細胞の頂端面の細胞膜に輸送され、次に、トランスサイトosisにより接着帯に輸送される。shamsとO-fut1の二重突然変異体細胞では、Notch が頂端面の細胞膜に蓄積し、接着帯のNotchは消失した。また、rumiとO-fut1の二重突然変異体細胞ではNotch が小胞体に蓄積し、細胞膜表面と接着帯から消失した。これらの結果から、申請者は、O-グルコース単糖とO-フコース単糖はNotchの小胞体からの搬出に、キシロース二糖とO-フコース単糖はNotchのトランスサイトosisにおいて冗長的に働いていることが示唆した。

これらの成果は、細胞シグナル受容体における糖鎖修飾の機能の理解に新たな視点を導入するものであり、高く評価される。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。