



Title	Notch missense mutations in <i>Drosophila</i> reveal functions of specific EGF-like repeats in Notch folding, trafficking, and signaling
Author(s)	Nurmahdi, Hilman
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/91780
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (Hilman Nurmahdi)		
Title	Notch missense mutations in <i>Drosophila</i> reveal functions of specific EGF-like repeats in Notch folding, trafficking, and signaling (ショウジョウバエ <i>Notch</i> 遺伝子のミスセンス突然変異を用いたEGF-様リピートの <i>Notch</i> 折りたたみ、輸送、シグナルにおける特異的機能の研究)	
Abstract of Thesis <p>Notch signaling plays various roles in cell-fate specification through direct cell-cell interactions. Notch receptors are evolutionarily conserved transmembrane proteins with multiple epidermal growth factor (EGF)-like repeats. <i>Drosophila</i> Notch has 36 EGF-like repeats, and while some play a role in Notch signaling, the specific functions of most remain unclear.</p> <p>To investigate the role of each EGF-like repeat, I used 19 previously identified missense mutations of <i>Notch</i> with unique amino acid substitutions in various EGF-like repeats and a transmembrane domain; 17 of these were identified through a single genetic screen. I assessed these mutants' phenotypes in the nervous system and hindgut during embryogenesis, and found that 10 of the 19 <i>Notch</i> mutants had defects in both lateral inhibition and inductive Notch signaling, showing context dependency.</p> <p>Of these 10 mutants, six accumulated Notch in the endoplasmic reticulum (ER), and these six were located in EGF-like repeats 8–10 or 25. Mutations with cysteine substitutions were not always coupled with ER accumulation. This suggests that certain EGF-like repeats may be particularly susceptible to structural perturbation, resulting in a misfolded and inactive Notch product that accumulates in the ER. Thus, I propose that these EGF-like repeats may be integral to Notch folding.</p> <p>Keywords: Notch; Notch signaling pathway; lateral inhibition; asymmetric cell division; protein folding; intracellular trafficking; endoplasmic reticulum; neurogenic phenotype; hindgut; <i>Drosophila</i></p>		

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (Hilman Nurmahdi)		
論文審査担当者	(職)	氏名
	主査 教授	松野 健治
	副査 教授	石原 直忠
	副査 招へい准教授 教授	小田 広樹
	副査 (国際医療福祉大学)	北川 元生

論文審査の結果の要旨

Notch シグナルは細胞間の直接的な接触を介して働き、細胞運命の決定や、恒常性の維持のための役割を担っている。Notch シグナルは多細胞生物において広く保存されており、その異常はヒトにおいてガンや心奇形など各種疾患の原因となることが明らかになっている。一回膜貫通型受容体である Notch は、その細胞外ドメインを介して、隣接する細胞の表面に提示されたリガンドと結合して活性化される。ショウジョウバエ Notch の細胞外ドメインには 36 の EGF (Epidermal Growth Factor) 様リピートが存在する。EGF 様リピートは、30 から 40 のアミノ酸残基からなり、6 つのシステイン残基などの共通した構造を有している。EGF 様リピートは、Notch 以外にも多数のタンパク質に存在し、他のタンパク質との結合部位として機能していることが多い。

Notch の 36 の EGF 様リピートは類似した一次構造をもつが、それぞれが機能的特異性を有することが明らかにされてきた。例えば、EGF 様リピート 11-12 (N 末から 11、12 番目) はリガンドとの結合部であるが、一方 EGF 様リピート 24-29 は Notch 活性を抑制する Abruptex 領域として知られている。しかし、36 の EGF 様リピートの機能的な特異性について、システムティックな解析は実施されてこなかった。しかし、最近、Notch の EGF 様リピートに一箇所のアミノ酸置換を起こす、異なる 18 種類の Notch 突然変異が単離されたことから、本博士論文において、それらの突然変異を用いて EGF 様リピートの機能的特異性を明らかにすることを目的とした研究が実施された。

Notch シグナルの機能は、側方抑制、誘導シグナル、非対称細胞分裂の 3 つのカテゴリーに分けられる。本研究で用いられた Notch 突然変異は、非対称細胞分裂の異常を指標として同定された。本研究では、これらの Notch 突然変異の側方抑制、誘導シグナルに対する影響が調べられ、非対称細胞分裂に対する影響と比較された。その結果、側方抑制、誘導シグナルに異常を示すのは、EGF 様リピート 8-10、25 にアミノ酸置換を誘発する突然変異に集中していた (18 のうち 9)。その他の Notch 突然変異は、非対称細胞分裂に異常を示すにも拘わらず、側方抑制、誘導シグナルには影響を与えない。したがって、EGF 様リピートにはコンテキストに依存した機能があり、これは、側方抑制と誘導シグナルで共通し、非対称細胞分裂では異なることが示唆された。また、各 Notch 突然変異における Notch シグナルの異常の原因を調べるために、Notch の細胞内局在の異常が調べられた。その結果、EGF 様リピート 8-10、25 にアミノ酸置換を誘発する突然変異では、Notch が小胞体に蓄積していた。この結果は、EGF 様リピート 8-10、25 が、Notch の折りたたみに重要であることを示唆している。これらの結果から、EGF 様リピート 8-10、25 が Notch の高次構造の形成に関与する可能性が議論された。

本研究によって、Notch に存在する 36 のそれぞれの EGF 様リピートは、Notch の折りたたみやや機能発現において、分子内の位置に特異的な機能を有している可能性が示唆された。現在、Notch の EGF 様リピート部の高次構造はよく理解されていない。このため、本研究は、Notch の高次構造と機能の関連を理解する上で先駆的なコンセプトを提唱しており、細胞生物学の発展に寄与するものと判断される。

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。