

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	骨格筋系列の細胞におけるキシロース含有糖鎖の生合成調節機構に関する研究				
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	骨格筋系列の細胞におけるキシロース含有糖鎖の生合成調節機構に関する研究
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。骨格筋は、ヒト生体内の最大組織であり、糖の取り込みや全身のエネルギー代謝において重要な役割を果たす。筋肉の幹細胞である衛星細胞の自己再生と分化は、Notch 受容体によって制御されている。申請者は、Notch 受容体上のキシロース伸長を受ける <i>O</i>-グルコース糖鎖修飾がその機能発揮に必要であることを示してきた [Cell 2008, Nature Chem Biol 2015, 2016, EMBO Mol Med 2016, PNAS 2018]。筋線維表面にはジストログリカン (DG) 糖タンパク質が発現し、その強度維持を担う。Notch も DG も <i>O</i>-結合型糖鎖修飾を受け、その非還元末端には、アルファ結合性のキシロースが存在する。これまでの研究により、糖鎖修飾が Notch や DG の機能発揮には必要であることが示されているが、糖転移反応の供与基質である UDP-キシロースによる制御機構が存在しているかは明らかとなっていない。本研究では、先端技術を駆使することによって、骨格筋細胞内 UDP-キシロースと細胞表面糖タンパク質の非還元末端キシロースを定量し、UDP-キシロースの同化経路とその調節機構を明らかにし、さらに、細胞表面糖タンパク質の非還元末端キシロースを切断するキシロシダーゼ活性を探索する。本研究は、生化学の教科書に記載されるべき、未解明のキシロース代謝に焦点を当てた芽生え期の研究計画である。</p> <p>研究成果 研究の第一段階として、<i>O</i>-グルコース糖鎖修飾キシロース伸長の解析に取り組み、次の成果を得た。野生型のヒト培養細胞 HEK293T 細胞、および、<i>O</i>-グルコース糖鎖のキシロース伸長を担うキシロース転移酵素 <i>GXYLT1</i> あるいは <i>GXYLT2</i> のノックアウト細胞において、MycHis タグを付加した形でマウス <i>Crumbs2</i> (CRB2) の細胞外ドメインを強制発現させ、培養上清中より Ni-NTA アガロースカラムにより精製した。質量分析計を用いて、糖鎖を解析した結果、CRB2 が <i>O</i>-グルコース糖鎖修飾を受けることが確認された。また、<i>GXYLT1</i> の欠損細胞では、CRB2 において、<i>O</i>-グルコース糖鎖のキシロース伸長の抑制が見られたが、<i>GXYLT2</i> の欠損細胞では、野生型とほぼ同様のキシロース伸長が検出された。さらに、<i>GXYLT1</i> によるキシロースの付加は、正常な CRB2 の細胞表面へのトラフィッキングに必要であることも実験的に明らかとなった。</p> <p>今後の展望 今後、Notch や CRB2 などにおける <i>O</i>-グルコース糖鎖や DG における <i>O</i>-マンノース糖鎖に含まれるキシロース修飾の代謝経路、生合成の調節機構を明らかにする。研究成果は、筋ジストロフィーなどの骨格筋の病態や様々なヒトの疾患の理解に役立つ。</p>