

小胞体における O 型糖鎖修飾は Notch 受容体の folding を促進する

O-glycosylation promotes Notch receptor folding in the ER

名古屋大学糖鎖生命コア研究所 岡島 徹也

タンパク質の翻訳後修飾の一つである糖鎖修飾は、タンパク質の発現と機能を制御するために必要不可欠である。糖鎖がタンパク質の機能を調整することの重要性を示す代表例が Notch 受容体である。これまでの研究で、Notch 受容体の細胞外領域に位置する上皮成長因子様 (EGF) ドメインの繰り返し構造を修飾する糖転移酵素が複数同定されている。個々の EGF ドメインには 6 個のシステイン残基が存在し、3 対のジスルフィド結合を形成する。EGF ドメインの Ser/Thr 残基を修飾する糖転移酵素は小胞体に局在するが、フォールドされていないポリペプチド鎖には酵素活性を示さず、正しくジスルフィド結合が形成された EGF ドメインを特異的に認識し糖修飾を触媒する。糖転移酵素遺伝子を利用した解析を通じて、小胞体における NOTCH 受容体のフォールディングなどの品質管理への関与が示唆されている。しかしながら、フォールディング完了後に作用する糖転移酵素が、どうして Notch 受容体のフォールディング自身に関与するのか、分子機構に関する十分な議論がなされていない。本研究では、複数存在する糖転移酵素に機能的な重複がある可能性を考慮し、3 種類の主要な糖転移酵素 (POFUT1/POGLUT1/EOGT) 全て欠損した 3 重欠損細胞を作成し、糖鎖異常 Notch 受容体の細胞内での運命を詳細に解析した。既報からの予想に沿って、3 重欠損細胞では糖鎖異常 Notch 受容体 (NOTCH1 や NOTCH3) の細胞表面発現が完全に消失し、代わって細胞内への蓄積が観察された。一般的に、異常タンパク質の小胞体内への蓄積は小胞体ストレスを誘導するが、糖鎖異常 Notch 受容体の蓄積は小胞体ストレス関連遺伝子の発現を誘導せず、小胞体ストレスを誘導するツニカマイシン処理も、Notch 受容体の発現量には、大きな影響を与えなかった。一方、3 重欠損細胞に還元剤を直接添加すると、蓄積した変異型 Notch 受容体がプロテアソーム経路を介して分解された。これらの結果から、還元剤による小胞体ストレスの誘導ではなく、糖鎖変異型 Notch 受容体への直接的な還元作用が、小胞体蓄積の抑制に必要であると示唆された。3 重欠損細胞には POGLUT2/3 が残存して、これらの酵素もフォールドされた EGF ドメイン特異的に O-グルコース修飾を付加する。現在、EGF ドメインのフォールディング状態を直接的にモニターするツールは存在しないため、POGLUT2/3 が少数の EGF ドメインに付加した O-グルコース量を指標にした。変異型 NOTCH3 には野生型と同様に、POGLUT2/3 依存的な O-グルコース修飾が検出された。しかしながら、非還元 SDS-PAGE において、高分子領域にスメア状のシグナルが観察され、凝集体の形成が示唆された。これらの結果は、糖鎖異常 NOTCH3 における限局的なジスルフィド結合の異常を示唆した。実際に、糖鎖異常 Notch 受容体において PDI ファミリー分子を含めたシャペロン分子との相互作用が増加した。以上より、Notch 受容体の O 型糖鎖修飾は、連続的に配置された多数の EGF ドメインのジスルフィド結合の形成を効率化することで、フォールディングの異常から防御する役割があると考えられた。

【参考文献】

- Ogawa M et al. Contribution of extracellular O-GlcNAc to the stability of folded epidermal growth factor-like domains and Notch1 trafficking. *Biochem Biophys Res Commun.* 526:184-190. (2020)
- Matsumoto K, Luther KB, Haltiwanger RS. Diseases related to Notch glycosylation. *Mol. Aspects. Med.* 79:100938. (2020)
- 田嶋 優子, 岡島 徹也. 細胞外 O-GlcNAc の構造と機能 *生化学*92: 833-837 (2020)