

36 NOTCH糖鎖修飾による白血病細胞の増殖制御機構の解明 竹内 英之

【目的】 Notch シグナルの破綻が多くの種類の癌の発生、悪性度の進展、そして、転移に関わっている。急性骨髄性白血病 (AML) においては、*NOTCH1* の不活性化が細胞増殖を促進する。AML では Notch リガンドも *NOTCH1* 受容体も発現しているにもかかわらず、*NOTCH1* 受容体は不活性化しており、その機序は不明である。著者らは、Notch の細胞外部位における糖鎖修飾が、その活性化に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。本研究では、AML の細胞増殖の亢進は、キシロース伸長の亢進によって *NOTCH1* の分子内相互作用が阻害されることによる *NOTCH1* の不活性化に起因するという仮説を立て、研究に取り組んだ。

【方法】 HL-60 細胞からゲノム DNA を抽出し、*GXYLT1* の当該領域を PCR により増幅、ベクターにクローニングしてシーケンス解析を行った。HEK293T 細胞と HL-60 細胞における *GXYLT1* および *GXYLT2* の遺伝子発現レベルを RT-qPCR 法により解析した。*O*-グルコース糖鎖のキシロースによる伸長の影響を解析するために、ヒト *NOTCH1* の EGF8-13 に相当する組換えタンパク質を作製した。キシロース転移酵素阻害剤探索のための受容基質 *NOTCH2*EGF12 を大腸菌発現系にて作製し、さらに、*in vitro* *O*-glucosylation 法を用いて、酵素学的に *O*-グルコース単糖を付加した。

【結果】 HL-60 細胞における *GXYLT1* のナンセンス変異 (R295\*) は、ヘテロ変異であることが強く示唆された。*GXYLT1* および *GXYLT2*、いずれの遺伝子も、HL-60 細胞において発現していること、そして、HEK293T 細胞における発現レベルに比べて、低いことが分かった。今後の相互作用解析に用いる *NOTCH1*EGF8-13 タンパク質を作製可能であることが分かった。精製度の高い *O*-グルコース単糖の付加された EGF 受容基質を作製することに成功した。

NOTCH 受容体糖鎖修飾と生合成の関わる糖転移酵素

