

別紙 1-1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 Sayad Md. Didarul Alam

論 文 題 目

*N*glycans on EGF domain-specific *O*-GlcNAc transferase (EOGT) facilitate EOGT maturation and peripheral endoplasmic reticulum localization


(EGF ドメイン特異的 *O*-GlcNAc トランスフェラーゼ (EOGT) 上の *N*-グリカンは EOGT の成熟と小胞体辺縁への局在化を促進する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員


門松健治

門松健治 

名古屋大学教授

委員

和氣弘明

和氣弘明 

名古屋大学教授

委員

石井晃

石井晃 

名古屋大学教授

指導教授

岡島徹也

岡島徹也 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

今回、マウス Eogt のすべての N 型糖鎖修飾部位における、詳細な N 型糖鎖の構造、およびマウス Eogt の発現、局在、酵素機能への影響や、共焦点顕微鏡を用いて、細胞内の Eogt の細胞内局在を調べた。つぎに質量分析により、Eogt の N 型糖鎖構造、また Notch1 の O-GlcNAc 糖鎖修飾を解析した。また、マウス Eogt の N 型糖鎖付加部位を特定し、オリゴマンノース型糖鎖で修飾される 2 つの N 型糖鎖修飾部位 (N263 および N354) の機能を調べた。両方の N 型糖鎖修飾部位の同時変異は、*in vitro* 酵素活性の明らかな変化なしに、タンパク質の発現レベルの増加、成熟化、小胞体局在に影響を与えた。また N263Q / N354Q 変異体 Eogt と同時発現する Notch1 において、野生型 Eogt と比較して、O-GlcNAc 糖鎖修飾量の減少が観察された。これらの結果は、N 型糖鎖は、酵素レベルの維持だけでなく、小胞体における Eogt の適切な細胞内局在化による O-GlcNAc 転移反応の維持に重要な役割をもつことが示唆された。

(1) N 型糖鎖修飾は、タンパク質のフォールディングの促進、そして、溶解性と安定性を高めることが知られている。精製した Eogt から N 型糖鎖を除いた場合、タンパク質の溶解性や安定性に影響はなかった。一方で、N 型糖鎖修飾部位を持たない変異型 Eogt を発現させた場合、凝集体の形成が認められた。したがって、Eogt の N 型糖鎖は、成熟したタンパク質の溶解性や安定性に関わるのではなく、成熟過程のフォールディングの促進に寄与することが明らかになった。

(2) N 型糖鎖修飾部位を持たない変異型 Eogt が小胞体の核周囲部に蓄積し、辺縁部への局在の割合が低下することから、N 型糖鎖自体または N 型糖鎖依存的なタンパク質構造が、EOGT の小胞体核周辺部から辺縁部への拡散を促進することが考えられた。

(3) Notch シグナルの異常は、様々な腫瘍の原因となることが報告されている。一方で、Eogt の N 型糖鎖修飾部位の変異も、いくつか腫瘍において報告されている。Eogt の 2 つの N 型糖鎖付加部位の中で、片方の異常のみでは酵素機能の変化に統計的な有意差はなかったが、タンパク質発現量が若干、減少する傾向が認められた。Eogt はリガンド依存的に Notch シグナルを活性化するため、Eogt の N 型糖鎖の減少は Notch シグナルの減弱に起因する腫瘍化に関与する可能性が考えられた。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	Sayad Md. Didarul Alam
試験担当者	主査 門松健治 副査 ₂ 石井晃		副査 ₁ 和氣弘明 指導教授 岡島徹也	
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. EOGT の成熟化における N 型糖鎖の役割 2. EOGT の小胞体周辺部への局在化における N 型糖鎖の役割 3. EOGT の N 型糖鎖と腫瘍との関連性 <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、分子細胞化学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した</p>				