

2021 年度「地神芳文記念研究助成」

成果報告要旨

研究題目： 神経分化にともなう糖脂質 GPI の糖鎖構造変化の意義の解明

研究者： 平田哲也

所属： Department of Biochemistry, School of Medicine, Duke University

グリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) アンカーは糖脂質によるタンパク質の翻訳後修飾であり、真核生物に広く保存され存在する。GPI アンカー型タンパク質 (GPI-APs) は、小胞体内腔でタンパク質に GPI が付加されることで合成され、細胞表面に発現する。GPI はホスファチジルイノシトールの脂質部位と、グルコサミン、三つのマンノース、二つのエタノールアミンリン酸から成る糖鎖部位をコア構造とし、哺乳動物細胞の糖鎖部位にはさらに、N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) – ガラクトース (Gal) – シアル酸 (Sia) の三糖から成る側鎖がゴルジ体で付加される場合がある。GPI-APs は初期発生や神経形成などの生物学的現象に不可欠な分子であり、GPI コア構造の生合成遺伝子の変異により、てんかんや知的障害などの神経疾患を主症状とする先天性 GPI 欠損症を発症することが多数例報告されている。一方、GPI 側鎖の生理的意義はほとんど明らかにされていない。私は最近、GPI 側鎖生合成の最初を担う GalNAc 転移酵素である PGAP4 を同定し、GPI 側鎖の機能解明につながる足掛かりを得た。本研究では、GPI 側鎖の生理的意義を、特に PGAP4 の発現が高い神経細胞に着目して明らかにすることを目的とした。

初めに、PGAP4 のノックアウト (KO) マウスを作製した。その結果、PGAP4-KO マウスでは血中のアルカリホスファターゼ値の増加に伴う骨形成の異常が見られた。また、行動解析の結果、PGAP4-KO マウスは活動性の低下や短期記憶の低下が見られた。さらに、PGAP4-KO マウスは、神経変性疾患の一種であるプリオン病の進行が亢進することも見出した。これらの結果から、PGAP4 が様々な生理機能を担うことが明らかとなり、特に神経系で重要な機能を担うことが示唆された。そこで次に、神経分化と GPI 側鎖の関係性を調べた。マウス神経芽腫細胞株 Neuro2A 細胞は、レチノイン酸刺激により神経様の突起を伸ばした状態に分化する。分化前後の Neuro2A 細胞の GPI 側鎖構造を調べたところ、神経分化後に GPI 側鎖が伸長する可能性が示唆された。今後、GPI 側鎖の構造変化をもたらす詳細な分子メカニズムの解明に着手する予定である。

2021 年度「地神芳文記念研究助成」

成果報告要旨

研究題目： 次世代シーケンサー技術を利用した TOR シグナル伝達経路の新規
関連因子の探索

研究者： 大坪 瑤子

所属： 核融合科学研究所・基礎生物学研究所

TOR キナーゼは、酵母からヒトまで真核生物に広く保存されたタンパク質リン酸化酵素であり、細胞が環境変化に応答して、成長、増殖を制御する過程で中心的な役割を担っていることが知られている。分裂酵母は、培地中の窒素源が枯渇して栄養飢餓状態になると、細胞周期を G1 期で停止し、有性生殖過程へと移行する。これまでの解析から、分裂酵母が窒素源飢餓を感知し、有性生殖過程へ移行する制御機構に、TOR キナーゼ経路が大きく関与していることがわかっている。分裂酵母の TOR キナーゼに関連する研究は多数報告されているが、TOR キナーゼを中心とするシグナル伝達経路は、増殖に関わる様々な調節機構に関わっているため非常に複雑であり、未だその全貌は明らかになっていない。

分裂酵母には 2 種類の TOR キナーゼ、Tor1 と Tor2 が存在する。Tor1 は TORC2 複合体を、Tor2 は TORC1 複合体を形成し、有性生殖開始に対しては対照的な働きをしている。*tor1* 破壊株は栄養源が枯渇しても G1 期停止できず、有性生殖不能である。一方、Tor2 は生育に必須である。*tor2* 変異株で Tor2 の機能を失わせると、富栄養条件下でも細胞周期を G1 期で停止し、有性生殖を開始することが示されている。我々は、これまでに、*tor2* 変異株を複数作製してきた。これらの変異株を使って解析を進める中で、変異株の中に、復帰変異が出現しやすいものが存在することを見出した。そこで本研究では、*tor2* 変異の復帰変異株を網羅的に単離し、全ゲノムシーケンス解析を行って変異部位を同定することを試みた。同定した復帰変異のほとんどは *tor2* 自身に変異が入っていたが、今回新たに、翻訳関連因子をコードする遺伝子の変異によって *tor2* 変異が抑圧されることがわかった。また、並行して、*tor1* 破壊株の復帰変異の解析も進めた。*tor1* 破壊株は、復帰変異が非常に入りやすいことが以前からわかっていた。どのような変異が入っているのか全ゲノムシーケンス解析によって調べた結果、複数の変異が入っていることが確認できた。現在、どの変異が *tor1* 破壊株の原因となっているか調べている。