

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：23803

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2019～2022

課題番号：19KK0195

研究課題名（和文）Notch シグナルにおける O-グルコース糖鎖修飾の構造多様性の意義

研究課題名（英文）Significance of structural diversity of O-glucose glycans in Notch signaling

研究代表者

竹内 英之（Takeuchi, Hideyuki）

静岡県立大学・薬学部・教授

研究者番号：80361608

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,200,000 円

研究成果の概要（和文）：研究代表者は、日本、中国、米国の研究者と共に、Notch受容体のO-グルコース糖鎖修飾が、その機能発揮に必須であることを世界に先駆けて報告してきた（Cell 2008, Nature Chemical Biology 2015, 2016, EMBO Mol Med 2016）。本国際共同研究では、生化学、遺伝学、分析化学、構造生物学の専門的手法を糾合し、O-グルコース糖鎖修飾の構造には従来報告のなかった伸長構造が存在することを見出し、そして、そのNotchシグナル調節における機能的な重要性と生合成に関わる糖転移酵素を世界で初めて明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、多細胞生物において、さまざまな細胞の運命決定を担うNotch細胞間シグナル伝達の新しい糖鎖修飾による制御メカニズムを明らかにした。また、化学的および生物化学的手法を用いた多面的な解析により、新奇糖鎖修飾の構造と生合成を担う糖転移酵素を同定した。本研究の成果は、哺乳類の発生メカニズムに関する理解を深めるだけでなく、癌や、最近、注目を集めている統合失調症や非アルコール性肝疾患など、Notchシグナルの異常に起因する病態の診断、治療、予防法の開発に大きく貢献する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Together with researchers from Japan, China, and the United States, the Principal Investigator has led the research field in reporting that O-glucose glycosylation of the Notch receptor is essential for its functional performance (Cell 2008, Nature Chemical Biology 2015, 2016, EMBO Mol Med 2016). In this international collaborative study, by taking advantage of the expertise of biochemistry, genetics, analytical chemistry, and structural biology, we discovered the previously unreported elongated structure of the O-glucose glycosylation at specific EGF repeats in the Notch receptors, and revealed its functional importance in the fine-tuning of Notch signaling and the glycosyltransferases involved in its biosynthesis for the first time in the world.

研究分野：糖鎖生物学

キーワード：糖鎖 O-グルコース糖鎖修飾 糖転移酵素 Notchシグナル

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Notch シグナルは、発生、成人幹細胞の機能に重要な情報伝達経路である。この経路で中心的な役割を果たす Notch 受容体の機能は糖鎖修飾によって制御される。既によく研究されている *O*-フコース糖鎖修飾は必須で、Fringe による二糖目 GlcNAc の付加はリガンド選択性を制御する。一方、*O*-グルコース糖鎖修飾も Notch シグナルに必須であるが、その伸長の意義については不明な点が多い。二糖目キシロースの付加を担う糖転移酵素として、CAZY GT8 ファミリーに属する GXylT1、GXylT2 が同定されている。研究代表者は、*GxyIt1* KO マウスは胎生致死になること、また、*O*-グルコース糖鎖の伸長構造にはこれまでに報告のない新たな糖鎖構造が存在するという予備的知見を得た。この新奇糖鎖の生合成を GT8 ファミリーに属する GLT8D1 および GLT8D2 という新たな疾患関連因子が担っている可能性がある。以上のことから、本研究では、*O*-グルコース糖鎖伸長の生物学的重要性和その生合成の化学的構造基盤を明らかにすることを本学術研究の核心的な「問い」とした。

2. 研究の目的

研究代表者の率いる本国際共同研究チームは、生命科学における *O*-グルコース糖鎖修飾の重要性を先駆的に明らかにしてきた。主な発見は、*O*-グルコース糖鎖修飾が Notch シグナルに必須の翻訳後修飾であること [Acar*, Jafar-Nejad*, Takeuchi*, *et al.* Cell 2008 (*: Co-first)], その修飾レベルの低下が、ヒトでは筋ジストロフィーの発症原因となること [Servíán-Morilla*, Takeuchi*, Lee*, *et al.* EMBO Mol Med 2016 (*: Co-first)], そして、既知の *O*-グルコース糖鎖修飾反応の開始と終結の分子機構を原子レベルで明らかにしたことである [Yu and Takeuchi, Curr Opin Struct Biol 2019].

O-フコース糖鎖修飾の二糖目の GlcNAc の付加を担う糖転移酵素フリンジは、Notch シグナルの活性化においてリガンドの使い分けに重要であることは以前から知られている [Moloney, *et al.* Nature 2000]. 我々の予備的知見から、*O*-フコース糖鎖のフリンジ依存的な糖鎖修飾とは異なるメカニズムで、*O*-グルコース糖鎖修飾の二糖目の付加も Notch シグナルの活性化を制御している可能性が高いと考えられる。

約 30 年前に血液凝固因子上に見出された *O*-グルコース糖鎖修飾は、*O*-グルコース-キシロース-キシロースの直鎖三糖構造であったが、研究代表者は、質量分析を用いた最近の解析により、Notch 上には、根元の *O*-グルコースは共通であるが、その後の糖鎖構造が既知のものとは異なる、複数の、新たな糖鎖構造が生じることを強く示唆する予備的知見を得ている。これらの新奇糖鎖構造を決定すること、さらに、それらの生合成を担う糖転移酵素を決定できれば、これまでに知られていなかった Notch シグナルの制御機構の存在を解明する端緒となる可能性が高い。

既知の糖転移酵素に加えて、Notch 上の新奇糖鎖構造の生合成を担う糖転移酵素の新たな候補遺伝子に関する解析にも本研究で挑戦する。これらの遺伝子は、既に統合失調症や非アルコール性肝疾患に關与することが示されている [Cooper-Knock, *et al.* Cell Rep 2019, Yang, *et al.* Nat Commun 2018, Zhan, *et al.* Lipids Health Dis 2015]. 研究代表者の仮説が正しく、もしも、本研究で明らかにする Notch 上の新奇糖鎖構造が、これらの糖転移酵素によって生合成されているならば、統合失調症あるいは非アルコール性肝疾患は、Notch 受容体の非常に特異的な部位の、極めて特徴的な糖鎖構造の合成不全が原因で引き起こされることを初めて証明することになる。統合失調症あるいは非アルコール性肝疾患は、世界中で患者数が増加している疾患であり、本研究の成果は学術的新規性だけでなく、社会的重要性も非常に高い。

3. 研究の方法

課題 1: GT8 ファミリー糖転移酵素群の個体・細胞レベルでの機能解析 (研究代表者とペイラー医科大学 Jafar-Nejad 博士が担当。)

GxyIt1, *GxyIt2* ノックアウトマウスの胚発生における Notch シグナルの解析 *O*-グルコース糖転移酵素 *Poglut1* のノックアウトでは、Notch シグナルに依存的な体節形成、神経発生、心形成と血管のリモデリング過程すべてにおいて異常がみられたので、*GxyIt1* ノックアウトマウスでも、これらの過程に異常を来しているか調べるために、胚の免疫組織化学的観察を本研究チームの既報通り行う [Fernandez-Valdivia, Takeuchi, *et al.* 2011 Development]. 対照として、胎生致死の表現型を示さない *GxyIt2* KO マウスの胚も解析する。

GLT8D1 と GLT8D2 の培養細胞におけるノックアウト実験 HEK293T を含む、種々の細胞株を用いて遺伝子欠損株を作製し、これらの遺伝子が Notch2 上の新奇糖鎖の生合成と Notch シグナル活性化に關与しているか、既報通り解析する [Fernandez-Valdivia, Takeuchi, *et al.* 2011 Development, Takeuchi, *et al.* 2017 J Biol Chem, Takeuchi, *et al.* 2018 PNAS].

課題 2: Notch2 上に見出された多様な新奇 *O*-結合型糖鎖構造の性状解析と、その生合成を担う糖転移酵素の同定 (研究代表者とジョージア大学 Tiemeyer 博士が担当。)

HEK293T 細胞由来の Notch2 の EGF33 に見出された新奇 *O*-結合型糖鎖の性状解析 Notch2 の質量分析で、グルコース-ガラクトース (GG) 型と、従来から知られているグルコース-キシロース (GX)

型の両方で修飾されているペプチドは検出されていないことから、両者は、同一の *O*-グルコース単糖に付加した異なる伸長体である可能性が高い。課題 2 では、HEK293T 細胞に発現させた Notch2 の EGF33 を含む糖ペプチドを対象として GG 型糖鎖の付加位置と構造を決定し、生合成の責任酵素を同定する。付加位置については、次の 2 通りの解析を行う。(1) 質量分析計を用いた ETD (Electron Transfer Dissociation) 法による解析。従来の High Energy Collision Dissociation (HCD) 法では、糖とペプチドとの結合は、ペプチド結合よりも弱く、MS/MS 時に糖の解離が先に起こるため、糖鎖の付加したアミノ酸の決定は困難であった。ETD 方法では、糖をペプチドから解離させずに、糖を含むペプチド断片が検出できるため、糖鎖の付加したアミノ酸の決定が可能となる。(2) 部位特異的変異導入。*O*-グルコース修飾部位であるセリン 1670 をアラニンに置換する。研究代表者の仮説が正しければ、GG 型と GX 型の両方が消失するはずである。

さらに、多面的な手法を用いて、GG 型糖鎖構造の完全解明を試みる。予備的実験において、シアル酸特異的なオキシニウムイオンおよびヘキソース-ヘキソースのニュートラルロスを検出したことから、GG 型三糖構造はシアル酸-ガラクトース-グルコースであることが推測された。精製、濃縮した EGF33 由来の糖ペプチドを加水分解し、DIONEX HPLC による構成糖分析を行うとともに、部分メチル化アルジトールアセテート法を用いて糖鎖の結合様式を GC/MS で決定する。一方、メチル化糖鎖は Li イオン存在下で糖鎖結合特異的なフラグメントイオンを環開裂により生成する。beta 脱離で糖ペプチドから遊離させた糖鎖を完全メチル化し、Li イオン存在下で direct infusion 法を用いた質量分析を行う。糖鎖のアノマーについてはエキソグリコシダーゼおよび ¹H-NMR によって同定を試みる。

新奇 GG 型糖鎖修飾を担う糖転移酵素遺伝子の同定 上で決定した糖鎖構造に基づいて、その基質特異性から生合成を担う糖転移酵素遺伝子を推定する。コペンハーゲン大学で Henrik Clausen 博士らにより作製されている糖転移酵素遺伝子欠損 HEK293T 細胞株を入手し、それらの細胞において Notch2 を発現させ、質量分析により GG 型糖鎖修飾が消失するか調べる。消失が確認できたら、野生型遺伝子の過剰発現による救済実験を行い、特異性を確かめる。

課題 3: GT8 ファミリー糖転移酵素群の原子レベルでの機能解析 (研究代表者と、ジョージア大学 Haltiwanger 博士および Yu 博士が担当。)

GXYLT1 による *O*-グルコース単糖へのキシロース付加機構の構造基盤 第一に、GXYLT1 と受容基質との複合体の立体構造を X 線結晶構造解析により明らかにする。*O*-グルコース単糖へのキシロース付加を担うキシロース転移酵素は GXYLT1 と GXYLT2 の 2 種類存在するが、上述の通り、GXYLT1 はマウスの発生に必須であること、また、Haltiwanger 博士による予備的検討から GXYLT1 の方が GXYLT2 よりも、リコンビナントタンパク質の収量が数倍高いこと、研究期間も限られていることから、GXYLT1 に標的を絞る。第二に、供与基質やその類似体を結晶に添加することによって、結合様式保持型の GXYLT1 がキシロース残基を付加する触媒機構を構造生物学的視点から分析する。本チームは、既に *O*-グルコース糖鎖修飾の開始を担う POGlut1 と終結を担う XXylt1 の構造解析を通じた反応機構の解析に成功しており [Yu, Takeuchi (corresponding), *et al.* 2015 Nat Chem Biol, Yu*, Takeuchi*, *et al.* 2016 Nat Chem Biol]、本実験を遂行する上で大きな技術的困難は想定されない。第三に、一連の構造解析から酵素反応に重要であることが示唆された GXYLT1 中のアミノ酸をアラニン残基などに置換することにより、酵素活性が消失 (あるいは減少) するか調べる。また、それらの残基が GXYLT2 に保存されている場合には、GXYLT2 においても同様の変異体を作製し、酵素活性を調べる。仮に、1.5 年ほどを超えても結晶化およびその後の構造解析が難航した場合には、XXylt1 と受容基質の複合体の構造を使用して分子モデリング法により得た GXYLT1 と受容基質の複合体の推定構造を基に、変異体作製実験を行う。

GLT8D1 および GLT8D2 の糖転移酵素活性の解析 GLT8D1 および GLT8D2 の cDNA を発現ベクターに組み込み、HEK293T 細胞にて、リコンビナントタンパク質を作製し、酵素活性を示すか調べる。まずは、GLT8D1 および GLT8D2 の供与基質特異性を調べるために、受容基質非存在下、各種糖ヌクレオチドを反応系に添加し、これらの加水分解産物である UDP あるいは GDP を、研究代表者の既報と同様に検出する。課題 1 と 2 から、GLT8D1 あるいは GLT8D2 が、Notch の EGF 上の *O*-グルコース単糖を修飾することが判明した場合には、当該 EGF リピートタンパク質を作製し、*O*-グルコース単糖を酵素的に付加後、上で明らかになった供与基質と GLT8D1 あるいは GLT8D2 との酵素反応を行う。反応産物は、既報通り、逆相 HPLC と質量分析計を用いて解析する [Takeuchi *et al.* 2017 J Biol Chem]。

4. 研究成果

課題 1: GT8 ファミリー糖転移酵素群の個体・細胞レベルでの機能解析 (研究代表者とベイラー医科大学 Jafar-Nejad 博士が担当。)

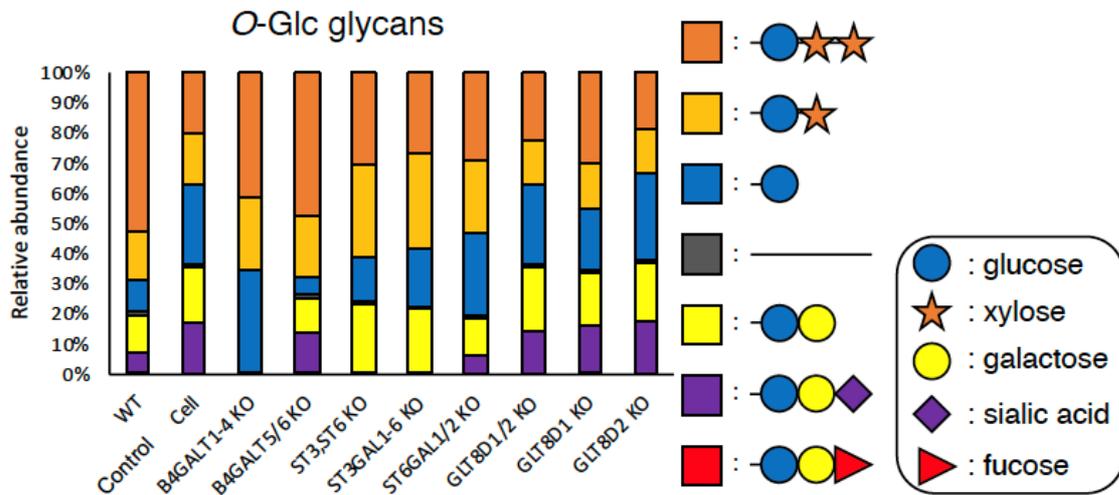
Gxylt1、Gxylt2 ノックアウトマウスの胚発生における Notch シグナルの解析

ベイラー医科大学 Jafar-Nejad 博士による解析で、Gxylt1 のノックアウトマウスは、耐性致死の表現型を示すのに対し、Gxylt2 のノックアウトマウスは、胎生致死とならないことが明らかとなった。また、興味深いことに、Gxylt1 の表現型は、Poglut1 のノックアウトマウスよりも、ややマイルドな表現型であった。

GLT8D1 と GLT8D2 の培養細胞におけるノックアウト実験

HEK293 細胞において、GLT8D1 と GLT8D2 のノックアウト細胞をゲノム編集技術により作出した。そ

して、それらの細胞において、Notch タンパク質の細胞外部位を発現させ、質量分析により、新奇糖鎖構造の有無を解析した。その結果、下図の通り、*GLT8D1* と *GLT8D2* の遺伝子欠損では、Notch 上に見出された新奇糖鎖構造に変化は見られないことが判明した。このことは、*GLT8D1* と *GLT8D2* は、新奇糖鎖構造の生合成に必要なではないことを強く示唆している。

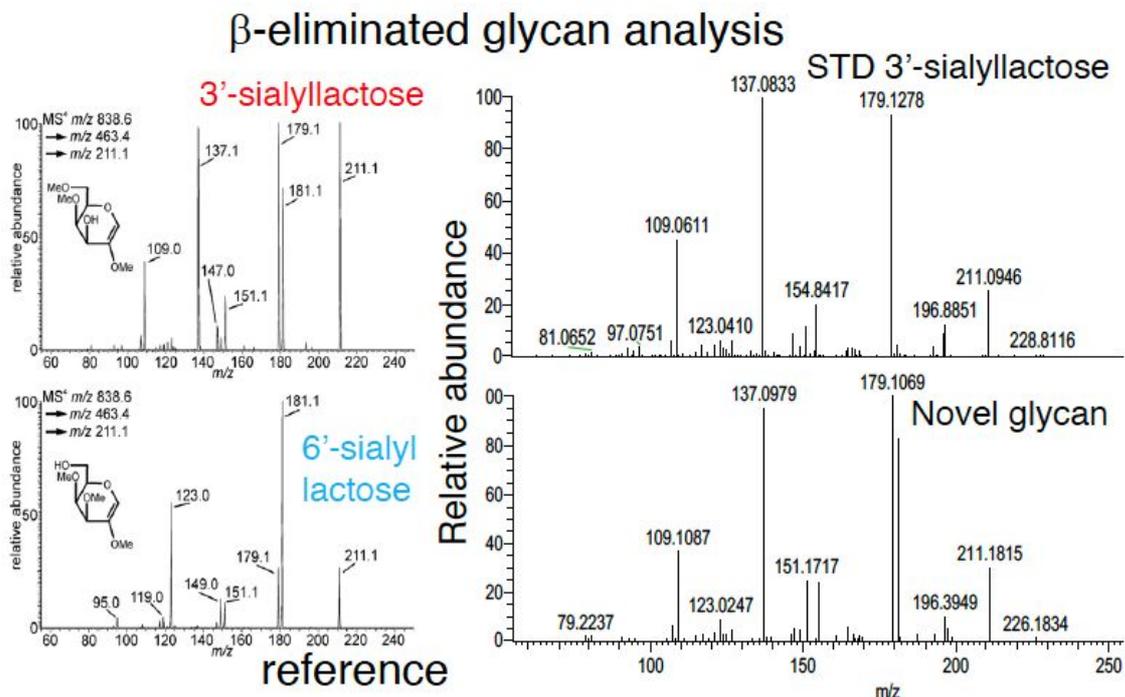


課題 2: Notch2 上に見出された多様な新奇 *O*-結合型糖鎖構造の性状解析と、その生合成を担う糖転移酵素の同定 (研究代表者とジョージア大学 Tiemeyer 博士が担当。)

HEK293T 細胞由来の Notch2 の EGF33 に見出された新奇 *O*-結合型糖鎖の性状解析

新奇 *O*-結合型糖鎖を含む糖ペプチドを対象として GG 型糖鎖の付加位置と構造を決定し、生合成の責任酵素を同定する。付加位置については、次の 2 通りの解析を行う予定であったが、一目の質量分析計を用いた ETD (Electron Transfer Dissociation) 法による解析は、技術的な問題により、期待するデータが得られなかった。よって、ここでは、部位特異的変異導入により、新奇 *O*-結合型糖鎖の消失を確認した。

さらに、ジョージア大学 Tiemeyer 博士が、新奇 *O*-結合型糖鎖の化学的手法を用いた構造解析を行った。すなわち、beta 脱離で糖ペプチドから遊離させた糖鎖を完全メチル化し、Li イオン存在下で direct infusion 法を用いた質量分析を行った。分析結果を下に示した。標品のフラグメンテーションパターンとの比較により、本研究で見出された新奇 *O*-結合型糖鎖 (図中 Novel glycan) は、3'-sialyllactose 構造 (Siaalpha2-3Galbeta1-4Glc) であることが示された。



新奇 GG 型糖鎖修飾を担う糖転移酵素遺伝子の同定

課題 1 の結果の項で示した通り、B4Gal 転移酵素および ST3Gal 転移酵素が、この新奇 GG 型糖鎖の生合成には必要であることが明らかとなった。このことは、上の糖鎖構造の解析結果と全く矛盾せず、互いのデータを補完するものである。

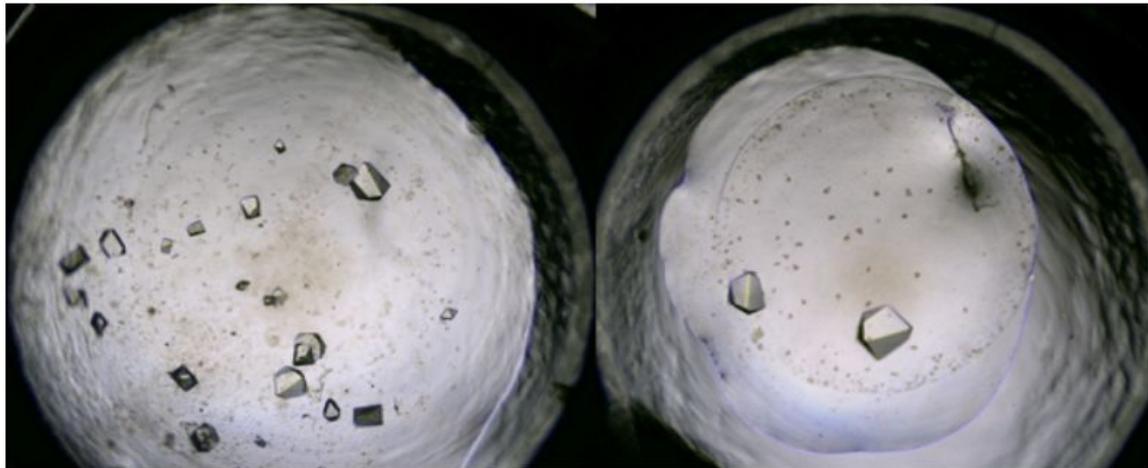
課題 3: GT8 ファミリー糖転移酵素群の原子レベルでの機能解析 (研究代表者と、ジョージア大学 Haltiwanger 博士および華中科技大学 Yu 博士が担当。)

GXYLT1 による O-グルコース単糖へのキシロース付加機構の構造基盤

GXYLT1 と受容基質との複合体の立体構造を X 線結晶構造解析により明らかにすることを目標にし、リコンビナント GXYLT1 タンパク質を HEK293T 細胞において発現させ、精製した。そして、受容基質としては、ヒト凝固因子 IX (hFA9)由来の EGF ドメインタンパク質を大腸菌発現系において作製した。Ni-NTA アフィニティークロマトグラフィーにて精製後、さらに逆相 HPLC にて、正しく折り畳まれたフォールディングアイソマーを精製した。そして、精製 POGLUT1 タンパク質を酵素源、UDP-glucose を供与基質として、hFA9 EGF ドメインタンパク質への O-グルコースの付加反応を行った。反応産物を再度、逆相 HPLC に供し、糖付加反応後に保持時間の变化したピークを分取した。このピークに含まれる hFA9 EGF ドメインタンパク質を質量分析計で分析することにより、O-グルコースの付加が起こったことを確認した。作製したリコンビナント GXYLT1 タンパク質を酵素源、O-グルコース単糖で修飾された hFA9 EGF ドメインタンパク質を受容基質、そして、放射標識された UDP-キシロースを混合し、一定時間反応後、反応産物を C18 逆相カートリッジカラムに供し、洗浄後、カラムに結合した hFA9 EGF ドメインタンパク質を溶出し、その放射活性を測定した。その結果、キシロース転移反応が進行したことが確かめられた。

本実験で発現させたマウスの GXYLT1 には、N 型糖鎖修飾付加のコンセンサス配列が 4 ヶ所存在する。一般に N 型糖鎖修飾によりタンパク質の構造的不均一性が増加すると、結晶化の妨げになる可能性が高くなることが知られている。そこで、GXYLT1 のグリコシダーゼによる消化と、その酵素活性に対する影響を観察した。ここでは、ほぼ全ての N 型糖鎖修飾構造を除去することが可能な PNGase F グリコシダーゼを用いた。PNGase F 処理後には、処理前に比べて、電気泳動上の移動度が増加し、GXYLT1 が N 型糖鎖修飾を受けていることが判明した。酵素活性を測定すると、キシロース転移酵素活性が、PNGase F 処理後にやや低下する傾向が見られたが、依然として活性を保持していることが明らかとなった。GXYLT1 の活性調節に、GXYLT1 自身の N 型糖鎖修飾が関与しているかもしれない。以上の実験は、ジョージア大学の Haltiwanger 博士が遂行した。

次に、これらのリコンビナント GXYLT1 タンパク質と O-グルコースの付加された hFA9 EGF ドメインタンパク質が、華中科技大学へ送付され、Yu 博士が結晶化に取り組んだ。その結果、GXYLT1 と受容基質との複合体の結晶化に成功した。現在、この得られた結晶を用いた構造解析を実施している。



Crystals of GXYLT1 In complex with O-glucosylated hFA9 EGF repeat

GLT8D1 および GLT8D2 の糖転移酵素活性の解析

当初の予定では、これらのタンパク質の糖転移酵素活性を測定する予定であったが、HEK293T 細胞において、これらのタンパク質を発現させた時の収量が著しく低いこと、また、課題 1 の実験結果から、GLT8D1 および GLT8D2 は Notch 上の新奇 GG 型糖鎖の生合成に関与している可能性は低いと考えられたため、糖転移酵素活性の性状解析は行わないこととした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Tsukamoto Yohei, Ogawa Mitsutaka, Yogi Kentarou, Tashima Yuko, Takeuchi Hideyuki, Okajima Tetsuya	4. 巻 N/A
2. 論文標題 Glycoproteomics of NOTCH1 EGF repeat fragments overexpressed with different glycosyltransferases in HEK293T cells reveals insights into O-GlcNAcylation of NOTCH1	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Glycobiology	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/glycob/cwac015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Piniello Beatriz, Lira-Navarrete Erandi, Takeuchi Hideyuki, Takeuchi Megumi, Haltiwanger Robert S., Hurtado-Guerrero Ramon, Rovira Carme	4. 巻 11
2. 論文標題 Asparagine Tautomerization in Glycosyltransferase Catalysis. The Molecular Mechanism of Protein O-Fucosyltransferase 1	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Catalysis	6. 最初と最後の頁 9926 ~ 9932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscatal.1c01785	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Barua Rashu, Mizuno Kazuyuki, Tashima Yuko, Ogawa Mitsutaka, Takeuchi Hideyuki, Taguchi Ayumu, Okajima Tetsuya	4. 巻 26
2. 論文標題 Bioinformatics and Functional Analyses Implicate Potential Roles for EOGT and L-fringe in Pancreatic Cancers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 882 ~ 882
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules26040882	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tsukamoto Yohei, Takeuchi Hideyuki	4. 巻 1325
2. 論文標題 Other Types of Glycosylation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Adv Exp Med Biol	6. 最初と最後の頁 117 ~ 135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-70115-4_5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saiki Wataru, Ma Chenyu, Okajima Tetsuya, Takeuchi Hideyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Current Views on the Roles of O-Glycosylation in Controlling Notch-Ligand Interactions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 309 ~ 309
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom11020309	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Barua Rashu, Mizuno Kazuyuki, Tashima Yuko, Ogawa Mitsutaka, Takeuchi Hideyuki, Taguchi Ayumu, Okajima Tetsuya	4. 巻 26
2. 論文標題 Bioinformatics and Functional Analyses Implicate Potential Roles for EOGT and L-fringe in Pancreatic Cancers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 882 ~ 882
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules26040882	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ma Chenyu, Takeuchi Hideyuki, Hao Huilin, Yonekawa Chizuko, Nakajima Kazuki, Nagae Masamichi, Okajima Tetsuya, Haltiwanger Robert S., Kizuka Yasuhiko	4. 巻 21
2. 論文標題 Differential Labeling of Glycoproteins with Alkynyl Fucose Analogs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6007 ~ 6007
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21176007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Urata Yusuke, Saiki Wataru, Tsukamoto Yohei, Sago Hiroaki, Hibi Hideharu, Okajima Tetsuya, Takeuchi Hideyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Xylosyl Extension of O-Glucose Glycans on the Extracellular Domain of NOTCH1 and NOTCH2 Regulates Notch Cell Surface Trafficking	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1220 ~ 1220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9051220	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Alam Sayad Md. Didarul, Tsukamoto Yohei, Ogawa Mitsutaka, Senoo Yuya, Ikeda Kazutaka, Tashima Yuko, Takeuchi Hideyuki, Okajima Tetsuya	4. 巻 295
2. 論文標題 N-Glycans on EGF domain-specific O-GlcNAc transferase (EOGT) facilitate EOGT maturation and peripheral endoplasmic reticulum localization	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 8560 ~ 8574
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.012280	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa M, Tashima Y, Sakaguchi Y, Takeuchi H and Okajima T	4. 巻 526
2. 論文標題 Contribution of extracellular O-GlcNAc to the stability of folded epidermal growth factor-like domains and Notch1 trafficking	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 184-190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.03.066	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Servian-Morilla E, Takeuchi H, Paradas C et al.	4. 巻 139
2. 論文標題 POGLUT1 biallelic mutations cause myopathy with reduced satellite cells, alpha-dystroglycan hypoglycosylation and a distinctive radiological pattern.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neuropathol	6. 最初と最後の頁 565-582
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00401-019-02117-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ralser DJ, Takeuchi H, Betz RC et al.	4. 巻 139
2. 論文標題 Altered Notch signaling in Dowling-Degos disease: Additional mutations in POGLUT1 and further insights into disease pathogenesis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Invest Dermatol	6. 最初と最後の頁 960-964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2018.10.030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Urata Y and Takeuchi H	4. 巻 62
2. 論文標題 Effects of Notch glycosylation on health and diseases.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dev Growth Differ	6. 最初と最後の頁 35-48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12643	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yu H and Takeuchi H	4. 巻 56
2. 論文標題 Protein O-glycosylation: another essential role of glucose in biology.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Curr Opin Struct Biol	6. 最初と最後の頁 64-71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sbi.2018.12.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 竹内英之
2. 発表標題 O-グルコース糖鎖修飾による Notch シグナル制御の意義
3. 学会等名 第 94 回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内英之
2. 発表標題 Notch O-グルコース糖鎖修飾の異常と筋病態との関連
3. 学会等名 第 44 回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内英之
2. 発表標題 O-グルコース糖鎖修飾による Notch 細胞間情報伝達の調節機構
3. 学会等名 第 18 回日本糖鎖科学コンソーシアム (JCGG) シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小川光貴、田嶋優子、坂口大和、竹内英之、岡島徹也
2. 発表標題 細胞外 O-GlcNAc 修飾は EGF ドメインの安定性と Notch1 のトラフィッキングに寄与する
3. 学会等名 第 93 回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中村澄香、小川光貴、竹内英之、岡島徹也、有森貴夫、高木淳一、相川京子
2. 発表標題 血液凝固第 XII 因子の活性化抑制における糖鎖修飾の役割
3. 学会等名 第 93 回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takeuchi H, Urata Y, Tsukamoto Y, Saiki W, Senoo Y, Ma C, Wang WW, Aoki K, Tiemeyer M, and Okajima T
2. 発表標題 Significance of structurally diverse elongation of O-glucose glycans on Notch1 and Notch2
3. 学会等名 Annual Meeting of Society for Glycobiology (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 竹内 英之
2. 発表標題 O-グルコース糖鎖修飾による Notch シグナルの調節機構
3. 学会等名 第 92 回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 竹内 英之
2. 発表標題 O-グルコース糖鎖修飾による衛星細胞における Notch シグナル制御の重要性
3. 学会等名 日本筋学会第 5 回学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 竹内 英之
2. 発表標題 Significance of protein O-glycosylation for regulation of Notch signaling in satellite cells
3. 学会等名 第 7 回若手による骨格筋細胞研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 北島健、佐藤ちひろ、門松健治、加藤晃一編	4. 発行年 2020年
2. 出版社 名古屋大学出版会	5. 総ページ数 295
3. 書名 糖鎖生物学 生命現象と糖鎖情報	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	田嶋 優子 (Tashima Yuko) (10423104)	名古屋大学・医学系研究科・助教 (13901)	
研究分担者	L O P E I W E N (Lo Peiwen) (20822406)	名古屋大学・医学系研究科・研究機関研究員 (13901)	
研究分担者	浦田 悠輔 (Urata Yusuke) (90897357)	名古屋大学・医学部附属病院・医員 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
	米国	ジョージア大学	バイラー医科大学
中国	華中科技大		