

ハイマンノース型糖鎖をもつペプチドの合成と糖鎖脱離酵素の活性評価

(群馬大院理工¹・東京都医総研²・理研³) ○井上 遥¹・相京 碧¹・高橋 諭¹・石井 希実¹・松尾 一郎¹・吉田 雪子²・鈴木 匡³・高橋 剛¹

Synthesis of glycopeptides with high-mannose oligosaccharide and evaluation of their reactivities toward deglycosylating enzymes (¹*Graduate School of Science and Technology, Gunma University*, ²*Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science*, ³*RIKEN*) ○Haruka Inoue¹, Midori Aikyo¹, Satoshi Takahashi¹, Nozomi Ishii¹, Ichiro Matsuo¹, Yukiko Yoshida², Tadashi Suzuki³, Tsuyoshi Takahashi¹

Glycosylation of proteins is one of the most frequent types of protein post-translational modifications in eukaryotic cells. Misfolded glycoproteins in endoplasmic reticulum (ER) are retrotranslocated from the ER to the cytosol and degraded through the ER-associated degradation (ERAD). There are deglycosylation enzymes such as peptide:*N*-glycanase (PNGase) and endo- β -*N*-acetylglucosaminidase (ENGase) in cytosol. Both enzymes can remove the glycans from the glycoproteins bearing *N*-glycans. However, it is unclear which enzymes act predominantly on the glycoprotein substrates and whether the amino acid sequences and glycan structures affect the enzyme activities. In the present study, we have designed and synthesized a variety of 7-residue glycopeptides bearing Man₃GlcNAc₂ and Man₈GlcNAc₂, and we have examined their reactivities toward PNGase and ENGase.

Keywords : peptide:*N*-glycanase ; endo- β -*N*-acetylglucosaminidase ; glycopeptide

真核細胞において最も頻繁に使用されるタンパク質の翻訳後修飾の一つに、タンパク質のグリコシル化がある。小胞体内でミスフォールドした糖タンパク質は、小胞体から細胞質へと逆輸送され、プロテアソームで分解される。この小胞体関連分解 (ERAD) 過程で、Asn 側鎖に糖鎖が結合した *N* 結合型糖鎖をもつ糖タンパク質は、細胞質ペプチド:*N*-グリカナーゼ (PNGase) やエンド- β -*N*-アセチルグルコサミニダーゼ (ENGase) などによって糖鎖が除去される。PNGase が作用すると、糖鎖が結合した Asn は、Asp へと変換される。一方、ENGase が作用した場合、*N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) 1 つが結合した Asn 残基が残る。GlcNAc が残った糖タンパク質は、プロテアソームで分解されにくいと考えられることから、糖鎖近傍のアミノ酸配列や糖鎖構造の違いによる、糖タンパク質と脱糖鎖酵素の反応性について理解することが重要である。本研究では、ENGase が認識する最少の糖鎖構造であるトリマンノシルコア 5 糖 (Man₃GlcNAc₂) や、天然型の Man₈B 型 (Man₈GlcNAc₂, isoform B) 構造をもつ、アミノ酸配列の異なる糖ペプチドを設計・合成し、PNGase および ENGase に対する反応性について検討した。

ペプチドは、*N*-結合型糖タンパク質である Nrf1 配列に基づいて設計した。Nrf1 中の 9 カ所の糖鎖結合部位をもとに、7 残基からなる 9 種類のペプチドを設計した。糖ペプチドは、Fmoc 固相法および糖転移反応を用いて合成した。合成したペプチドを用いて、PNGase および ENGase との反応性について、逆相 HPLC を用いて評価した。