

UDP-5S-Glucose を利用した糖タンパク質品質管理機構の追跡

齋藤泉、真木勇太、岡本亮、梶原康宏

大阪大学 理学研究科 理研・理学研究科連携プロジェクト拠点

小胞体 (ER) 内では、ミスフォールド糖タンパク質のリフォールディング過程を監視する、品質管理機構が働いている。この機構は、カルネキシン/カルレティキュリン (CNX/CRT) サイクルとも呼ばれている。9つのマンノース残基を持つ糖鎖 (M9 糖鎖) を有する糖タンパク質が ER 内で合成されると、フォールディングセンサー酵素である UGGT によって、タンパク質部分が正しい立体構造をもっているか特異的に評価される。ミスフォールド状態と判断された場合、UGGT は UDP-Glucose を基質として M9 糖鎖に対してグルコース (G)1 残基を転移し、G1M9 糖鎖が合成される。ER 内では、G1M9 糖鎖をもつ糖タンパク質はミスフォールド体としての目印をつけられたことになり、シャペロンタンパク質である CNX/CRT によって天然型構造へとリフォールディングされる。最後に、正しくリフォールディングした G1M9 型糖タンパク質は、Glucosidase-II によりグルコース 1 残基が除去され、CNX/CRT サイクルから離脱する。この CNX/CRT サイクルは糖タンパク質のフォールディングに大きな役割を果たすが、UGGT によるグルコース転移が必要不可欠かどうかは厳密には明らかになっていない。そこで本研究では、UDP-5S-Glucose¹⁾を用いた新しい CNX/CRT サイクル阻害実験系を確立し、小胞体画分溶液中における糖タンパク質のフォールディング過程の解析を行った。さらに、UGGT の基質である UDP-Glucose が欠乏した条件下で糖タンパク質のフォールディングを追跡することで、UGGT の CNX/CRT サイクルへの寄与を詳細に調べるとともに、他の経路が糖タンパク質のフォールディングに関与しているかも調べることにした。

まず、M9 糖鎖をもつケモカイン MCP-1 のポリペプチドを化学合成し、これと UDP-Glucose を、ラットの肝臓より単離した小胞体画分溶液に加えた。高速液体クロマトグラフィー質量分析によりフォールディング過程を追跡した結果、本条件では効率よくフォールディングが完了することを確認した。一方、阻害剤として UDP-5S-Glucose を反応液に加えたところ、糖タンパク質のフォールディングが効率よく阻害された。この結果より、糖タンパク質のフォールディングは、主として CNX/CRT サイクルが管理していることが示唆された。一方で、UGGT の基質である UDP-Glucose を加えずに、MCP-1 ポリペプチドのフォールディングを同様に追跡した。その結果、UDP-Glucose が欠乏した条件下でも、糖タンパク質は効率よくフォールディングすることがわかった。これは、グルコースの転移を目印とする、UGGT によるミスフォールド糖タンパク質の認識がなくても、リフォールディングが正常に起こることを示唆している。以上の結果から、糖タンパク質のリフォールディングには UGGT を利用する CNX/CRT サイクルと共に、他のリフォールディングプロセスの存在が示唆された。

参考文献 1) Y. Ito et. al. *RSC Adv.*, 2016, 6, 76879-76882

研究業績リスト

I 査読論文

Chemical Synthesis of an Erythropoietin Glycoform Having a Triantennary N-Glycan: Significant Change of Biological Activity of Glycoprotein by Addition of a Small Molecular Weight Trisaccharide.

Yuta Maki, Ryo Okamoto, Masayuki Izumi, Yasuhiro Kajihara

J. Am. Chem. Soc, **142** (2020), 20671 – 20679

DOI:10.1021/jacs.0c08719

Identification of the epitope of 10-7G glycan antibody to recognize cancer-associated haptoglobin.

Koichi Morishita, Yuta Maki, Shinji Takamatsu, Nami Ito, Sayaka Koda, Kei Motooka, Yasuhiro Kamada, Yasuhiro Kajihara, Eiji Miyoshi, *Anal. Biochem.* **593**, (2020) *93*, 113588.

Studies for Elucidation of Oligosaccharides Functions of Glycoproteins

真木 勇太, 岡本 亮, 村上 真淑, 梶原 康宏

有機合成化学協会誌 **78** (2020), 1021 – 1038.

DOI:10.5059/yukigoseikyokaishi.78.1021

II 国際会議等における発表

コロナにより全て延期

III 国内会議等における発表

共刺激レセプター糖タンパク質 ICOS の半合成

入谷健斗, 岡本亮, 真木勇太, 梶原康宏

第 39 回 日本糖質学会年会

誌上開催

UDP-5-S-Glucose を利用した糖タンパク質品質管理機構の追跡

齋藤 泉, 大谷 結子, 向川 友紀, 山内 美紀, 和泉 雅之, 真木 勇太, 岡本 亮, 伊

藤 幸成, 梶原 康宏

第 39 回 日本糖質学会年会

誌上開催

IV 著書

該当なし

V 受賞と知的財産

梶原康宏、

「ヒト型糖鎖の大量化学合成を利用する糖タンパク質精密化学合成法の開発ならびに、それを用いた糖鎖機能解明」、International Carbohydrate Organization より、2020 Roy L. Whistler Award

VI その他研究業績、発表文献

糖タンパク質の化学合成

岡本 亮、真木 勇太、梶原 康宏

MEDCHEMNEWS vol. 30, No. 4 (2020) 186-191