

フォールディングセンサー酵素の阻害剤を用いる糖タンパク質品質管理機構の追跡

(阪大院理¹・阪大院理基礎理学プロジェクト研究センター²) ○齋藤 泉¹、大谷 結子¹、向川 友紀¹、山内 美紀¹、和泉 雅之¹、真木 勇太^{1,2}、岡本 亮^{1,2}、伊藤 幸成²、梶原 康宏^{1,2}

Monitoring of glycoprotein quality control system in the presence of inhibitor of folding sensor enzyme (¹Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., ² Grad. Sch. Sci. PRC, Osaka Univ.) ○Izumi Saito¹, Yuiko Otani¹, Yuki Mukogawa¹, Miki Yamauchi¹, Masayuki Izumi¹, Yuta Maki^{1,2}, Ryo Okamoto^{1,2}, Yukishige Ito², Yasuhiro Kajihara^{1,2}

In the endoplasmic reticulum (ER), the refolding cycle plays an essential role in regulating the quality control of glycoproteins. UDP-glucose: glycoprotein glucosyltransferase (UGGT) has been considered as a main enzyme regulating the cycle. In this study, we carried out a unique inhibition assay of the folding cycle in the ER lysate with synthetic homogeneous glycoproteins and a UGGT inhibitor: UDP-5S-glucose. This assay revealed that the glycoprotein quality control system using UGGT is mainly responsible for the refolding process of glycoproteins. On the other hand, our result also suggested that the other classes of chaperones also potentially involved in the refolding process of misfolded glycoproteins.

Keywords : *glycoprotein, quality control system, refolding, UGGT, UDP-5S-glucose*

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、フォールディングセンサー酵素(UGGT)がM9ハイマンノース糖鎖を有するミスフォールド糖タンパク質を特異的に認識し、グルコース1残基を転移することで開始される。このG1M9糖鎖をもつミスフォールド糖タンパク質は、種々のシャペロンタンパク質によって天然型構造へリフォールディングされる。最後に、正しくフォールディングしたG1M9型糖タンパク質は、グルコシダーゼ-IIによりグルコース1残基が除去され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が必要不可欠なのかは厳密には明らかになっていない。そこで本研究では、UGGTの阻害剤候補としてUDP-5S-グルコース(Y. Ito et. al. *RSC Adv.*, **2016**, 6, 76879)を用いて、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を解析した。さらに、UGGTの基質であるUDP-グルコース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し、CNX/CRTサイクル以外のフォールディング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を調べた。

実験の結果、UDP-5S-グルコースはフォールディングを効率よく阻害した。このことから、主としてCNX/CRTサイクルが糖タンパク質のリフォールディングを管理していることがわかった。一方、UDP-グルコースが欠乏した条件下でも糖タンパク質のリフォールディングが効率よく進行した。これは、UGGTが機能しない場合などに、糖タンパク質のリフォールディングを補助する他のフォールディングプロセスが存在することを示唆している。本発表ではこれら結果について詳細に述べる。