

Ces1d が関与するエンドグリコシダーゼ活性に対するハイブリッド結合型プローブの開発

(成蹊大理工¹) ○平 啓人¹・栗原 大輝¹・戸谷 希一郎¹

Synthetic study of hybrid-binding probe towards endo-glycosidase activity mediated by Ces1d
(¹*Department of Science and Technology, Seikei University*) ○Akito Taira,¹ Taiki Kuribara,¹ Kiichiro Totani,¹

We discovered endoplasmic reticulum endomannosidase (ER-EM) activity which removes Glc α 1-3Man from Glc₁Man₉GlcNAc₂-type misfolded glycoproteins for promoting them into the degradation pathway in the ER glycoprotein quality control system. And we found the involvement of carboxylesterase 1d (Ces1d) to the activity. However, the contribution of Ces1d in ER-EM activity is still unknown. We investigated the structure of Ces1d and found that it is a multi-point recognition enzyme with a Z-site that can bind to sugars in addition to the catalytically active site.

In order to understand the roles of the two recognition sites of Ces1d in ER-EM activity, we studied the interaction between JW972, a Ces1d inhibitor that binds to the catalytically active site, and a Glc₁Man₉GlcNAc₂ glycan that a target glycan for ER-EM activity. The two components were coupled using click chemistry via azide linker, and a hybrid-binding probe for Ces1d was successfully synthesized. In this study, we will report on the analysis of the mechanism of ER-EM activity using the synthetic probe.

Keywords : *Ces1d; Click chemistry; ER-EM activity*

我々は、小胞体糖タンパク質品質管理機構において Glc₁Man₉GlcNAc₂ 型不良糖タンパク質から Glc α 1-3Man を加水分解し分解経路へと促す小胞体エンドマンノシダーゼ (ER-EM) 活性を発見した。また、本活性へのカルボキシルエステラーゼ 1d (Ces1d) の関与を見出した。しかし、Ces1d の ER-EM 活性における作用機構は不明である。Ces1d の構造的特徴を調査したところ、触媒活性サイトの他に糖類と結合しうる Z サイトを有した多点認識酵素であると判明した (下図)。

そこで本研究では、ER-EM 活性において Ces1d の 2 つの認識部位が果たす役割を解明すべく、触媒活性サイトに結合する Ces1d 阻害剤である JW972 と ER-EM 活性の標的糖鎖である Glc₁Man₉GlcNAc₂ 型糖鎖を構成要素としたハイブリッド結合型プローブを設計した。2 つの構成要素を、アジドリンカーを介しクリック反応や縮合反応を用いカップリングすることで ER-EM 活性に対するハイブリッド結合型プローブの合成に成功した。

本発表では、合成したプローブを用いた ER-EM 活性発現機構の解析についても報告する。

