

## 糖ペプチドの合成と細胞質ペプチド:*N*-グリカナーゼおよびエンド- $\beta$ -*N*-アセチルグルコサミニダーゼによる反応性の検討

(群馬理工<sup>1</sup>・群大院理工<sup>2</sup>・東京都医学総合研究所<sup>3</sup>・理化学研究所<sup>4</sup>) ○井上 遥<sup>1</sup>・高橋 諭<sup>2</sup>・石井 希実<sup>2</sup>・松尾 一郎<sup>2</sup>・吉田 雪子<sup>3</sup>・鈴木 匡<sup>4</sup>・高橋 剛<sup>2</sup>

Synthesis of Glycopeptides and Investigation of Their Reactivities toward Cytoplasmic Peptide:*N*-glycanase and Endo- $\beta$ -*N*-acetylglucosaminidase (<sup>1</sup>*Department of Science and Technology, Gunma University*, <sup>2</sup>*Graduate School of Science and Technology, Gunma University*, <sup>3</sup>*Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science*, <sup>4</sup>*RIKEN*) ○Haruka Inoue,<sup>1</sup> Satoshi Takahashi,<sup>2</sup> Nozomi Ishii,<sup>2</sup> Ichiro Matsuo,<sup>2</sup> Yukiko Yoshida,<sup>3</sup> Tadashi Suzuki,<sup>4</sup> Tsuyoshi Takahashi<sup>2</sup>

Glycosylation of proteins is one of the most frequent types of protein post-translational modifications occurring in eukaryotic cells. Misfolded glycoproteins are degraded via endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD) pathway. *N*-linked glycans are removed by cytoplasmic peptide:*N*-glycanase (PNGase) that catalyzes hydrolysis of the amide bond between the innermost *N*-acetylglucosamine (GlcNAc) and Asn side-chain. On the other hand, cytosolic endo- $\beta$ -*N*-acetylglucosaminidase (ENGase) can cleave the *N,N'*-diacetylchitobiose core of cytosolic free oligosaccharides and *N*-linked glycoproteins. It remains, however, unclear whether both PNGase and ENGase can recognize the amino acid sequences of substrates. In the present study, we have synthesized several glycopeptides and investigated their reactivities toward PNGase and ENGase.

**Keywords** : *Cytoplasmic Peptide:*N*-glycanase; Endo- $\beta$ -*N*-acetylglucosaminidase; Glycoprotein; N-linked Glycoprotein*

アスパラギンの側鎖に糖鎖が結合した *N* 結合型糖鎖は、タンパク質の安定性などに寄与している。小胞体関連分解 (ERAD) では、ミスフォールドした糖タンパク質は、細胞質へと輸送され、プロテアソームで分解される。このとき、*N* 結合型糖鎖をもつタンパク質は、細胞質ペプチド:*N*-グリカナーゼ (PNGase) によって、糖鎖の根元から切断される。遊離した糖鎖は、エンド- $\beta$ -*N*-アセチルグルコサミニダーゼ (ENGase) などにより処理された後、最終的に単糖まで分解されることが考えられている。ENGase は、*N* 結合型糖鎖をもつタンパク質にも作用し、タンパク質上に GlcNAc 残基を 1 つ残して糖鎖を遊離する。基質となる糖タンパク質の反応点近傍のアミノ酸配列の違いにより、PNGase や ENGase による反応性が異なると考えられるが、いまだ詳細は分かっていない。本研究では、7 アミノ酸残基からなる複数の糖ペプチドを合成し、PNGase および ENGase による反応性について検討した。

糖ペプチドは、Nrf1 (nuclear factor erythroid-derived 2-related factor) のアミノ酸配列を元に設計した。Nrf1 には、*N* 結合型糖鎖付加に必要なコンセンサス配列が 9 箇所存在する。この 9 箇所のアミノ酸配列を元に、*N* 結合型糖鎖のコア 5 糖 (Man<sub>3</sub>GlcNAc<sub>2</sub>) を導入した糖ペプチドを設計・合成し、酵母由来 PNGase、ヒト由来 PNGase (Ngly1) およびヒト由来 ENGase に対する反応性について検討した。