

非天然型コア三糖類による ENGase の基質認識におけるアセトアミド基の重要性評価

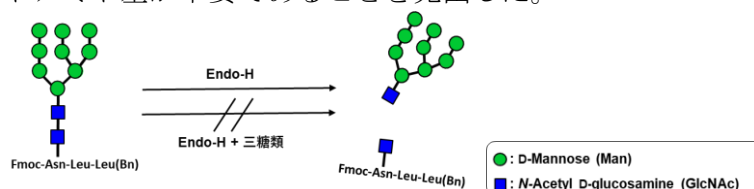
(成蹊大理工¹⁾) ○田島 直也¹・旅川 広大¹・齋藤 直暉¹・楡木 淳平¹・栗原 大輝¹・戸谷 希一郎¹

Elucidation of the importance of acetamide groups in the substrate recognition of ENGase by unnatural-type core trisaccharides (*Department of Science and Technology, Seikei University*)
○Naoya Tajima,¹ Kota Tabikawa,¹ Naoki Saito,¹ Junpei Nireki,¹ Taiki Kuribara,¹ Kiichiro Totani¹

Endo-β-N-acetylglucosaminidase (ENGase) cleaves the glycosidic bond of chitobiose moiety of various N-glycoproteins for analyzing oligosaccharide structures. While the hydrolytic mechanism has been elucidated, the substrate recognition mechanism is not fully understood. In this study, we investigated the substrate recognition mechanism by using three types of non-natural core trisaccharides for understanding the importance of the acetamide group. When the synthesized Manβ1-4Glcβ1-4GlcNAc type trisaccharide was added to the assay system of Endo-H, a type of ENGase, the reaction was significantly inhibited, indicating that the acetamide group on the central residue is unnecessary for substrate recognition of Endo-H.

Keywords : ENGase, Acetamide Group, Substrate Recognition

ENGase は様々な N 結合型糖鎖のキトビオース間を切断する Endo 型糖加水分解酵素の一種である。糖鎖構造に変化を与えることなく作用するその特性から糖タンパク質糖鎖の解析ツールとして注目されている。ENGase の糖加水分解機構に関しては、コア三糖中央に位置する GlcNAc の 2 位アセトアミド基の関与が報告されているが¹⁾、その糖鎖認識特性に関しては十分に理解されていない。本研究では、天然型コア三糖と、天然型を基盤とし GlcNAc の 2 位アセトアミド基を系統的にヒドロキシ基に変更した非天然型コア三糖を合成し、それぞれの三糖の ENGase の糖加水分解に対する阻害活性を比較することで、本酵素の糖鎖認識におけるコア三糖のアセトアミド基の有無、および位置による重要性の評価を目的とした。我々は、非天然型である Manβ1-4Glcβ1-4Glc 型、Manβ1-4Glcβ1-4GlcNAc 型、および天然型の Manβ1-4GlcNAcβ1-4GlcNAc 型の合成に成功した。さらに、糖ペプチド型基質に対する ENGase の一種である Endo-H の糖加水分解評価系（下図）に、合成した Manβ1-4Glcβ1-4GlcNAc 型を添加したところ、反応は有意に阻害され、Endo-H の糖鎖認識に中央の糖残基のアセトアミド基が不要であることを見出した。



1) A. J. Fairbanks, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 5128-5146.