

再構成糖鎖プロファイルを用いた小胞体ストレスと糖鎖プロセシングの相関解析

(成蹊大理工¹) ○畑 樹里¹・栗原 大輝¹・戸谷 希一郎¹

Correlation analysis of endoplasmic reticulum stress and glycan processing using reconstructed glycan profiles (¹*Department of Science and Technology, Seikei University*) ○Juri Hata¹, Taiki Kuribara¹, Kiichiro Totani¹

Type 2 diabetes and neurodegenerative disorders are endoplasmic reticulum (ER) stress-related diseases caused by accumulation of misfolded (glyco)proteins in the ER. We previously reported that these diseases affect ER glycan processing status. However, correlation between ER stress and glycan processing status is still unclear. In this study, we generated ER stress-induced cells treated with Eeyarestatin I, which inhibits ER-associated proteolysis. We attempted to obtain glycan profiles reflecting ER stress conditions by using reconstructed glycan profiling using fluorescently labeled glycans substrates and the ER fraction extracted from the ER stress-induced cells.

Keywords : ER stress; ER stress-related disease; Glycan profile reconstruction

糖尿病や神経変性疾患は小胞体でのミスフォールド(糖)タンパク質の蓄積が一因となる小胞体ストレス関連疾患である。我々は以前にこれら疾患において小胞体における糖鎖プロセシング状況が変動すると報告した^[1]。しかし、小胞体ストレスが糖鎖プロセシング状況にどのような影響を与えるかは不明である。そこで本研究では、小胞体関連タンパク質分解を阻害する Eeyarestatin I を用いて小胞体ストレスを誘発させた細胞を作製した。小胞体ストレスの評価として Western Blotting とタンパク質凝集体の検出が可能な PROTEOSTAT[®]を用いた。Western Blotting では、小胞体ストレスマーカーである、PERK, IRE1, ATF6, GRP78 の発現量を解析した。その結果、PERK は 30%、IRE1 は 90%、ATF6 は 50%、GRP78 は 60%の発現量増加が確認されたため小胞体ストレス状態であると考えられる。また、PROTEOSTAT[®]を用いたタンパク質凝集体の検出では粒状で赤色の蛍光としてタンパク質凝集体の存在を確認した(Figure1)。これらの結果から小胞体ストレスを誘発させた細胞の作製に成功したと判断した。作製した小胞体ストレス惹起細胞から抽出した小胞体画分内と蛍光標識化した糖鎖を基質とする再構成糖鎖プロファイル法を用いて、小胞体ストレス状況を反映した糖鎖プロファイルの獲得を試みた。

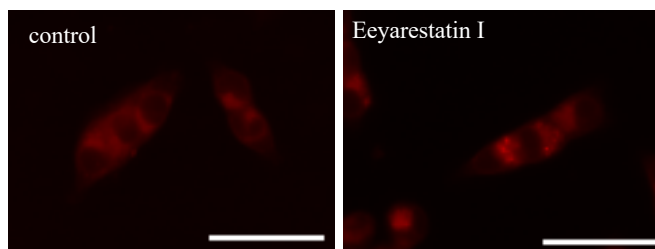


Figure 1 PROTEOSTAT[®]によるタンパク質凝集体検出 (Scale bar = 50 μ m)

[1] T. Kuribara, A. Imagawa, M. Hirano, Y. Ito, K. Totani, *FEBS Lett.* **2020**, 594, 1759-1769.