

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合成研究

(成蹊大理工) ○平 啓人・栗原 大輝・戸谷 希一郎

Synthetic Study of Hybrid-binding Probe Towards Endo-glycosidase Activity Mediated by Ces1d (*Department of Materials and Life Science, Seikei University*) ○Akito Taira, Taiki Kuribara, Kiichiro Totani

We discovered endoplasmic reticulum endomannosidase (ER-EM) activity which removes Glc α 1-3Man from Glc $_1$ Man $_9$ GlcNAc $_2$ -type misfolded glycoproteins for promoting them into the degradation pathway in the ER glycoprotein quality control system (ERQC). And We found the involvement of carboxylesterase 1d (Ces1d) to the activity. However, the contribution of Ces1d in ER-EM activity is still unknown. Ces1d is a multi-point recognition enzyme that can bind to sugars at the Z-site in addition to the catalytic active site.

In order to understand the roles of the two recognition sites of Ces1d in ER-EM activity, we designed hybrid-binding probes having Ces1d inhibitor (JW972) and a substrate glycan for ER-EM activity (Glc $_1$ Man $_9$ GlcNAc $_2$). The JW972 moiety may bind to the catalytic active site together with binding of the glycan moiety to the Z site. The azide linker was added to the reducing end of the Glc $_1$ Man $_9$ GlcNAc $_2$ glycan and coupled with alkyne-containing JW972 by click reaction to synthesize the hybrid-binding probe.

Keywords : Ces1d; JW972; Hybrid binding probe; Endmannosidase Activity

我々は、小胞体糖タンパク質品質管理機構 (ERQC) において、Glc $_1$ Man $_9$ GlcNAc $_2$ 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。さらに、我々は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 の構造上の特徴を精査したところ、触媒活性サイトの他に糖類と結合しうる Z サイトを有する特徴に気付いた。

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、Z サイトに結合し、ER-EM 活性の基質糖鎖でもある Glc $_1$ Man $_9$ GlcNAc $_2$ 型糖鎖を構成要素としたハイブリッド結合型プローブの合成を試みた。具体的には鶏卵から精製した Glc $_1$ Man $_9$ GlcNAc $_2$ 型糖鎖の還元末端にアジドリンカーを導入し、別途合成したアルキンを含む JW972 とクリック反応によりカップリングをすることで、目的のハイブリッド結合型プローブの合成を検討した。

