

遊離 *N*型糖鎖 (FNG) —その存在と多様な生成, 分解機構

鈴木 匡

アスパラギン結合(*N*)型糖鎖はタンパク質の最も重要な翻訳後修飾の一つであり, タンパク質のフォールディングや細胞内/細胞外のタンパク質の局在, 生理活性などに重要な役割を果たす例が数多く知られている. 最近*N*型糖鎖およびその前駆体(ドリコール結合型糖鎖)から遊離される, 構造上*N*型糖鎖と類似性を持つ遊離の糖鎖(遊離*N*型糖鎖, free *N*-glycan: FNG)がさまざまな生物種で生成することが示されてきている. その生成機構は単一でなく, 生物種によっても大きく異なる. 本稿では遊離*N*型糖鎖の生成, 代謝機構について, 主に出芽酵母と哺乳動物における研究について最新の知見を紹介したい.

1. はじめに

タンパク質のアスパラギン結合(*N*)型糖鎖はいまや真核細胞にとどまらず, すべての生物界(細菌, 古細菌を含め)にみられる最も普遍的な翻訳後修飾の一つである¹⁾. *N*型糖鎖はタンパク質の可溶性, 熱安定性といった物理化学的性質に大きな影響を与えるほか, タンパク質の局在性や生理活性など, 生理学的性質を制御する例も数多く知られている^{2,3)}. 真核生物における*N*型糖鎖の生合成機構は, 出芽酵母や哺乳動物細胞についてはその分子機構のほとんどが明らかにされている^{4,5)}. 一方その分解機構については, 実はこの“ポストゲノム”と称される現代においても未解明の問題が数多く残されているのが実状である. たとえば哺乳動物においては, リソソームにおける代謝機構はリソソーム蓄積病との関連で古くからよく解析されており, その詳細も明らかにされている⁶⁻⁹⁾. 一方で, リソソーム以外における*N*型糖鎖あるいは関連分子の代謝機構については, 最近までその存在すらあまり知られていなかったといっても過言ではない.

筆者は学部学生として井上康男先生の研究室(東京大学理学部生物化学科)に在籍中, 細胞質画分に*N*型糖鎖を根

元から切断する脱離酵素であるペプチド:*N*-グリカナーゼ(PNGase)活性を発見した¹⁰⁾. この研究の歴史的経緯については他稿に譲る¹¹⁻¹³⁾.

細胞質PNGaseが変性糖タンパク質に作用することによって, 細胞質に遊離*N*型糖鎖(free *N*-glycan: FNG)が生成する(図1). 一方FNGはPNGaseに依存しない生成経路も複数存在する. 本稿では主に出芽酵母と哺乳動物におけるFNGの生成, 代謝機構について最新の知見を紹介したい^{5,14)}. それ以外の生物種におけるFNG研究の現状については下記の総説を参考にされたい^{5,15-18)}.

2. FNG—その構造上の特徴

FNGは, *N*型糖鎖を持つ糖タンパク質あるいはその生合成のドナー基質であるドリコール二リン酸上の糖鎖から遊離され, 脂質やタンパク質と結合せず構造上*N*型糖鎖と共通する特徴を持つ糖鎖の総称である. 真核細胞のFNGは還元末端の構造上, 以下の三つに大別される. (1)Gn2型FNG: 還元末端に*N*型糖鎖と同様*N,N'*-ジアセチルキトビオース(GlcNAc β 1-4GlcNAc)構造を保持したFNGである(図1A). Gn2型FNGは糖タンパク質からPNGaseの作用によって生じるか, もしくは*N*型糖鎖のドナー基質であるドリコール結合型糖鎖(dolichol-linked oligosaccharide: DLO), あるいはリン酸化FNGの加水分解によって生じる. (2)Gn1型FNG: 還元末端が*N,N'*-ジアセチルキトビオースでなく, GlcNAc 1残基となっている糖鎖である(図1B). このFNGは糖タンパク質, あるいはDLOから直接エンド- β -*N*-アセチルグルコサミニダーゼ(ENGase)が作用するか, あるいはGn2型FNGからENGase, あるいはリソソームにおけるキトビアーゼの活性によって生じる. ENGaseとキトビアーゼは同じグリコシド結合を切断する

理化学研究所理研-マックスプランク連携研究センターシステム糖鎖生物学研究グループ糖鎖代謝学研究チーム(〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1)

Free *N*-glycans (FNG)—occurrence and diverse mechanisms for their formation and degradation

Tadashi Suzuki (Glycometabolome Team, Systems Glycobiology Research Group RIKEN-Max Planck Joint Research Center for Systems Chemical Biology RIKEN Global Research Cluster, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2016.880182

© 2016 公益社団法人日本生化学会

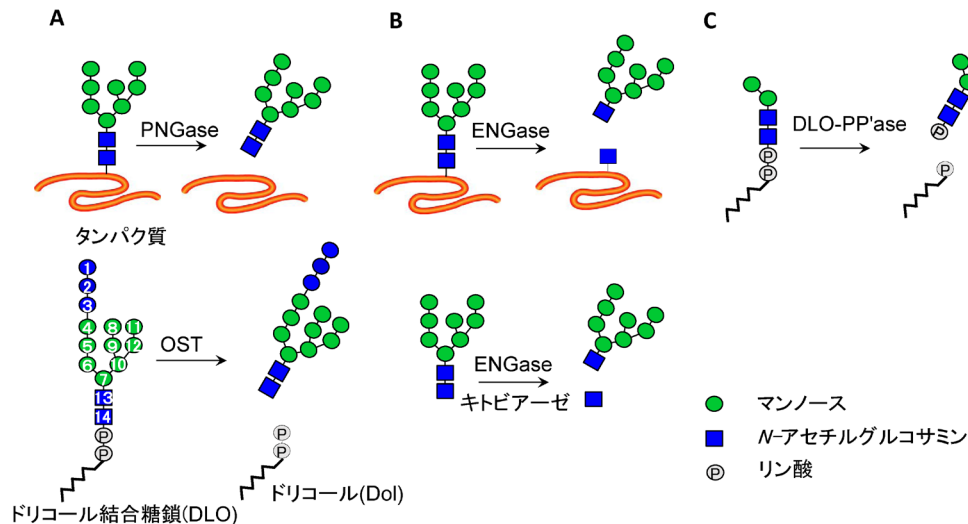


図1 FNGのさまざまな生成反応の例

(A) Gn2型FNGの生成. (上)PNGaseによる糖タンパク質からの生成, (下)オリゴ糖転移酵素 (OST) によるDLOからの生成. 番号は文中で用いる残基番号を表す. (B) Gn1型FNGの生成. (上)ENGaseによる糖タンパク質からの生成, (下)Gn2型FNGに対するENGaseもしくはキトビアーゼの作用による生成. (C) リン酸化FNGの生成. ドリコール結合型糖鎖: ピロホスファターゼ (DLO-PPase) の作用による生成.

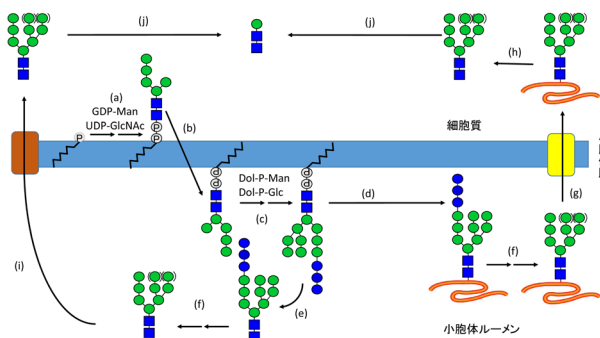


図2 出芽酵母の小胞体, および細胞質におけるFNGの生成, 分解機構^{31, 32, 94, 96, 97}

(a) *N*型糖鎖の前駆体であるDLOは, まず細胞質側でドリコールリン酸 (Dol-P) を出発物質として $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$ まで合成される. (b) その後DLOは小胞体ルーメン側にフリップする. (c) ルーメン内でさらに糖鎖の伸長が行われ, 最終的に $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{-PP-Dol}$ の14糖構造が作られる. (d) 14糖構造はオリゴ糖転移酵素 (OST) の活性によってタンパク質のコンセンサス配列 (Asn-Xaa-Ser/Thr, Xaa≠Pro) のAsn残基に転移されるが, (e) その一部はOSTの加水分解反応によってGn2型FNGを生成する. (f) ルーメン内のFNG, および糖タンパク質上の糖鎖は小胞体グリコシダーゼの作用によって $\text{Man}_{7-9}\text{GlcNAc}_2$ にプロセスされる (詳細な構造³¹ は省略). (g) 変性糖タンパク質は細胞質側に逆転送され, (h) 細胞質PNGaseの作用によってGn2型FNGが生成する. (i) ルーメン側のFNGは細胞質側に (おそらく小胞体膜のオリゴ糖輸送体によって) 放出される. (j) 細胞質に放出されたFNGはAms1の作用によって $\text{Man}_1\text{GlcNAc}_2$ にまで分解される.

が, 後者は還元末端がGlcNAcの糖鎖にのみ反応する¹⁹. したがって, キトビアーゼは還元末端から作用するエキソグリコシダーゼ, とみなすことができる. (3) リン酸化FNG: Gn2型FNGの還元末端にリン酸基が結合したFNGである (図1C). リン酸化FNGはDol-PP-OS (ドリコール二リン酸オリゴ糖) に作用するピロホスファターゼの活性

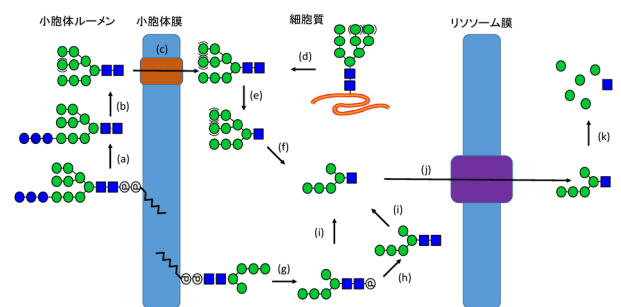


図3 哺乳動物細胞の小胞体, および細胞質におけるFNGの生成, 分解機構^{33, 44, 45, 53-56, 84, 91}

(a) 出芽酵母と同様のメカニズムで小胞体ルーメン側で合成された $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ の一部がOSTの加水分解活性の作用を受け, Gn2型FNGが生成し, (b) 小胞体グリコシダーゼの作用を受けて $\text{Man}_{8-9}\text{GlcNAc}_2$ を生成した後, (c) 小胞体膜上のオリゴ糖輸送体によって細胞質に輸送される. (d) Gn2型FNGはPNGaseの作用によっても生じる. (e) Gn2型FNGは細胞質ENGaseの作用によってGn1型FNGに変換され, (f) $\text{Man}_2\text{C1}$ の作用によって $\text{Man}_5\text{GlcNAc}$ にプロセスされる. この糖鎖のマンノース部分のアイソマー構造はDLO上の生合成の中間体と同じである. (g) 哺乳動物細胞ではDLO-PPaseの作用によりリン酸化FNGも生成する (詳細な構造⁵⁵ は省略). DLO-PPaseの局在は不明だが, ほぼすべてのリン酸化FNGは細胞質に検出される. (h) リン酸化FNGはホスファターゼの作用を受けてGn2型FNGになるか, (i) ENGaseの作用を受けてGn1型FNGを生成する. (j) 最終的にGn1型FNGはリソソーム膜上のオリゴ糖輸送体によってリソソーム内に取り込まれ, (k) リソソーム内腔のグリコシダーゼにより単糖にまで分解される.

によって生じると考えられている.

哺乳動物細胞ではこの三つの構造上の特徴を持つFNGが生成するのに対し, 出芽酵母では今のところGn2型FNGのみ観察されている. 出芽酵母, および哺乳動物において現在までに明らかにされているFNGの生成, 分解機構の詳細についてはそれぞれ図2, 図3に示した. 以下

の章では個々の反応について概説する。

3. 小胞体における Gn2 型 FNG の生成

真核細胞の分泌経路を通るタンパク質のほとんどは、小胞体において *N* 型糖鎖の修飾を受ける。*N* 型糖鎖の付加反応はオリゴ糖転移酵素 (oligosaccharyltransferase: OST) と呼ばれる酵素複合体によって担われ、そのドナー基質は出芽酵母、および哺乳動物ではドリコールリン酸上に合成された 14 糖 ($\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{-PP-Dol}$) からなる (図 2)^{3, 4, 20)}。その 14 糖は OST の活性によってタンパク質上の *N* 型糖鎖付加部位 (Asn-Xaa-Ser/Thr, Xaa \neq Pro) の Asn 残基に転移される^{4, 20)}。OST の活性サブユニットは Stt3 というタンパク質で、哺乳動物では STT3A と B という 2 種類のサブユニットが存在する²¹⁾。Stt3 は真核細胞だけでなく細菌 (PglB) や古細菌 (AgIB) にもオルソログが観察されている^{22, 23)}。興味深いことに、真核細胞の中でも *Trypanosoma brucei* や *Leishmania major* などの原生動物では、ゲノム上に OST の他のサブユニットは見いだされず、代わりに複数の STT3 パラログを持つ²⁴⁻²⁶⁾。

これまで哺乳動物細胞の膜 (小胞体) 画分から Gn2 型 FNG が生成する現象は広く知られていた²⁷⁻²⁹⁾。これらの FNG は膜の内腔で生じることが示されており^{28, 29)}、その遊離反応は OST によって行われることが示唆されてきた^{29, 30)}。最近まで実験的な証拠は得られていなかった。

我々は小胞体内の FNG の生成機構を調べるため、まず出芽酵母を用いて実験を行った³¹⁾。出芽酵母の細胞質 PNGase (*PNG1*) を欠損した酵母は FNG の 95% 以上が消失するが、ごく微量 FNG が生じる³²⁾。この FNG の量を OST 関連の変異株で測定したところ、その FNG 生成量と OST 活性 (タンパク質への糖転移活性) には正の相関が観察された³¹⁾。さらに、OST 酵素複合体を精製し、ドナー基質である $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{-PP-Dol}$ と反応させたところ、 $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ が生成し、OST の加水分解活性が生化学的に初めて示された³¹⁾。この加水分解反応は糖転移反応のアクセプター基質 (*N*^α-アセチル-Asn-Tyr-Thr) の存在下では抑制されることから、OST の糖転移反応と加水分解反応は共通の基質 (DLO) に競合的に作用することが示唆された³¹⁾。

我々は哺乳動物においても小胞体における FNG 生成反応の解析を行っている。驚いたことに、細胞質における糖タンパク質の脱糖鎖酵素である PNGase, ENGase をコードする遺伝子 (*Ngly1*, *Engase*) の二重破壊株においても細胞内の FNG の総量はほとんど変化がなかった³³⁾。このことは、FNG の 95% 以上が細胞質 PNGase の活性によって作られる、という出芽酵母とは対照的であり、FNG の生成機構は生物種によって大きく異なることがわかる (ちなみに出芽酵母には ENGase は存在しない³⁴⁾)。細胞膜透過処理をした細胞を用いて、この FNG は小胞体内腔で生じることが示された³³⁾。出芽酵母と同様、この FNG 生成活性は

OST のアクセプター基質の存在下で抑制されることから、哺乳動物細胞においても OST が Dol-PP-OS の加水分解反応を担っている可能性が強く示唆された³³⁾。

Stt3 オルソログの加水分解反応は細菌である *Campylobacter jejuni* でも観察されており、OST 酵素に広くみられる反応のようである。*C. jejuni* において、OST の FNG 生成活性は浸透圧の調整に重要な役割を果たしていると考えられている³⁵⁾。興味深いことに、出芽酵母において OST の加水分解活性は OST 活性の約 1/100 程度の効率であるのに対し、哺乳動物細胞の OST の加水分解活性は OST 活性の約 1/3 程度と見積もられる^{31, 36)}。このことから哺乳動物細胞において OST の加水分解活性が格段に増強されていることがわかる。この生物学的意義は不明だが、これらの活性は細胞内のマンノース 6-リン酸 (M6P) によって制御されていることが示唆されている^{30, 37, 38)}。細胞内の M6P 量は小胞体ストレスや単純ヘルペスウイルスの感染によっても上昇する³⁷⁾。Gao と Lehrman は、この M6P に依存した Dol-PP-OS の加水分解活性はウイルス感染に対する防御反応として進化的に獲得されてきたのではないかと、という仮説を提唱している³⁸⁾。

ごく最近、細胞質の DNase の一種である TREX1 タンパク質が OST と結合することによって OST の加水分解反応を抑制している、という興味深い結果が示されている³⁹⁾。これらは DNase 活性には依存しない TREX1 の生理活性であり、OST と結合できない TREX1 の変異体が自己免疫疾患発症の原因となることから、この TREX1 による OST の活性制御の重要性が示唆されている³⁹⁾。

4. 小胞体から細胞質への Gn2 型 FNG の輸送

小胞体における Gn2 型 FNG の機能の詳細はいまだ不明である。小胞体において *N* 型糖鎖はタンパク質のフォールディング状態をモニターする“タグ”としてさまざまな役割を果たしていることが知られている⁴⁰⁻⁴³⁾。したがって、FNG が小胞体に過剰に蓄積すると、その糖鎖依存的な品質管理機構を阻害することが容易に想像される。実際小胞体内腔で OST の加水分解によって生成した FNG は、出芽酵母においても哺乳動物細胞においても通常細胞質に放出される^{31, 44-47)}。哺乳動物細胞においては、ATP 依存的に FNG が細胞質に輸送されることから、特異的な輸送体の存在が強く示唆されている⁴⁴⁻⁴⁷⁾。一方で、同様の輸送体が出芽酵母に存在するかどうかは不明である。輸送される際の主要な糖鎖構造は哺乳動物では $\text{Man}_8\text{-}_9\text{GlcNAc}_2$ であり^{45, 46)}、一方出芽酵母では $\text{Man}_7\text{-}_9\text{GlcNAc}_2$ である³¹⁾。哺乳動物においては、 α -グルコースを持つ糖鎖は輸送体のいい基質にならないようである^{45, 47)}。これらは細胞質に輸送される代わりに分泌経路でゴルジ体に運ばれ、エンド- α -マンノシダーゼの活性を受け^{48, 49)}、その後非還元末端にシアル酸を持つような複合型の糖鎖構造にまでプロセスされた後、細胞外に分泌されるようである⁵⁰⁾。最近血清中にシ

アル酸を持つFNGが存在することが知られているが（後述）、同様のメカニズムによって細胞外に分泌されている可能性が考えられる。

5. ドリコール結合型糖鎖-ピロホスファターゼによるリン酸化FNGの遊離

DLOからのFNGは、OSTによる加水分解の他、ドリコール結合型糖鎖：ピロホスファターゼ（DLO-PP'ase）によっても生じる^{27, 51-55}。DLO-PP'aseの活性はヒト肝臓⁵⁴、マウス肝臓⁵⁶の他、出芽酵母にも検出されている⁵⁷。一方で、リン酸化FNGの存在は出芽酵母ではまだ実験的に示されていない。

DLO-PP'aseをコードする遺伝子はまだ同定されておらず、その生理機能の詳細は不明である。Pericら、およびVluegelsらはDLO-PP'aseの反応産物であるリン酸化FNGがさまざまな1型先天性糖鎖形成不全症患者由来の細胞で蓄積していることを見いだしている^{53, 54}。一方我々は最近、グルコース飢餓培地で哺乳動物細胞を培養する際、ドリコール糖鎖の生合成の中間体は一過的に生成するものの、ほとんど検出されなくなることを明らかにした⁵⁵。詳細な解析の結果、そのDLOの消失はDLO-PP'aseの活性によるものであることが判明した⁵⁵。グルコース飢餓はN型糖鎖の付加反応を低下させる⁵⁸⁻⁶³。これらの結果を考え合わせると、グルコース飢餓状態の細胞ではDLO-PP'aseの働きによってDLOの生合成中間体を蓄積させないことで、不完全な糖鎖がタンパク質に転移することを防いでいる可能性が考えられる。すなわち、DLO-PP'aseの反応はDLOの品質管理機構として機能している可能性が示された⁵⁵。

興味深いことに、グルコース飢餓時に遊離してくる主要なリン酸化FNGは $\text{Man}_2\text{GlcNAc}_2\text{-P}$ である。 $\text{Man}_2\text{GlcNAc}_2\text{-Dol}$ はALG2（asparagine-linked glycosylation2）によって合

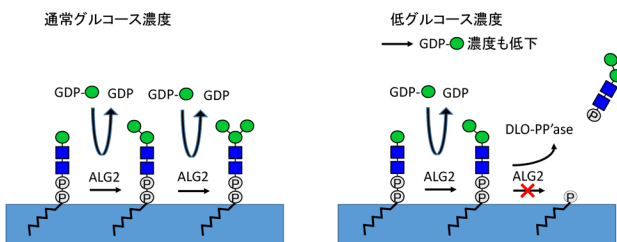


図4 GDP-Manの濃度によるDLOの生合成調節仮説⁵⁵⁾

(左)通常のグルコース濃度では十分な(GDP-Manをはじめとする)ドナー基質が供給されるため、ALG2の反応を含めたDLOの生合成は滞りなく進行する。(右)一方グルコース飢餓状態ではGDP-Manの濃度も低下する。 $\text{Man}_2\text{GlcNAc}_2\text{-P}$ が蓄積するリン酸化糖鎖の主要なフォームであることを考えると、二重の反応を担うALG2の2段階目の反応がGDP-Manの濃度の“センサー”として機能し、十分なGDP-Manが供給されないときはALG2の2段階目の反応が抑制されることが予想される。その際、DLO-PP'aseが蓄積した中間体（主に $\text{Man}_2\text{GlcNAc}_2$ 構造を持つDLO）からリン酸化FNGを遊離し、中間体の蓄積を抑えることで不完全な構造の糖鎖がタンパク質に転移されることを防いでいる、と考えられる。

成されるが、本酵素は二つ目と三つ目のManを転移する二重の機能を持った α -マンノース転移酵素である（図4）。このことから、ALG2の二つ目の反応がDLO合成の律速となって、GDP-Manの枯渇状態では $\text{Man}_2\text{GlcNAc}_2\text{-P}$ が蓄積しやすい状態が作り出されているのかもしれない。今後ALG2の酵素学的解析が待たれるところである。

DLOは $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$ までが細胞質側で、その後はルーメン側で合成される（図2）。一方、通常検出されるリン酸化FNG（ $\text{Man}_{0-7}\text{GlcNAc}_2\text{-P}$ ）はほぼ細胞質で検出される⁵³⁻⁵⁵。細胞質側を向いているDLO（ $\text{Man}_{0-5}\text{GlcNAc}_2\text{-PP-Dol}$ ）とルーメン側を向いているDLO（ $\text{Man}_{6-7}\text{GlcNAc}_2\text{-PP-Dol}$ ）は別々のDLO-PP'aseの作用を受けるのか、またはDLOのフリッピングによって共通のDLO-PP'aseの作用を受けるのかは、今後明らかにされるべき問題である。いずれにしても完全長のリン酸化DLO（ $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{-P}$ ）はさまざまなグリコシダーゼ阻害剤存在下でも観察されない^{53, 55}。DLO-PP'aseの作用を受けない仕組みが存在すると思われる。

6. 細胞質におけるFNGの生成：二つの脱N型糖鎖、PNGaseとENGase

FNGはDLOからだけでなく、糖タンパク質の分解からも生じる。小胞体ではタンパク質のホメオスタシスや品質管理が行われており、機能的なフォールディングをとれないタンパク質は異常タンパク質として小胞体の内腔から細胞質に放出され、その後プロテアソームの活性で分解される。この分解機構は小胞体関連分解（endoplasmic reticu-

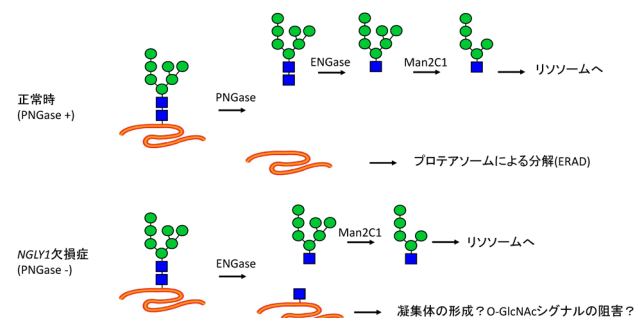


図5 NGLY1欠損症の病態に関する“N-GlcNAc仮説”⁷⁴⁾

(上)正常な状態では、細胞質に逆輸送された変性糖タンパク質はPNGaseの作用を優先的に受け、糖鎖脱離を受けたタンパク質はプロテアソームの分解を受ける一方、遊離したGn2型FNGは細胞質のENGase/Man2C1のプロセッシングを受ける。(下)NGLY1欠損症のようにPNGaseの活性が低下すると、変性糖タンパク質の一部が直接ENGaseの作用を受け、その反応産物としてN-GlcNAcタンパク質が生じる。Ngly1の欠損細胞で観察されるERADの遅延がNgly1 Engaseの二重欠損細胞では正常に回復することから、ENGaseの作用によるN-GlcNAcタンパク質の過剰な生成がNGLY1欠損症の病態発現に何らかの影響を及ぼす可能性がある。具体的には毒性を持つ凝集体の形成の他、細胞質・核における重要なタンパク質修飾であるSer/ThrのGlcNAc修飾（O-GlcNAc修飾）の機能を何らかの形で阻害している可能性も考えられる。

lum-associated degradation: ERAD) と呼ばれ、出芽酵母から哺乳動物細胞に至るまで高度に保存されている^{64, 65)}。細胞質 PNGase は ERAD の過程で細胞質に放出された糖タンパク質の *N*-型糖鎖を脱離する酵素である。本酵素の機能の詳細については別稿に譲る^{8, 11-13, 66-69)}。

細胞質 PNGase/Ngly1 の ERAD における重要性は最近までほとんど不明なままであった。なぜなら、出芽酵母において *png1* 欠損株はほとんど表現型を示さず、また哺乳動物細胞においてもこれまで調べられた範囲で、発現を抑制したり酵素活性を阻害したりしても、モデル ERAD 基質の分解の効率にはほとんど影響がなかったからである⁷⁰⁻⁷³⁾。一方、最近我々は植物由来の毒素タンパク質、リシン A 鎖の無毒化変異体 (RTAΔm) を哺乳動物細胞に発現させたところ、*Ngly1*-ノックアウト (KO) マウス由来の胚繊維芽細胞でその分解が著しく遅延することを見いだした⁷⁴⁾。興味深いことに、*Ngly1*-KO 細胞においても RTAΔm の *N*-型糖鎖は脱離されており、その反応は細胞質のもう一つの *N*-型糖鎖脱離酵素、ENGase によって行われることが判明した⁷⁴⁾。ENGase はこれまで Gn2 型 FNG の代謝に関わると考えられてきており、この結果は予想外のものであった。

ENGase による糖鎖脱離はタンパク質に GlcNAc 1 残基を残す (図 5)。RTAΔm においては ENGase の反応産物である *N*-GlcNAc タンパク質が細胞内凝集体として蓄積し、結果分解が遅れることが明らかとなった⁷⁴⁾。一方 ENGase と Ngly1 の両方を欠損した細胞では、驚いたことに RTAΔm の分解は野生型由来の細胞とほぼ同等であった。この結果は細胞質 ENGase が特に Ngly1 が機能不全の状況で糖タンパク質に直接作用し、*N*-GlcNAc タンパク質を過剰に生成することが *NGLY1* 欠損症の病態発現に関わる可能性を示唆している。ENGase の糖タンパク質への反応性は基質によって異なる⁷⁴⁾。

N-GlcNAc タンパク質はこれまで哺乳動物細胞でもたびたび観察されている⁷⁵⁻⁷⁸⁾。また植物では実際に *N*-GlcNAc タンパク質が細胞質 ENGase の作用によって生成することが示されている⁷⁹⁾。したがって *N*-GlcNAc の生成自体は正常細胞にも起こるであると考えられる。一方で、*N*-GlcNAc が過剰に細胞質内に生成することで、一部の *N*-GlcNAc タンパク質が細胞に何らかの悪影響をもたらす可能性は十分に考えられる。たとえば上述のように毒性を持つ凝集体を作る可能性の他、*O*-GlcNAc と構造上類似することから、*O*-GlcNAc のシグナル経路に異常をもたらす可能性も提唱されている (図 5)⁷⁴⁾。細胞質や核におけるタンパク質の *O*-GlcNAc 修飾はリン酸化と同様タンパク質の機能や局在性を調節しうる重要な機能を持つ翻訳後修飾である^{80, 81)}。

ENGase は真核細胞に広く存在しているが、出芽酵母や分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) にはその遺伝子オルソログは存在しない³⁴⁾。また *O*-GlcNAc 修飾も出芽酵母には存在しない。最近ヒトの PNGase 遺伝子 (*NGLY1*) の変異による遺伝病が発見された⁶⁹⁾。その症状は全身的な

発育不全、運動障害、四肢の筋力低下、肝機能障害、無涙症など実に多岐にわたり、PNGase の機能の重要性を如実に物語っている。対照的に出芽酵母では *PNG1* の欠損株は顕著な表現型を示さない⁸²⁾。哺乳動物において ENGase の存在、および *O*-GlcNAc シグナル経路の存在の有無が出芽酵母とヒトにおける PNGase 欠損の表現型の差として現れている可能性は十分に考えられる。いずれにしても将来 ENGase の特異的な阻害剤が開発できれば、*N*-GlcNAc タンパク質の生成を抑え、*NGLY1* 欠損症に対する治療薬の有力な候補となることが期待される。

7. 細胞質における FNG のプロセッシング

由来が DLO であれ、糖タンパク質であれ、哺乳動物細胞において細胞質に放出された Gn2 型 FNG は ENGase によって Gn1 型 FNG に変換される^{33, 83, 84)}。その後細胞質 α -マンノシダーゼである Man2C1 によって特定の α -Man 残基 (図 1 の残基番号 8, 9, 11, 12) が切断される (図 2)。Man2C1 は FNG の代謝に関わることが示されている⁸⁵⁻⁸⁸⁾。細胞質 α -マンノシダーゼは Gn2 型 FNG に比べて Gn1 型 FNG をよい基質とする^{89, 90)}。実際 *Engase* を欠損したマウス細胞で蓄積する主な糖鎖は $\text{Man}_{8-9}\text{GlcNAc}_2$ であり、Man2C1 が効率よく作用するためには ENGase の作用が必要であることが明らかとなった³³⁾。

ENGase と Man2C1 によって代謝された細胞質の糖鎖 (主に $\text{Man}_5\text{GlcNAc}$, 図 3) はリソソーム膜上に存在する特異的な糖鎖輸送体によってリソソームに取り込まれる^{91, 92)}。リソソームに取り込まれた FNG は単糖まで分解される。リソソーム膜上のオリゴ糖輸送体の詳細は不明である。一方、細胞質中の FNG はオートファジーの誘導によっても減少することから、オートファジーはリソソームの輸送体非依存的な FNG 代謝に関わりうる⁹³⁾。

ごく最近、我々は哺乳動物細胞においてリン酸化 FNG の代謝には ENGase が関与していることを明らかにした⁵⁶⁾。 $\text{Man}_4\text{GlcNAc}_2\text{-P}$ より大きいリン酸化 FNG は *Engase* 欠損細胞において蓄積が観察される。このことから、 $\text{Man}_{0-3}\text{GlcNAc}_2\text{-P}$ は ENGase の基質特異性によりいい基質とならず、 $\alpha 1-2$ 結合の Man (図 1 の残基番号 5) が *in vivo* における効率よいリン酸化 FNG への反応に必須であることが示された⁵⁶⁾。 $\text{Man}_{0-3}\text{GlcNAc}_2\text{-P}$ の代謝機構の詳細は現在のところ不明である。また、リン酸化 FNG に働くホスファターゼの存在も示唆されている⁵⁴⁾。このホスファターゼについての詳細はまったく不明であり、少なくとも我々はこの酵素が存在する積極的な実験的証拠は持ち合わせていない。

前述のように出芽酵母では ENGase は存在せず、FNG はもっぱら Ams1 という細胞質-液胞 α -マンノシダーゼによって分解される^{31, 32, 94-97)}。Ams1 による糖鎖分解は、定常期や細胞壁ストレス (細胞壁の合成が阻害される状態) において亢進し^{31, 32, 95-97)}、その最終産物は $\text{Man}_1\text{GlcNAc}_2$ で

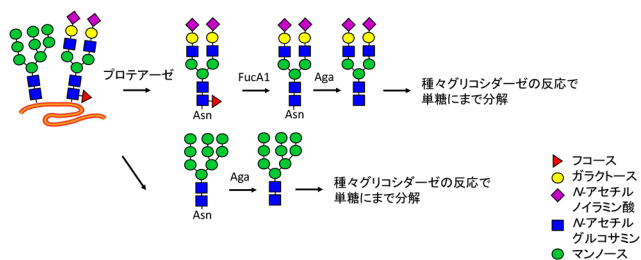


図6 哺乳動物細胞のリソソームにおける糖タンパク質代謝とFNGの生成^{6, 7, 9)}

エンドサイトーシスによってリソソームに運ばれた糖タンパク質は、まずプロテアーゼの作用によってAsn 1残基まで分解を受け、Asn-糖鎖を生成する。その後、複合型Asn-糖鎖はまずFucA1の作用を受けた後、Agaの作用を受けてGn2型FNGが生成する（高マンノース型糖鎖の場合はAgaがAsn-糖鎖に直接作用する）。その後リソソーム内のGn2型FNGは種々のグリコシダーゼの作用を受けて単糖にまで分解されるが、その過程でヒト、げっ歯類などではキトビアーゼの作用を受けてGn1型FNGを生成する。

ある^{31, 32, 94, 96, 97)}。Ams1は細胞質で合成され、小胞輸送を介さずCvt経路（cytosol-to-vacuole経路）を用いて液胞に運ばれるが、*atg19*変異株を用いてほとんどのAms1を細胞質に局在させるとFNGの代謝は亢進される^{31, 32)}。すなわちAms1は液胞よりも細胞質に存在する方がむしろFNG代謝の効率が上がる、ということになる。したがって、ことN型糖鎖の代謝に限っては、Ams1が液胞にターゲットされる必要性は不明であり、細胞質が主な糖鎖代謝の場所として機能しているようである。

8. 哺乳動物のリソソームにおけるFNGの生成

これまでリソソームに依存しないFNGの代謝機構について述べてきたが、哺乳動物においては古くからリソソームが糖鎖代謝の場であることが知られている⁶⁻⁸⁾。リソソームではさまざまなグリコシダーゼが存在し、糖タンパク質の分解においては非常に秩序だった分解が行われることが知られている（図6）。すなわち、(1)プロテアーゼによるタンパク質の分解、(2) α -フコシダーゼ（FucA1）による作用に続き、(3)Aga（アスパルチルグルコサミナーゼ）の作用によって、Asnと糖鎖の間が切断される。AgaはPNGaseと同じくAsnとGlcNAcの間のアミド結合を切断するが、PNGaseがペプチド部分にある程度の長さがあることがその反応に必須であるのに対し⁹⁸⁻¹⁰⁰⁾、AgaはAsnのNH₂基、およびCOOH基がフリーになっていないと働かず、対照的な特異性を持っている¹⁰¹⁾。Agaの作用を受けて生じるFNGは、リソソームにおいてさまざまなグリコシダーゼの反応によって代謝される（図6）。これらのリソソーム酵素に欠損があるといわゆるリソソーム蓄積病を引き起こすことは広く知られている。リソソーム蓄積病においては、細胞内、および尿中に大量のFNGが観察される¹⁰²⁻¹¹²⁾。なお、キトビアーゼやMan2B2という酵素は哺乳動物の種によって発現が確認できないものもあり、実際

それらの酵素に関してはこれまでのところ遺伝病は発見されていない¹¹³⁻¹¹⁶⁾。リソソーム由来のさまざまなリソソーム酵素欠損動物で蓄積するFNGについては、ヒトやげっ歯類では主にGn1型FNGがみられるのに対し、他の哺乳動物（ネコ、ヒツジ、ヤギ、ウシ、ブタ）ではGn2型FNGの蓄積が主に観察される^{105, 117-122)}。一方で、これらの動物も組織によってはGn1型FNGも主要なフォームとして生成するようであり、その生成機構は不明である^{123, 124)}。少なくともウシではキトビアーゼのオルソログは存在するものの、その発現量が非常に低いことがGn2型FNGを主に蓄積していることの原因と考えられている¹¹⁴⁾。

9. 哺乳動物の細胞質にみられる、シアル酸を持つFNG（シアリルFNG）

最近高マンノース型の糖鎖の他に、シアル酸を持つような複合型FNGの存在が哺乳動物で観察されている。たとえば細胞内のシアリルFNGはマウス肝臓¹²⁵⁾、がん細胞由来培養細胞¹²⁶⁾、オートファジー欠損細胞⁹³⁾、およびさまざまながん組織で観察されている¹²⁷⁻¹²⁹⁾。これらのほとんどはGn1型の糖鎖であり、リソソーム蓄積病であるシアリドーシス（シアリダーゼ欠損症）、あるいはガラクトシアリドーシス（保護タンパク質／カプテシンA欠損症）で観察されるFNGと類似の構造をとっている^{102-104, 108)}。蓄積した糖鎖は主に細胞質に蓄積しているようである^{93, 125, 126)}。このことから、リソソームから何らかの理由で細胞内に蓄積したシアリルFNGが細胞質に漏出している可能性が考えられる。組織におけるシアリルFNGの存在はがん組織に特異的に観察されたことから、細胞内のシアリルFNGの蓄積は細胞がん化のマーカーになる可能性が提唱されている^{128, 129)}。

我々はオートファジー欠損細胞において、リソソーム上のシアル酸輸送体であるシアリンの発現を抑制すると、オートファジーの欠損を誘導した際に細胞質のシアリルFNGの蓄積が遅れることを見いだした⁹³⁾。さらにごく最近、オートファジーの欠損の誘導に伴い、シアリンのタンパク質のレベルが上昇していることが示された¹³⁰⁾。シアリンの発現上昇がシアリルFNGの増加とどのような関連があるのかは、今後明らかにされるべき問題である。

いずれにしてもこれらの結果を考え合わせると、哺乳動物におけるFNGは図3に示すような高マンノース型糖鎖にとどまらず、シアル酸を持つような複合型のFNGも存在することは明らかである。一方このシアリルFNGを含めた細胞内の複合型FNGの代謝機構はあまりよくわかっていない。オートファジーの誘導によってシアリルFNGの量は減少することから、オートファジーは少なくとも細胞質シアリルFNGの代謝に関わりうる⁹³⁾。

我々は先に細胞質シアリダーゼ（NEU2）を発現することで、シアリルFNGの分解が促進することを明らかにした¹²⁶⁾。またごく最近、細胞質に存在するグリコシダー

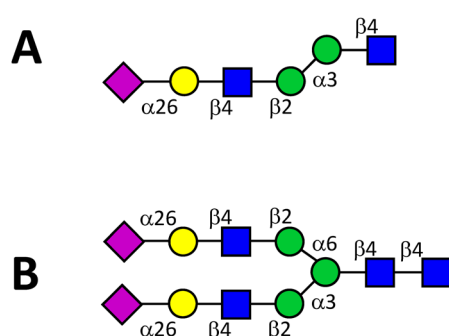


図7 哺乳動物に見いだされる複合型FNG

(A)マウスオートファージ欠損細胞の細胞質にみられる主要なシアリルFNGの構造⁹³⁾。(B)ヒト血清にみられる主要なシアリルFNGの構造¹³²⁾。

ぜであるGBA3をNEU2と共発現することによって、細胞内シアリルFNGの代謝が劇的に促進することがわかった¹³¹⁾。GBA3は細胞質で働く基質特異性の広い β -グリコシダーゼであるが、複合型FNGの β -ガラクトシダーゼとして働く証拠は得られなかった。一方でGBA3はNEU2と物理的に相互作用し、NEU2を安定化させる¹³¹⁾。したがって、GBA3は少なくともNEU2を安定化することでシアリルFNGの代謝に関与することが示された。

10. 細胞外シアリルFNG

リソソーム蓄積病でみられるシアリルFNGは、一般的には細胞内（リソソーム・細胞質）の物質が死細胞から漏出することによるものと考えられている⁹⁾。一方、リソソーム由来糖鎖とまったく構造上異なる特徴を持つシアリルFNGが最近血清中に発見された¹³²⁾。これまでみてきたリソソーム由来シアリルFNGはそのほとんどがGn1型である（図7A）。一方血清中のシアリルFNGはGn2型であり（図7B）、細胞内のGn1型糖鎖とまったく違う生成経路を持つことが容易に想像される。

11. おわりに——コダワリのススめ

以上、FNGの生成、プロセッシング機構に関わる最新の知見を概観してきた。あらためて明らかにすべきことの多さに圧倒される思いである。しかし謎はこれだけではない。何しろ糖鎖修飾のなかで最もよく研究されているN型糖鎖でさえこの状態である。他の糖鎖（O型糖鎖、GPI、糖脂質等）で非リソソーム型の代謝機構が存在するのかどうかの検討は、まったく手つかずといってよい。ましてやその重要性に思いを馳せることなど、ほとんど暴挙に近いかもしれない。しかし、“何もわかっていない”という状況が私にとってこれほどに魅力的に映るのは、歪んだ性格ゆえであろうか。

昨今は研究のツールが整ってきており、新たなプロジェクトに手を出すことが、容易とまではいかなくとも敷居

がだいぶ低くなった、と感じる。ある遺伝子に興味を持ったなら、これまでの研究の蓄積がなくとも発現系からKO細胞・マウスまで比較的短期間で手に入れることが不可能ではない時代である。これまで以上に研究の“切り口”が重要になってくるとともに、いわゆる“流行りの研究”に研究費も研究人口も集中しやすい状況が生み出されている、といえるのかもしれない。“大事な研究”に研究を集中すること自体は決して悪いことではないと思うが、反面研究者の間で研究テーマに対する“こだわり”が薄れている危惧を感じるのには私だけではないであろう。

ある会議でうかがった中川真一さん（理化学研究所）の発言が、今でも耳に残っている。“その研究分野を作り上げた人は、絶対ねつ造なんかしないんですよ。たいていねつ造する人は後追いでその分野に参加した人たちです”——私はその発言を詳細に検証する術を持たないが、けだし至言と感じた。確かにその分野を大事に育ててきた研究者は、たとえデータの解釈に対する誤りはあるにしても、決して恣意的にデータを操作したり不誠実にでっち上げたりはしないであろう。コダワリ、もっといえばそのテーマに対する“愛”が健全な研究の遂行には必須ではなかろうか。

私は幸いなことに、細胞質PNGaseとその機能の研究をこれまで一貫して続けることができた。この研究テーマに注ぐ愛情は人後に落ちない自負がある。とまれ、振り返っても“重要な”研究テーマだけが許される世の中であれば、酵素の遺伝子を見つけることも、*NGLY1*欠損症というヒトの遺伝疾患に出会うこともなかったであろう。なにせN型糖鎖の代謝といえども“リソソーム”というのが大方の常識であるし、出芽酵母の*png1*欠損株はなんら重篤な表現型を示さないのだ。

PNGase/Ngly1が関与する“糖タンパク質の非リソソーム代謝”機構は、まだ遺伝子さえ解明されていない分子が山積、という状態であり、正直なところその“重要性”について云々することも難しい研究分野であることは率直に認めるところである。しかしその不明な分子の中から、“第2、第3の*NGLY1*”が見つからないとはどうしていえようか？昨今（応用研究に比べその重要性がわかりにくい）基礎研究をとりまく環境は決してバラ色ではないものの、私自身は今後も“研究者としての知的好奇心”にしっかり軸足を据えて、現在向き合っている疑問に“コダワって”研究を続けていけることを願っている（願えば叶うわけではないが、願わないことには叶わない。世の理である。）。

謝辞

本研究は故井上康男先生の研究室にて与えられたテーマが発端であり、今の私があるのは多くの先生方の暖かい励ましのお陰です。心より感謝申し上げます。また多くの共同研究者の先生のご協力と、糖鎖代謝学研究チームの研究を日ごろから支えてくれている研究室メンバーの熱意に心より感謝いたします。

文 献

- 1) Schwarz, F. & Aebi, M. (2011) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **21**, 576–582.
- 2) Varki, A. (1993) *Glycobiology*, **3**, 97–130.
- 3) Helenius, A. & Aebi, M. (2004) *Annu. Rev. Biochem.*, **73**, 1019–1049.
- 4) Aebi, M. (2013) *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Research*, **1833**, 2430–2437.
- 5) Harada, Y., Hirayama, H., & Suzuki, T. (2015) *Cell. Mol. Life Sci.*, **72**, 2509–2533.
- 6) Aronson, N.N. Jr. & Kuranda, M.J. (1989) *FASEB J.*, **3**, 2615–2622.
- 7) Winchester, B. (2005) *Glycobiology*, **15**, 1R–15R.
- 8) Suzuki, T. (2009) *Trends Glycosci. Glyc.*, **21**, 219–227.
- 9) Michalski, J.C. (1996) in *New Comprehensive Biochemistry* (Montreuil, J., Vliegenthart, J.F.G., & Schachter, H. eds), Vol. **30**, pp. 55–97, Elsevier Science.
- 10) Suzuki, T., Seko, A., Kitajima, K., Inoue, Y., & Inoue, S. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **194**, 1124–1130.
- 11) Suzuki, T. (2003) 生化学, **75**, 1405–1413.
- 12) Suzuki, T. (2006) 生化学, **78**, 1123–1130.
- 13) Suzuki, T. (2015) *J. Biochem.*, **157**, 23–34.
- 14) Suzuki, T. & Harada, Y. (2014) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **453**, 213–219.
- 15) Suzuki, T. & Funakoshi, Y. (2006) *Glycoconj. J.*, **23**, 291–302.
- 16) Katoh, T., Ashida, H., & Yamamoto, K. (2009) *Trends Glycosci. Glyc.*, **21**, 163–177.
- 17) Nothhaft, H., Liu, X., Li, J.J., & Szymanski, C.M. (2010) *Virulence*, **1**, 546–550.
- 18) Maeda, M. & Kimura, Y. (2014) *Front. Plant Sci.*, **5**, 429.
- 19) Aronson, N.N. Jr., Backes, M., & Kuranda, M.J. (1989) *Arch. Biochem. Biophys.*, **272**, 290–300.
- 20) Shriml, S., Cherepanova, N.A., & Gilmore, R. (2015) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **41**, 71–78.
- 21) Kelleher, D.J., Karaoglu, D., Mandon, E.C., & Gilmore, R. (2003) *Mol. Cell*, **12**, 101–111.
- 22) Szymanski, C.M., Yao, R., Ewing, C.P., Trust, T.J., & Guerry, P. (1999) *Mol. Microbiol.*, **32**, 1022–1030.
- 23) Abu-Qarn, M., Yurist-Doutsch, S., Giordano, A., Trauner, A., Morris, H.R., Hitchen, P., Medalia, O., Dell, A., & Eichler, J. (2007) *J. Mol. Biol.*, **374**, 1224–1236.
- 24) Nasab, F.P., Schulz, B.L., Gamarro, F., Parodi, A.J., & Aebi, M. (2008) *Mol. Biol. Cell*, **19**, 3758–3768.
- 25) Izquierdo, L., Schulz, B.L., Rodrigues, J.A., Guther, M.L., Procter, J.B., Barton, G.J., Aebi, M., & Ferguson, M.A. (2009) *EMBO J.*, **28**, 2650–2661.
- 26) Hese, K., Otto, C., Routier, F.H., & Lehle, L. (2009) *Glycobiology*, **19**, 160–171.
- 27) Cacan, R., Hoflack, B., & Verbert, A. (1980) *Eur. J. Biochem.*, **106**, 473–479.
- 28) Hanover, J.A. & Lennarz, W.J. (1981) *Arch. Biochem. Biophys.*, **211**, 1–19.
- 29) Anumula, K.R. & Spiro, R.G. (1983) *J. Biol. Chem.*, **258**, 15274–15282.
- 30) Gao, N.G., Shang, J., & Lehrman, M.A. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 17901–17909.
- 31) Harada, Y., Buser, R., Ngwa, E.M., Hirayama, H., Aebi, M., & Suzuki, T. (2013) *J. Biol. Chem.*, **288**, 32673–32684.
- 32) Hirayama, H., Seino, J., Kitajima, T., Jigami, Y., & Suzuki, T. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 12390–12404.
- 33) Harada, Y., Masahara-Negishi, Y., & Suzuki, T. (2015) *Glycobiology*, **25**, 1196–1205.
- 34) Suzuki, T., Yano, K., Sugimoto, S., Kitajima, K., Lennarz, W.J., Inoue, S., Inoue, Y., & Emori, Y. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 9691–9696.
- 35) Nothhaft, H., Liu, X., McNally, D.J., Li, J.J., & Szymanski, C.M. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 15019–15024.
- 36) Spiro, M.J. & Spiro, R.G. (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 5311–5317.
- 37) Gao, N., Shang, J., Huynh, D., Manthathi, V.L., Arias, C., Harding, H.P., Kaufman, R.J., Mohr, I., Ron, D., Falck, J.R., & Lehrman, M.A. (2011) *Mol. Biol. Cell*, **22**, 2994–3009.
- 38) Gao, N. & Lehrman, M.A. (2013) *Methods Mol. Biol.*, **1022**, 277–282.
- 39) Hasan, M., Fermaintt, C.S., Gao, N., Sakai, T., Miyazaki, T., Jiang, S., Li, Q.Z., Atkinson, J.P., Morse, H.C. 3rd, Lehrman, M.A., & Yan, N. (2015) *Immunity*, **43**, 463–474.
- 40) Caramelo, J.J. & Parodi, A.J. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 10221–10225.
- 41) Aebi, M., Bernasconi, R., Clerc, S., & Molinari, M. (2010) *Trends Biochem. Sci.*, **35**, 74–82.
- 42) Hosokawa, N., Kamiya, Y., & Kato, K. (2010) *Glycobiology*, **20**, 651–660.
- 43) Benyair, R., Ogen-Shtern, N., & Lederkremer, G.Z. (2015) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **41**, 99–109.
- 44) Moore, S.E.H. & Spiro, R.G. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 12715–12721.
- 45) Moore, S.E.H., Bauvy, C., & Codogno, P. (1995) *EMBO J.*, **14**, 6034–6042.
- 46) Moore, S.E.H. (1998) *Glycobiology*, **8**, 373–381.
- 47) Haga, Y., Totani, K., Ito, Y., & Suzuki, T. (2009) *Glycobiology*, **19**, 987–994.
- 48) Moore, S.E.H. & Spiro, R.G. (1990) *J. Biol. Chem.*, **265**, 13104–13112.
- 49) Spiro, M.J., Bhoyroo, V.D., & Spiro, R.G. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 29356–29363.
- 50) Durrant, C. & Moore, S.E.H. (2002) *Biochem. J.*, **365**, 239–247.
- 51) Hsu, A.F., Baynes, J.W., & Heath, E.C. (1974) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**, 2391–2395.
- 52) Kmiecik, D., Herman, V., Stroop, C.J.M., Michalski, J.C., Mir, A.M., Labiau, O., Verbert, A., & Cacan, R. (1995) *Glycobiology*, **5**, 483–494.
- 53) Peric, D., Durrant-Arco, C., Delenda, C., Dupre, T., De Lonlay, P., de Baulny, H.O., Pelatan, C., Bader-Meunier, B., Danos, O., Chantret, I., & Moore, S.E.H. (2010) *PLoS ONE*, **5**, e11675.
- 54) Vleugels, W., Duvet, S., Peanne, R., Mir, A.M., Cacan, R., Michalski, J.C., Matthijs, G., & Foulquier, F. (2011) *Biochimie*, **93**, 823–833.
- 55) Harada, Y., Nakajima, K., Masahara-Negishi, Y., Freeze, H.H., Angata, T., Taniguchi, N., & Suzuki, T. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 19366–19371.
- 56) Harada, Y., Huang, C., Yamaki, S., Dohmae, N., & Suzuki, T. (2016) *J. Biol. Chem.*, in press.10.1074/jbc.M115.685313
- 57) Belard, M., Cacan, R., & Verbert, A. (1988) *Biochem. J.*, **255**, 235–242.
- 58) Stark, N.J. & Heath, E.C. (1979) *Arch. Biochem. Biophys.*, **192**, 599–609.
- 59) Gershman, H. & Robbins, P.W. (1981) *J. Biol. Chem.*, **256**, 7774–7780.
- 60) Rearick, J.I., Chapman, A., & Kornfeld, S. (1981) *J. Biol. Chem.*, **256**, 6255–6261.
- 61) Turco, S.J. & Pickard, J.L. (1982) *J. Biol. Chem.*, **257**, 8674–

- 8679.
- 62) Baumann, H. & Jahreis, G.P. (1983) *J. Biol. Chem.*, **258**, 3942–3949.
- 63) Doerfler, W.T. & Lehrman, M.A. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 13050–13055.
- 64) Needham, P.G. & Brodsky, J.L. (2013) *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Research*, **1833**, 2447–2457.
- 65) Merulla, J., Fasana, E., Solda, T., & Molinari, M. (2013) *Traffic*, **14**, 767–777.
- 66) Suzuki, T., Park, H., & Lennarz, W.J. (2002) *FASEB J.*, **16**, 635–641.
- 67) Suzuki, T. (2007) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **18**, 762–769.
- 68) Hirayama, H., Hosomi, A., & Suzuki, T. (2015) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **41**, 110–120.
- 69) Suzuki, T., Huang, C., & Fujihira, H. (2016) *Gene*, **577**, 1–7.
- 70) Hirsch, C., Blom, D., & Ploegh, H.L. (2003) *EMBO J.*, **22**, 1036–1046.
- 71) Misaghi, S., Pacold, M.E., Blom, D., Ploegh, H.L., & Korbel, G.A. (2004) *Chem. Biol.*, **11**, 1677–1687.
- 72) Blom, D., Hirsch, C., Stern, P., Tortorella, D., & Ploegh, H.L. (2004) *EMBO J.*, **23**, 650–658.
- 73) Kario, E., Tirosh, B., Ploegh, H.L., & Navon, A. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 244–254.
- 74) Huang, C., Harada, Y., Hosomi, A., Masahara-Negishi, Y., Seino, J., Fujihira, H., Funakoshi, Y., Suzuki, T., Dohmae, N., & Suzuki, T. (2015) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 1398–1403.
- 75) Chalkley, R.J., Thalhammer, A., Schoepfer, R., & Burlingame, A.L. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 8894–8899.
- 76) Trinidad, J.C., Barkan, D.T., Gullledge, B.F., Thalhammer, A., Sali, A., Schoepfer, R., & Burlingame, A.L. (2012) *Mol. Cell. Proteomics*, **11**, 215–229.
- 77) Trinidad, J.C., Schoepfer, R., Burlingame, A.L., & Medzihradsky, K.F. (2013) *Mol. Cell. Proteomics*, **12**, 3474–3488.
- 78) Nagae, M., Morita-Matsumoto, K., Arai, S., Wada, I., Matsumoto, Y., Saito, K., Hashimoto, Y., & Yamaguchi, Y. (2014) *Glycobiology*, **24**, 693–702.
- 79) Kim, Y.C., Jähren, N., Stone, M.D., Udeshi, N.D., Markowski, T.W., Witthuhn, B.A., Shabanowitz, J., Hunt, D.F., & Olszewski, N.E. (2013) *Plant Physiol.*, **161**, 455–464.
- 80) Hart, G.W. (2014) *J. Biol. Chem.*, **289**, 34422–34423.
- 81) Bond, M.R. & Hanover, J.A. (2015) *J. Cell Biol.*, **208**, 869–880.
- 82) Suzuki, T., Park, H., Hollingsworth, N.M., Sternglanz, R., & Lennarz, W.J. (2000) *J. Cell Biol.*, **149**, 1039–1051.
- 83) Kato, T., Kitamura, K., Maeda, M., Kimura, Y., Katayama, T., Ashida, H., & Yamamoto, K. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 22080–22088.
- 84) Chantret, I., Fasseu, M., Zaoui, K., Le Bizec, C., Yaye, H.S., Dupre, T., & Moore, S.E.H. (2010) *PLoS ONE*, **5**, e11734.
- 85) Suzuki, T., Hara, I., Nakano, M., Shigeta, M., Nakagawa, T., Kondo, A., Funakoshi, Y., & Taniguchi, N. (2006) *Biochem. J.*, **400**, 33–41.
- 86) Kato, A., Wang, L., Ishii, K., Seino, J., Asano, N., & Suzuki, T. (2011) *J. Biochem.*, **149**, 415–422.
- 87) Wang, L. & Suzuki, T. (2013) *J. Biol. Chem.*, **288**, 11887–11896.
- 88) Paciotti, S., Persichetti, E., Klein, K., Tasegian, A., Duvet, S., Hartmann, D., Gieselmann, V., & Beccari, T. (2014) *J. Biol. Chem.*, **289**, 9611–9622.
- 89) Grard, T., Herman, V., SaintPol, A., Kmiecik, D., Labiau, O., Mir, A.M., Alonso, C., Verbert, A., Cacan, R., & Michalski, J.C. (1996) *Biochem. J.*, **316**, 787–792.
- 90) Kumano, M., Omichi, K., & Hase, S. (1996) *J. Biochem.*, **119**, 991–997.
- 91) Saint-Pol, A., Bauvy, C., Codogno, P., & Moore, S.E. (1997) *J. Cell Biol.*, **136**, 45–59.
- 92) Saint-Pol, A., Codogno, P., & Moore, S.E.H. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 13547–13555.
- 93) Seino, J., Wang, L., Harada, Y., Huang, C.C., Ishii, K., Mizushima, N., & Suzuki, T. (2013) *J. Biol. Chem.*, **288**, 26898–26907.
- 94) Chantret, I., Frenoy, J.P., & Moore, S.E.H. (2003) *Biochem. J.*, **373**, 901–908.
- 95) Hirayama, H. & Suzuki, T. (2011) *Glycobiology*, **21**, 1341–1348.
- 96) Chantret, I., Kodali, V.P., Lahmouich, C., Harvey, D.J., & Moore, S.E. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 41786–41800.
- 97) Hossain, T.J., Hirayama, H., Harada, Y., & Suzuki, T. (2016) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **80**, 152–157.
- 98) Tarentino, A.L., Gomez, C.M., & Plummer, T.H. Jr. (1985) *Biochemistry*, **24**, 4665–4671.
- 99) Suzuki, T., Seko, A., Kitajima, K., Inoue, Y., & Inoue, S. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 17611–17618.
- 100) Fan, J.Q. & Lee, Y.C. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 27058–27064.
- 101) Kaartinen, V., Mononen, T., Laatikainen, R., & Mononen, I. (1992) *J. Biol. Chem.*, **267**, 6855–6858.
- 102) Strecker, G., Peers, M.C., Michalski, J.C., Hondiassah, T., Fournet, B., Spik, G., Montreuil, J., Farriaux, J.P., Maroteaux, P., & Durand, P. (1977) *Eur. J. Biochem.*, **75**, 391–403.
- 103) Dorland, L., Haverkamp, J., Vliegthart, J.F.G., Strecker, G., Michalski, J.C., Fournet, B., Spik, G., & Montreuil, J. (1978) *Eur. J. Biochem.*, **87**, 323–329.
- 104) Kuriyama, M., Ariga, T., Ando, S., Suzuki, M., Yamada, T., & Miyatake, T. (1981) *J. Biol. Chem.*, **256**, 2316–2321.
- 105) Abraham, D., Blakemore, W.F., Jolly, R.D., Sidebotham, R., & Winchester, B. (1983) *Biochem. J.*, **215**, 573–579.
- 106) van Pelt, J., Kamerling, J.P., Vliegthart, J.F., Hoogeveen, A.T., & Galjaard, H. (1988) *Clin. Chim. Acta*, **174**, 325–335.
- 107) Van Pelt, J., Van Kuik, J.A., Kamerling, J.P., Vliegthart, J.F., Van Diggelen, O.P., & Galjaard, H. (1988) *Eur. J. Biochem.*, **177**, 327–338.
- 108) van Pelt, J., Hard, K., Kamerling, J.P., Vliegthart, J.F., Reuser, A.J., & Galjaard, H. (1989) *Biol. Chem. Hoppe Seyler*, **370**, 191–203.
- 109) Bruggink, C., Poorthuis, B.J., Piraud, M., Froissart, R., Deelder, A.M., & Wuhrer, M. (2010) *FEBS J.*, **277**, 2970–2986.
- 110) Bruggink, C., Poorthuis, B.J., Deelder, A.M., & Wuhrer, M. (2012) *Anal. Bioanal. Chem.*, **403**, 1671–1683.
- 111) Boomkamp, S.D., Rountree, J.S.S., Neville, D.C.A., Dwek, R.A., Fleet, G.W.J., & Butters, T.D. (2010) *Glycoconj. J.*, **27**, 297–308.
- 112) Xia, B.Y., Asif, G., Arthur, L., Pervaiz, M.A., Li, X.L., Liu, R.P., Cummings, R.D., & He, M. (2013) *Clin. Chem.*, **59**, 1357–1368.
- 113) Song, Z., Li, S.C., & Li, Y.T. (1987) *Biochem. J.*, **248**, 145–149.
- 114) Fisher, K.J. & Aronson, N.N. Jr. (1992) *J. Biol. Chem.*, **267**, 19607–19616.
- 115) Park, C., Meng, L., Stanton, L.H., Collins, R.E., Mast, S.W., Yi, X.B., Strachan, H., & Moremen, K.W. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 37204–37216.
- 116) Persichetti, E., Klein, K., Paciotti, S., Lecointe, K., Balducci, C., Franken, S., Duvet, S., Matzner, U., Roberti, R., Hartmann, D., Gieselmann, V., & Beccari, T. (2012) *BBA Mol. Basis Dis.*, **1822**, 1137–1146.
- 117) Jones, M.Z. & Laine, R.A. (1980) *Fed. Proc.*, **39**, 2082–2082.
- 118) Daniel, P.F., Warren, C.D., & James, L.F. (1984) *Biochem. J.*,

- 221, 601–607.
- 119) Tulsiani, D.R.P., Broquist, H.P., James, L.F., & Touster, O. (1984) *Arch. Biochem. Biophys.*, **232**, 76–85.
 - 120) Matsuura, F. & Jones, M.Z. (1985) *J. Biol. Chem.*, **260**, 5239–5245.
 - 121) Abraham, D., Daniel, P., Dell, A., Oates, J., Sidebotham, R., & Winchester, B. (1986) *Biochem. J.*, **233**, 899–904.
 - 122) Hancock, L.W., Jones, M.Z., & Dawson, G. (1986) *Biochem. J.*, **234**, 175–183.
 - 123) Hard, K., Mekking, A., Kamerling, J.P., Dacremont, G.A.A., & Vliegthart, J.F.G. (1991) *Glycoconj. J.*, **8**, 17–28.
 - 124) Jones, M.Z., Rathke, E.J.S., Gage, D.A., Costello, C.E., Murakami, K., Ohta, M., & Matsuura, F. (1992) *J. Inherit. Metab. Dis.*, **15**, 57–67.
 - 125) Ohashi, S., Iwai, K., Mega, T., & Hase, S. (1999) *J. Biochem.*, **126**, 852–858.
 - 126) Ishizuka, A., Hashimoto, Y., Naka, R., Kinoshita, M., Kakehi, K., Seino, J., Funakoshi, Y., Suzuki, T., Kameyama, A., & Nari-matsu, H. (2008) *Biochem. J.*, **413**, 227–237.
 - 127) Misonou, Y., Shida, K., Korekane, H., Seki, Y., Noura, S., Ohue, M., & Miyamoto, Y. (2009) *J. Proteome Res.*, **8**, 2990–3005.
 - 128) Yabu, M., Korekane, H., Hatano, K., Kaneda, Y., Nonomura, N., Sato, C., Kitajima, K., & Miyamoto, Y. (2013) *Glycobiology*, **23**, 634–642.
 - 129) Yabu, M., Korekane, H., Takahashi, H., Ohigashi, H., Ishikawa, O., & Miyamoto, Y. (2013) *Glycoconj. J.*, **30**, 247–256.
 - 130) Huang, C., Seino, J., Wang, L., Haga, Y., & Suzuki, T. (2015) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **79**, 553–557.
 - 131) Wang, L., Seino, J., Tomotake, H., Funakoshi, Y., Hirayama, H., & Suzuki, T. (2015) *Biomolecules*, **5**, 1499–1514.
 - 132) Iwatsuka, K., Watanabe, S., Kinoshita, M., Kamisue, K., Yamada, K., Hayakawa, T., Suzuki, T., & Kakehi, K. (2013) *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **928**, 16–21.

著者寸描

●鈴木 匡 (すずき ただし)



理化学研究所グローバル研究クラスター
研-マックスプランク連携研究センター
システム糖鎖生物学研究グループ糖鎖代
謝学研究チーム チームリーダー。博士
(理学)。

■略歴 1969年宮城県に生れる。97年
東京大学大学院理学系研究科生物化学専
攻博士課程修了。その後4年余の留学生
活を経て2001年さきがけ研究員として

帰国。東京大学特任助手 (02年～)，大阪大学特任准教授 (04
年～) を経て，07年より現職。

■研究テーマと抱負 糖鎖の新規な代謝機構の分子機構と，そ
の生理機能の解明。細胞質PNGaseは発見から20年以上経過
し，漸くヒトの遺伝疾患に関わる重要な分子である，と判明し
ました。私の現興味は未同定の酵素，トランスポーターに向け
られつつあります。どうしても知りたい。その一点です。

■ウェブサイト http://www.riken.jp/research/labs/grc/riken_max_planck/sys_glycobiol/glycometabolome

■趣味 妻との週末散歩 (寺社巡り，野鳥観察，山登りなど)。
楽器演奏 (トロンボーン)。