

本院要聞

醣化酵素互動新發現 決定醣蛋白上醣分子的組成、功能與疾病的關係

中央研究院基因體研究中心特聘研究員翁啟惠院士研究團隊，關於探究與癌細胞惡化有密切關聯的酵素 FUT8 之論文，已於 7 月 5 日發表於《美國化學會期刊》(Journal of the American Chemical Society)。此研究結果不但確定 FUT8 對醣分子有選擇性，更進一步配合質譜研究，釐清其於細胞內醣化的步驟，並發現新的醣化調控機制，這項成果對於蛋白質醣化的研究及之後蛋白藥物的研發，均具有影響力。

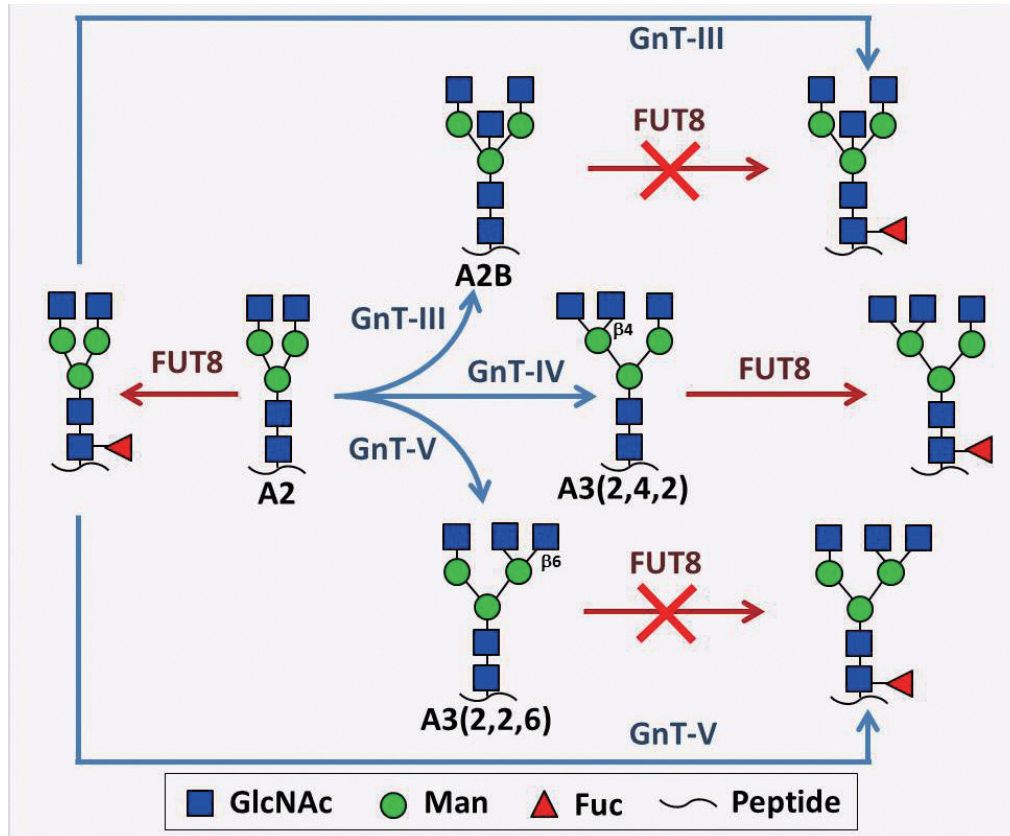
人體中的蛋白質有半數以上會被醣化，但是為什麼蛋白質會帶有醣分子，在科學界卻一直沒有很具體的答案。舉例來說，為什麼人的血型是因為紅血球上醣分子的差異所決定？在流感病毒入侵宿主時，為什麼病毒上的血球凝集素 (hemagglutinin) 會先和宿主細胞上含有唾液酸 (sialic acid) 的醣分子結合？都是目前科學界仍無法完整回答的問題。目前已知醣蛋白在生物體內扮演各種重要的功能，隨著蛋白質藥物快速發展，醣蛋白上醣分子的作用也愈來愈被重視。醣蛋白上醣分子的變異，便是細胞癌化的一個重要指標，像帶有核心岩藻醣的甲型胎兒蛋白-L3 (alpha-fetoprotein-L3，簡稱 AFP-L3)，是早期肝癌的生物標記，其靈敏度比只檢測甲型胎兒蛋白還高，因此解開醣蛋白上的醣分子是如何影響蛋白功能，是醣蛋白學界重要的課題。

醣蛋白上的醣分子對醣蛋白三度空間結構的形成、穩定度、功能，有著決定性的影響，但即便科學家們已經了解醣蛋白上醣分子的結構，至今仍無法有效地調控醣蛋白或細胞表面醣分子結構的生成。這其中的困難在於，在醣分子生合成的過程中，有多種醣轉移酶 (glycosyltransferases) 相互競爭，也相互影響醣分子生合成的路徑，造成一個醣蛋白上會有各種不同組成的醣分子。例如，在人體內，光是岩藻醣轉移酶 (fucosyltransferases，簡稱 FUT) 就有至少 13 種，而 N-乙醯葡萄糖胺轉移酶 (N-acetylglucosaminyltransferases，簡稱 GnT) 也至少有八種之多，它們所認識的醣分子皆有不同。

「第八型岩藻醣轉移酶」(fucosyltransferase 8，簡稱 FUT8)，是負責在醣蛋白加上核心岩藻醣的醣化酵素，「核心岩藻醣」的出現，會阻擾抗體的功能，也跟發育、癌症有關聯。因此，若要強化抗體的效力，必須排除「核心岩藻醣」，也就是說，必須找出阻擋 FUT8 把醣鑲嵌到蛋白的方式。

為了探討 FUT8 這個酵素對醣分子的選擇性，並釐清細胞內醣化的步驟，研究團隊結合化學法及酵素法，包括醣切酶 (glycosidases) 及三種 GnT，合成出不同的醣分子接在肽上，藉以了解到底 FUT8 認識哪些醣分子，進而對核心岩藻醣作修飾。結果顯示，FUT8 可以作用在特定「三觸 (tri-antennary) 結構」的醣分子 (如下圖)。

為了觀察細胞中醣化的變化，研究團隊與該中心林俊利老師的質譜實驗室合作，使用超高溫多孔性石墨碳液相層析質譜分析 (high-temperature porous graphitic carbon liquid chromatography-mass spectrometry，簡稱 HT-PGC LC-MS) 來分析醣分子，結果有效地區分出三種同分異構的醣分子 (A2B，A3(2,4,2)，A3(2,2,6)，見下圖)，發現到新的醣化調控機制。



研究發現，經過GnT-III及GnT-V修飾後的醣分子，幾乎無法被FUT8認識，而GnT-IV修飾過的三觸醣分子，則會很容易地被FUT8認識，而將岩藻醣加到醣分子的核心位置。

這些研究成果讓我們更了解蛋白質的醣化過程，除了可以延伸至觀察細胞癌化過程中，醣分子結構如何產生變異，進而找到更好的醣分子癌症標記，如本研究中所發現，細胞裡面若GnT-IV有高度表現的情形，就會影響到醣分子的結構。此外，因為釐清了醣轉移酶之間是如何的交互影響，我們就能進而設計出適合的醣分子結構，以開發更有效的醣蛋白藥物。

此研究成果已發表於《美國化學會期刊》(Journal of the American Chemical Society)，論文標題為：「Substrate Preference and Interplay of Fucosyltransferase 8 and N-Acetylglucosaminyltransferases」(DOI: 10.1021/jacs.7b03729)，第一作者為國立陽明大學微生物免疫學研究所的博士生曾子豪同學，徐翠玲助技師協助指導。此研究由中研院登峰計畫補助。

論文網址：<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jacs.7b03729>