

## Glikoziltransferaza Gmh5 iz kvasca *Schizosaccharomyces pombe* funkcionalni je homolog $\alpha$ -1,6-manoziltransferaze Mnn10, ključne za preradu N-glikana

### SAŽETAK

*Pozadina istraživanja.* Glikoziltransferaze predstavljaju veliku i raznoliku skupinu enzima koji kataliziraju prijenos šećernih ostataka na proteine i lipide, čime reguliraju ključne stanične procese, kao što su kontrola kakvoće proteina i biosinteza stanične stijenke. U kvascima su enzimi O-manoziltransferaze i druge glikoziltransferaze presudne za održavanje integriteta stanične stijenke. Iako su funkcije mnogih od tih enzima dobro opisane, uloga nekih, poput Gmh5p, još uvijek nije razjašnjena. Svrha je ovog istraživanja bila rasvijetliti funkciju Gmh5p, prethodno neokarakterizirani enzim iz obitelji glikoziltransferaza GT34, u kontekstu biosinteze proteina i stanične stijenke u kvascu *Schizosaccharomyces pombe*.

*Ekperimentalni pristup.* Proveli smo probir gena prisutnih u više kopija koji suprimiraju uvjetno letalnu mutaciju *nmt81-oma2<sup>+</sup>* u svrhu identifikacije proteina i puteva što kompenziraju smanjenu O-manozilaciju. Enzimska aktivnost Gmh5p je biokemijski okarakterizirana, a njezina funkcionalna sličnost s poznatim manoziltransferazama procijenjena je dodatnim pokusima na kvascu *Saccharomyces cerevisiae*. Uz to, istražena je N-glikozilacija modelnih supstrata na sojevima mutanata *gmh5Δ*.

*Rezultati i zaključci.* Gmh5p je identificirana kao supresor defekata u procesu O-manozilacije. Suprotno predviđanjima, Gmh5p nije pokazala  $\alpha$ -1,2-galaktoziltransferaznu aktivnost, nego je iskazala manoziltransferaznu aktivnost. Ekspresija gena *gmh5<sup>+</sup>* u mutantima kvasca *S. cerevisiae* *mnn10Δ* obnovila je toleranciju na higromicin gotovo do razine divljeg tipa. Nadalje, N-glikozilacija modelnih supstrata bila je smanjena u mutantima *gmh5Δ*. Ovi rezultati pokazuju da je manoziltransferaza Gmh5p uključena u produljenje vanjskog lanca N-vezanih glikana, te da djeluje kao homolog Mnn10p.

*Novina i znanstveni doprinos.* Ovo istraživanje donosi prvu funkcionalnu karakterizaciju Gmh5p kao manoziltransferaze iz obitelji GT34 i potvrđuje njezinu ulogu u biosintezi N-glikana. Naši rezultati proširuju sadašnje razumijevanje raznolikosti i specifičnosti glikoziltransferaza u eukariotima, te naglašavaju njihovu važnost u biologiji stanične stijenke.

**Ključne riječi:** glikoziltransferaza Gmh5; manoziltransferaza; N-glikozilacija; O-manozilacija; *Schizosaccharomyces pombe*; integritet stanične stijenke