

## HIV 予防薬開発を目指したアクチノヒビンと糖鎖との構造解析 Structural analyses of actinohivin with glucan for development of HIV preventer

角田大<sup>1,\*</sup>, 鈴木薫<sup>1</sup>, 武田陽一<sup>2</sup>, 伊藤幸成<sup>2,3</sup>, 田中晴雄<sup>1</sup>

<sup>1</sup>いわき明星大学薬学部, 〒970-8551 いわき市中央台飯野 5-5-1

<sup>2</sup>科学技術振興機構 ERATO 伊藤グライコトリロジープロジェクト, 〒351-0198 和光市広沢 2-1

<sup>3</sup>(独)理化学研究所伊藤細胞制御化学研究室, 〒351-0198 和光市広沢 2-1

Masaru Tsunoda<sup>1,\*</sup>, Kaoru Suzuki<sup>1</sup>, Yoichi Takeda<sup>2</sup> and Yukishige Ito<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Pharmacy, Iwaki Meisei University, 5-5-1 Chuodai-iino, Iwaki, 970-8551, Japan

<sup>2</sup>ERATO, Japan Science and Technology Agency (JST), Ito Glycotriology project, 2-1 Hirosawa, Wako, 351-0198, Japan

<sup>3</sup>Synthetic Cellular Chemistry Laboratory, RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako 351-0198, Japan

### 1 はじめに

AIDS がウイルス感染症と報告されて以来およそ 30 年が経過しているが、いまだに治療薬は確立されず、副作用の問題がある上にどの薬剤を使用しても効かない症例が増えている。このような現状を打開すべく、我々は HIV がヒト細胞へ感染することを阻止し、さらに薬剤耐性を発症しない作用機構を持った、新しいレクチン (アクチノヒビン:AH) を発見し、さらに AH は、HIV の表面から突き出た糖タンパク質(gp120)の HMTG に結合することで、ウイルスの細胞への接着と進入を低濃度で阻害することを明らかにした。本課題では、AH をより効果的な新しい感染薬剤として改変するための構造基盤を確立することを目的に、既に結晶が得られている AH[1] とマンノビオース(Man2)[2],[3]およびマンノトリオース(Man3)との糖複合体の構造解析を進めると同時に、AH が標的とする gp120 および関連糖鎖との複合体の構造解析によって、AH と糖鎖とのより詳細な糖結合機構の解明を行う。

### 2 方法

放線菌が分泌した AH を高純度精製した。ハンギングドロップ蒸気拡散法にて、リン酸緩衝液に、ポリエチレングリコール、硫酸アンモニウムを沈殿剤として加え、Man3 との共結晶化を行った。約 1 ヶ月後、得られた結晶を用いて PF-AR NW12A および PF-BL5A にて回折実験を行った。回折強度データの処理は HKL2000 を用いて行い、立体構造の構築は、糖鎖を含まない AH の構造をサーチモデルとして、

MOLREP により分子置換法により初期構造を得た。その後、REFMAC で精密化を行い、coot にて糖鎖構造を構築した。

### 3 結果および考察

AH と Man3 との共結晶の回折データは最大分解能 1.3 Å で得られた。結合しているマンノトリオースの三つのマンノースのうち、二つの糖は、マンノビオースの結合様式と同様であった。

ところが、三つ目の糖の電子密度は十分ではなく、その位置決定に時間を要した。様々な結晶化条件も試しているが、未だその構造の決定には至っていない。

また、外套タンパク質 gp120 との複合体においては、両者の混合による沈殿が激しく、解析に十分な結晶が得られていない。

### 4 まとめ

AH と Man3 の共結晶化及び回折データ収集に成功した。今後はさらなる結晶化条件の検討、回折データ収集を行い、三つ目のマンノースの位置の決定を行う。

### 参考文献

- [1] H.Tanaka *et al*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 15633 (2009).
- [2] K.Suzuki *et al*, *Acta Cryst.* **D69**, 1818 (2013).
- [3] F. Zhang *et al*, *Chembiochem.* **15**, 2766 (2014)

\* masaru@iwakimu.ac.jp