

溶血性レクチンの多量体化機構の解明 Elucidation of the oligomerization mechanism of hemolytic lectin

郷田秀一郎*, 長尾知直, 海野英昭, 畠山智充

長崎大学大学院工学研究科物質科学部門, 〒852-8521 長崎市文教町 1-14

Shuichiro Goda,* Tomonao Nagao, Hideaki Unno and Tomomitsu Hatakeyama

¹Division of Chemistry and Materials Science, Graduate School of Engineering, Nagasaki University, 1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki, 852-8521, Japan

1 はじめに

ナマコ的一种である海産無脊椎動物グミ (*Cucumaria echinata*) は溶血性レクチン CEL-III を持つ[1]。CEL-III は細胞表面の糖鎖を認識し、結合、その後多量体化することによって孔(pore)を形成する[2]。この孔形成によってウサギ赤血球に対して溶血活性を示す。すでに単量体の立体構造が解明されており、糖結合ドメインであるドメイン1, 2及び多量体に関与すると考えられているドメイン3の3つのドメインから成り立っている[3]。また、人工的な溶液条件下での多量体化が確認されており、CEL-III は高塩濃度、高 pH 溶液中で、糖及びカルシウムが存在すると多量体化して 21 量体を形成する[4]。しかしながら、一般的に孔を形成するタンパク質は 7 量体もしくは 8 量体を形成するものの報告が多く、CEL-III 多量体も SDS-PAGE では 7 量体の位置にバンドが確認されている。そこで、界面活性剤存在下で X 線小角散乱測定(SAXS) を行い、界面活性剤存在下では、7 量体に解離することを報告している[5]。しかしながら、多量体化における構造変化は明らかとなっていない。そこで溶液中でタンパク質の立体構造変化の測定が可能な X 線小角散乱法によって、多量体化中の構造変化の測定を行った。

2 実験

X 線小角散乱測定は BL-10C にて行った。カメラ長は~80 cm、検出器には R-AXIS VII を用いた。試料にはグミから調製した CEL-III を用い、人工的な多量体化条件である、高塩濃度、高 pH、糖、カルシウム存在下の構成要素の組み合わせを変えて測定を行った。

3 結果および考察

人工的な多量体化溶液条件のうち、それぞれ一つのみ、二つ、三つの組み合わせをすべて測定し、その構造変化を Kratky plot を作成して比較した。その結果、高 pH、高塩濃度、糖、カルシウムの 4 つの条件のうち、一つのみを加えても単量体と大きな違いは見られず、単量体のまま存在していると考えられた。そこで、二つを加えたところ、高塩濃度、高 pH の時にのみ単量体とは異なり、大きく立体構造が崩壊している時(ランダムコイル様)に見られる

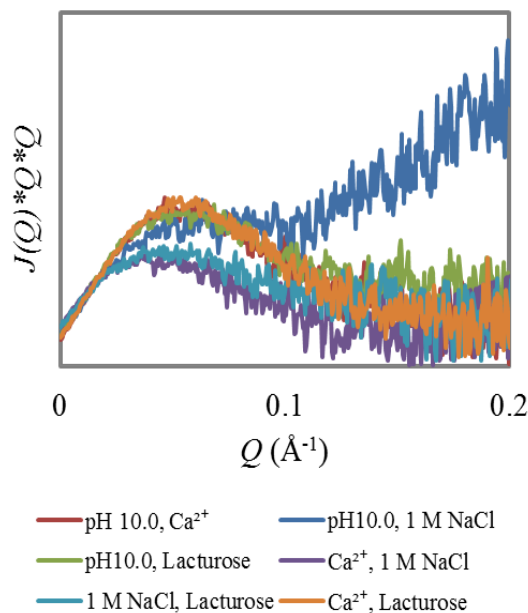


図1：種々の溶液条件下での Kratky plot。多量体化を促進する条件のうち、2条件を満たしている。

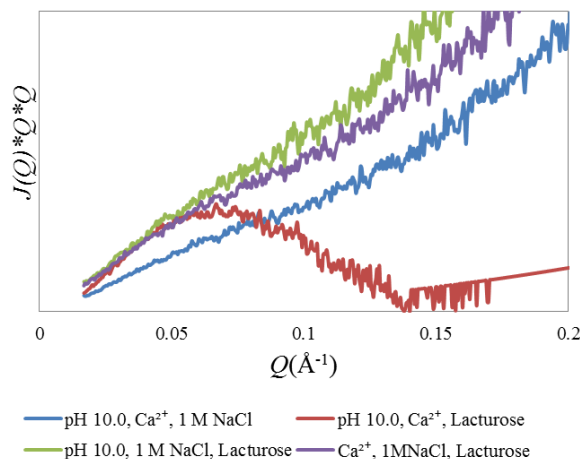


図2：種々の溶液条件下での Kratky plot。多量体化を促進する条件のうち、3条件を満たしている。

曲線となった。同様に 4 つの条件のうち 3 つを加えたものでは、高 pH、糖、カルシウム存在下でのみ

単量体と似た曲線となり、それ以外では、ランダムコイル様の構造となっていると考えられた。これらの結果は、4つの構成要素がすべてそろった時のみ多量体化が起こっており、その条件のうち、pHが高く、塩濃度が高い時に構造が大きく変化していることを示していた。また、すべての条件がそろわないと多量体化しないことから、糖結合ドメインへの糖及びカルシウムの結合が多量体化に必須であることを示していた。

単量体の立体構造解析より、糖結合ドメインであるドメイン1、2と多量体化に関与するドメイン3の間にはイオン結合が存在しており、高塩濃度、高pHがそれらの相互作用を弱め、多量体化への構造変化を促進し、かつ糖結合ドメインへの糖結合が多量体化に寄与していると示唆された。

参考文献

- [1] T. Hatakeyama *et al.*, *J. Biochem.* **116**, 209 (1994).
- [2] T. Hatakeyama *et al.*, *J. Biol. Chem.* **270**, 3560 (1995).
- [3] T. Hatakeyama *et al.*, *J. Biol. Chem.* **282**, 37826 (2007).
- [4] T. Hatakeyama *et al.*, *J. Biol. Chem.* **271**, 16915 (1996).
- [5] S. Goda *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **77**, 679 (2013)

* sgoda@nagasaki-u.ac.jp