

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^{1,*}, 鈴木薫¹, 武田陽一², 伊藤幸成^{2,3}, 田中晴雄¹

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

²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

³(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^{1,*}, Kaoru Suzuki¹, Yoichi Takeda² and Yukishige Ito^{2,3}

¹Faculty of Pharmacy, Iwaki Meisei University, 5-5-1 Chuodai-iino, Iwaki, 970-8551, Japan

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

³Synthetic 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]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 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

測定した回折データの最大分解能は 1.30 Å、空間群 C2、格子定数 a=99.0 Å、b=27.2 Å、c=57.0 Å、β=119.8°、R_{merge} は 0.080 であった。構造精密化は R_{factor} が 0.14 まで行った。

電子密度は、AH 分子および Man3 のビオース部分はとても良く原子の位置と一致していた。主として二つ目のマンノースが AH の側鎖と水素結合をつくり、糖の認識に関与していることがわかった (図 1)。三つのマンノースのうちの最後の一つは、不十分な電子密度しか得られなかった。しかし、立体的配置から、Man²側に結合することが推察される。

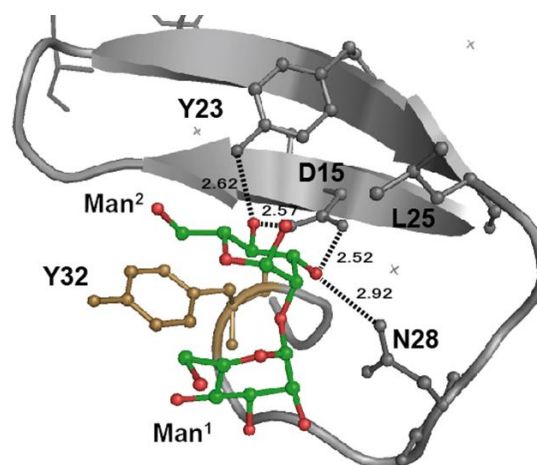


図 1 Man3 のマンノビオース部位の結合様式

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).

* masaru@iwakimu.ac.jp