

## X線結晶構造解析を用いたガレクチン9のN末側糖鎖認識ドメインの糖認識機構の研究

長江雅倫<sup>1</sup>、西望<sup>2</sup>、中村隆範<sup>2</sup>、若槻壮市<sup>1</sup>、加藤龍一<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>高エネ研・物構研・PF・構造生物センター、<sup>2</sup>香川大・医)

Structural basis for sugar recognition mechanism of Galectin-9 N-terminal CRD

Masamichi Nagae<sup>1</sup>, Nozomu Nishi<sup>2</sup>, Takanori Nakamura<sup>2</sup>, Soichi Wakatsuki<sup>1</sup>, Ryuichi Kato<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Structural Biology Research Center, PF, IMSS, KEK, <sup>2</sup>Faculty of Medicine, Kagawa University)

ガレクチンはガラクトシドに特異的に結合するレクチンであり、糖鎖との相互作用はCRD (carbohydrate recognition domain) と呼ばれる保存されたドメインを介して行われる。一次配列におけるCRDの配置からガレクチンは3つのクラス(プロト、キメラ、タンデムリピート)に分類されている。そのうち、1つの分子中に2つのCRDを持つタンデムリピート型ガレクチンについては、N末端およびC末端それぞれのCRDで糖鎖の結合の親和性が異なり、またCRDが複数存在する事で糖鎖に対して高い親和性を示すようになるなどの興味深い性質を示すが、その分子機構は明らかにされていない。また、タンデムリピート型のなかでガレクチン9は、抗腫瘍作用を示すことから臨床応用的にも着目されている。我々は、ガレクチン9がどのような分子機構で糖鎖を認識し、その生理機能を発現しているかの解明をめざしている。現在、全長の構造解析と平行してそれぞれのCRD単独のX線結晶構造解析を進めている。

我々は、マウス由来ガレクチン9のN末端CRDを大腸菌で発現させ、その精製標品の結晶化を行い、CRD単体及び4種類の糖鎖との複合体のX線結晶構造解析に成功した。明らかになった立体構造は、プロトタイプよりもキメラタイプに類似していた。興味深いことに、N末端CRDは全ての結晶内で同じ様式の二量体を形成しており、この二量体形成様式は既知のものとは異なり新規なものであった。表面プラズモン共鳴を用いた測定で、溶液中でCRD同士が1対1の量比で結合することが明らかになった。また、糖鎖結合領域の分子表面は正の電荷に偏っており、これまで知られている多くのガレクチンが負の電荷分布を示すのとは対照的であった。糖鎖複合体で糖のしめる部分は、CRD単体においては水分子に置き換わっており、結果として糖の結合の有無によるCRD自身の構造変化はほとんど見られなかった。糖鎖との結合様式についてはガラクトシドの位置が全ての糖鎖複合体間で共通しており、ラクトース (Gal $\beta$ 1-4Glc)、T抗原 (Gal $\beta$ 1-3GalNAc)、Nアセチルラクトサミン (Gal $\beta$ 1-4GlcNAc) との異なる糖鎖複合体間で構造変化はほとんど観察されず、より複雑な糖鎖での親和性の差はこれら以外の領域によると考えられた。またNアセチルラクトサミン二量体(LN2)との複合体では一つの糖鎖が複数のタンパク質分子によって認識されていた。