

ヒト由来ガレクチン4のC末端ドメインと糖鎖との複合体のX線結晶構造解析

小田俊一朗¹, 工藤紀雄¹, 小林正則¹, 井手尾浩子², 瀬古玲², 山下克子², 若槻壮市¹,
加藤龍一¹

(¹高エネ研・物構研・構造生物, ²佐々木研究所・生化学部)

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る。ガレクチンと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。ガレクチンはCRDの配置からプロト、キメラ、タンデムリピートの3つのサブタイプに分類される。

ガレクチン4はCRDを2個有するタンデムリピート型に分類され、ヒトでは小腸および大腸で強く発現している。ガレクチン4の生理的な機能は未だ明らかにされていないが、CRDを持つことから特異的な糖鎖と結合し、免疫応答などの機能と関連している可能性が考えられる。*in vitro*の研究により、ガレクチン4は硫酸化糖鎖に特に強く結合することが示されている。本研究は、構造生物学的な側面から、ガレクチン4の糖鎖認識機構を解明することを目的として行った。

我々は、ヒト由来ガレクチン4の硫酸化糖鎖への特異性を決定づけていると考えられているC末端CRDについて、糖鎖との複合体のX線結晶構造解析を行った。ラクトースとの複合体の結晶はKEKのタンパク質結晶化システムによる初期スクリーニングによって得られ、その結晶を用いてPFAR-NW12Aにおいて回折実験を行った結果、1.39 Å分解能の回折データを得ることができた。この結晶の空間群は $P2_12_12_1$ で、格子定数は $a = 40.9$, $b = 54.7$, $c = 58.7$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ であった。ガレクチン9のN末端CRDをモデルとして、分子置換法による位相決定を行い、1.39 Å分解能までのデータを用いて精密化を行った。得られたモデルは146個のアミノ酸残基と239個の水分子を含み、R値とR_{free}値はそれぞれ17.4%および19.3%である。

硫酸化糖鎖との複合体の結晶は、ラクトース複合体結晶の条件を基にシッティングドロップ蒸気拡散法を用いて展開することで得た。ラクトース複合体結晶と同様にPFAR-NW12Aにおいて回折実験を行った結果、1.18 Å分解能の回折データを得ることができた。この結晶の空間群は $P2_12_12_1$ で、格子定数は $a = 39.9$, $b = 55.6$, $c = 58.0$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ であった。ラクトース複合体の構造をモデルとして、分子置換法による位相決定を行い、1.18 Å分解能までのデータを用いて構造の精密化を行った。得られたモデルは146個のアミノ酸残基と253個の水分子を含み、R値とR_{free}値はそれぞれ17.8%および20.1%である。

得られた構造とアミノ酸配列の比較から、糖鎖認識に関わるが他のガレクチンで保存されていないアミノ酸が、ガレクチン4のC末端CRD特有の糖鎖認識機構で重要であると推定した。そこで現在、その部位特異的な変異体を作成し、この変異体と硫酸化糖鎖との複合体の結晶構造解析を進めている。