

マウス及びヒト由来ガレクチン 9 N 末端糖鎖認識ドメインの認識特異性に関する構造生物学的研究

長江雅倫¹、中村祥子²、西望³、中村隆範³、平林淳²、若槻壮市¹、加藤龍一¹

¹,KEK、PF、構造生物学研究センター

²,産業技術総合研究所、糖鎖工学研究センター

³,香川大学医学部

ガレクチンはガラクトシドに特異的に結合する動物レクチンファミリーで、現在 15 種類のアイソフォームが知られている。糖鎖との結合は糖鎖結合ドメイン (CRD) という約 130 アミノ酸からなる保存性の高いドメインを介して行われる。15 種類のメンバーは、この CRD の配向によりプロト型、キメラ型、タンデムリピート型の 3 つのサブファミリーに分けられる。このうちタンデムリピート型は CRD を N 末端と C 末端の両方に持ち、短いリンカー配列によって繋がれている。ガレクチン 9 はタンデムリピート型に分類され、生体内で T 細胞へのアポトーシス誘導や好酸球遊走活性などの役割を担っている。これらの生理機能は糖鎖への結合が必須であり、特異的な標的糖鎖との相互作用を解明することが生理機能を理解する上で重要だと考えられている。

私達のグループでは最近、マウス由来ガレクチン 9 N 末端 CRD について糖鎖なし及び 4 種類の糖鎖との複合体の立体構造を X 線結晶構造解析により決定した。その結果、これまで報告されたことのない新規な二量体形成が見られ、その相互作用は結晶中のみならず溶液中でも確認された。ガレクチン 9 は哺乳類に幅広く存在するが、その配列保存性は約七割程度とあまり高くはない。ヒト由来のガレクチン 9 とマウス由来のものとのアミノ酸配列の一致度も約七割であった。そこで次に我々は、ヒト由来ガレクチン 9 N 末端 CRD の糖鎖複合体の X 線結晶構造解析を行った。その結果、ヒト由来ガレクチン 9 N 末端 CRD はマウス由来のものとは異なり結晶中では単量体で存在していた。表面プラズモン共鳴を用いてガレクチン 9 N 末端 CRD の溶液中での分子間相互作用を測定したところ、マウス由来のものに比べてヒト由来のものは著しく相互作用が低下していた。さらにフロンタルアフィニティークロマトグラフィーを用いてマウス及びヒト由来のガレクチン 9 N 末端 CRD に対する既知の糖鎖との結合プロファイルを測定したところ、両者の間には著しい差異が認められた。結晶構造からこれらの生化学的な性質の違いは蛋白質表面に位置するアミノ酸の違いに由来することが予想され、変異体を用いた結合実験からこの予想が正しいことが確認された。

Reference

Nagae, M., Nishi, N., Murata, T., Usui, T., Nakamura, T., Wakatsuki, S., Kato, R., *J.Biol.Chem.* **281**, 35884-35893 (2006)