

# イチョウ種子由来レクチンGnk2の構造解析と 真菌リン酸化マンナン認識

○宮川拓也<sup>1)</sup>, 宮園健一<sup>1)</sup>, 澤野頼子<sup>1)</sup>, 秦野賢一<sup>2)</sup>, 田之倉優<sup>1)</sup>

東京大学大学院農学生命科学研究科<sup>1)</sup>, 群馬大学工学部<sup>2)</sup>

植物は、抗菌性の二次代謝産物やタンパク質を使った強力な防御機構を備えている。また、植物に病原菌が感染してから抗菌物質が産生されるまでには、病原菌の認識とそれに続く細胞応答を引き起こす様々な機構も存在する。最近、我々はイチョウの種子(ギンナン)に存在する新規の抗真菌タンパク質 Gnk2 を同定した。Gnk2 は 108 残基からなり、*Fusarium oxysporum* や *Candida albicans* のような植物や人に感染する真菌の生育を阻害できる。Gnk2 は、特徴的なシステイン残基の配列をもつ植物特異的な機能未知ドメイン(DUF26)からなり、モデル植物のシロイヌナズナの染色体にコードされている Cysteine-rich receptor-like kinase (CRK)の細胞外領域にも存在する。CRK は植物において最も新しく分類された受容体型キナーゼのサブファミリーであり、シロイヌナズナの染色体に 42 種類の遺伝子がコードされている。また、CRK は植物病原菌の感染によって引き起こされる細胞死応答の過敏感反応に関与することが知られているため、DUF26 は植物病原菌の認識にとって重要なタンパク質モジュールとして機能することが予想される。

Gnk2 の抗真菌活性における病原菌認識機構の解明を目的とし、X 線結晶解析による立体構造の決定と核磁気共鳴(NMR)を用いた標的分子との相互作用解析をおこなった。Gnk2 は 5 本の  $\beta$  スtrandからなる 1 枚の逆平行  $\beta$  シートと 2 本の  $\alpha$  ヘリックスからなる立体構造を形成しており、C 末端側 56-108 残基で構成される DUF26 を含めて分子全体として 1 つのドメイン構造であった。また、DUF26 に保存されている C-X<sub>8</sub>-C-X<sub>2</sub>-C モチーフは、構造モチーフとしてジスルフィド結合を形成し、Gnk2 の安定化に寄与していることが明らかとなった。一方、NMR を用いて標的分子を探索したところ、Gnk2 は真菌の細胞表層に存在するリン酸化マンナンに対して特異的に結合することが示された。リン酸化マンナンは複雑な糖鎖構造を有するが、Gnk2 は 2 つの異なる領域を使って、リン酸化マンナン中の  $\alpha$  1,2 結合マンノース鎖とリン酸基を認識していた。マンノース結合領域は、 $\beta$  シート上に形成されており、Asn11, Arg93, Glu104 がマンノース認識に重要であることが示唆された。また、1 番目の  $\alpha$  ヘリックス上には正電荷表面が形成されており、この表面でリン酸基を静電的に認識していることが示唆された。Gnk2 は、こうした性質の異なる 2 つの結合領域を使うことにより、真菌のもつリン酸化マンナンを特異的に認識する機能を獲得したと考えられる。これらの知見に基づくと、DUF26 は Gnk2 構造の核となる重要な領域であるが、機能ドメインとしては Gnk2 全長そのものが担っているといえる。CRK の細胞外領域は、Gnk2 に相同な領域が 2-4 回繰り返すことにより占められており、この Gnk2 相同領域が糖鎖などの病原菌に由来する物質の認識に機能している可能性が示唆される。