

酵素回折計ユーザーグループ

溶血性レクチン CEL-III の多量体化中間体構造の X 線小角散乱による解析

郷田秀一郎・長崎大学工学部

海産無脊椎動物グミ (*Cucumaria echinata*) 由来レクチン CEL-III は、分子量 47500、 Ca^{2+} 依存性、GalNAc 特異的であり、赤血球表面の糖鎖を認識・結合・多量体化により孔形成し溶血活性を示す。単量体の立体構造は、すでに明らかとしているが、会合体の構造・及びその形成機構は不明である。グミ抽出液より得られた単量体は、高 pH・高塩濃度・ Ca^{2+} 及び糖存在下といった人工的溶液条件下で多量体化することが明らかとなっている。そこで、人工的溶液条件下での中間体構造の解明のために X 線小角散乱測定(SAXS)を行った。人工的条件下で多量体化したものは、SDS-PAGE では 270 k 付近(六量体)にバンドを示すものの、SAXS 測定では約 1000 k(25 量体)とより高分子量であった。そこで界面活性剤存在下で測定を行ったところ、六量体に解離していた。このことは、人工多量体は界面活性剤に対する耐性を持った溶血活性を示す最小のユニットである六量体が会合し、更なる多量体を形成していることを示唆している。中間体の構造解析は、人工的溶液条件の組合せを変えて測定を行った。その結果、高 pH、高塩濃度溶液中で、 Ca^{2+} もしくは糖非存在下では、Kratky プロットより、立体構造の大きな崩壊が見られた。同条件下での CD スペクトルには大きな変化が見られなかったことから、中間体は二次構造には大きな変化がないが、立体構造は大きく変化することが示唆された。