

軟サンゴ由来レクチンの結晶構造

喜田昭子¹・神保 充²・森本幸生¹・酒井隆一³・神谷久男²・三木邦夫⁴
¹京大原子炉・²北里大海洋生命科学・³北大院水産科学院・⁴京大院理

軟サンゴ *Sinularia lochmodes* の産生するレクチン, SLL-2は, サンゴの消化管内に共生する褐虫藻と呼ばれる渦鞭毛藻に対して興味深い活性を示す. サンゴから分離培養した褐虫藻は「遊泳細胞」から「栄養細胞」と呼ばれる全く異なった形態へと変化する日周を繰り返し増殖するが, 遊泳細胞に SLL-2 を作用させると細胞は栄養細胞へと誘導され, 日周を示さずに増殖する. サンゴ内で褐虫藻は栄養細胞の状態で生育する. また, 免疫組織化学的な観察より, 褐虫藻の表面に SLL-2が付着していることが明らかになった. これらのことから, SLL-2は, サンゴ内で褐虫藻を栄養細胞へと誘導することで共生を維持する化学因子であると考えられる. SLL-2は対応する遺伝子の塩基配列より94アミノ酸残基からなり, ガラクトース結合活性を持つことがわかっている. 我々は, SLL-2の糖鎖認識機構を明らかにし, その作用機構について情報を得るために, 結晶化と構造解析を進めている.

SLL-2の糖鎖非存在下での結晶化(Native)により, 菱形板状結晶を得た. 結晶構造解析より, SLL-2の単量体は, 6本の β ストランドから構成される β サンドイッチ構造をとっており, さらに, SLL-2単量体6個が6量体を形成していることがわかった. また Asn60 に N-グリコシド結合している糖鎖を確認することができた. SLL-2の各単量体に1カ所ずつ糖鎖結合部位が存在していた.

SLL-2と, 十分量の GalNAc(N-アセチルガラクトサミン)の共結晶化を行ったところ立方体結晶が得られ, 電子密度図より全ての糖鎖結合部位に GalNAc分子を1つずつ結合している様子がはっきりと観測できた(SLL-2G). 一方, SLL-2を, 少量の GalNAc と共結晶化したところ, 立方体結晶と菱形板状結晶の混在するバッチが得られた. 両者の反射強度データを収集して構造解析を行ったところ, 立方体結晶はSLL-2Gと同じ分子構造であったが, 菱形板状結晶は6カ所の糖結合部位のうちの3カ所に GalNAc が, 3カ所に結晶化に用いた2-メチル2, 4-ペンタンジオール(MPD)が結合したヘテロ6量体構造をとっていることがわかった. このことから, SLL-2が貧糖鎖環境において安定なヘテロ6量体を形成できることが明らかになった.