

最近の研究から

輸送レクチン VIP36 による高マンノース型糖鎖認識の構造基盤

佐藤匡史¹, Nathan P. Cowieson², 袴田 航³, 井手尾浩子^{4,5}, 福島慶子^{4,5}, 栗原正明³, 加藤龍一¹, 山下克子^{4,5}, 若槻壮市¹

¹高エネ研・物構研・構造生物学研究センター, ²Queensland 大学・Institute for Molecular Bioscience, ³国立医薬品食品衛生研究所・有機化学部, ⁴東京工業大学・イノベーション研究推進体, ⁵科学技術振興事業機構 CREST

Structural Basis for Recognition of High Mannose Type Glycan by Transport Lectin VIP36

Tadashi Satoh¹, Nathan P. Cowieson², Wataru Hakamata³, Hiroko Ideo^{4,5}, Keiko Fukushima^{4,5}, Masaaki Kurihara³, Ryuichi Kato¹, Katsuko Yamashita^{4,5} and Soichi Wakatsuki¹

¹Structural Biology Research Center, Photon Factory, Institute of Materials Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization ²Institute for Molecular Bioscience, University of Queensland, Australia ³Division of Organic Chemistry, National Institute of Health Sciences ⁴Innovative Research Initiatives, Tokyo Institute of Technology ⁵CREST, Japan Science and Technology Agency

1. はじめに

細胞の中には膜によって仕切られた細胞内小器官（オルガネラ）があり、それぞれのオルガネラは専門の機能を担っている。これらオルガネラは「輸送小胞」を介して、相互に積み荷（タンパク質や脂質）のやりとりをしている。この輸送小胞による積み荷タンパク質の輸送は、厳密にコントロールされていて、送り手側のオルガネラに留まるべきタンパク質と受け手側のオルガネラへと送り出されるタンパク質の選別が行われている。細胞質領域をもつ膜タンパク質は、膜の細胞質側に局在している輸送小胞と直接結合でき、選別・輸送される [1]。一方、細胞質側の領域を持たない可溶性のタンパク質の選別・積み込みは、積み荷タンパク質と輸送小胞を同時に結合して繋ぐ膜貫通型の積み荷タンパク質レセプターがこれを担っている [2]。

小胞体で生合成されてくるタンパク質の多くは N 型糖鎖修飾を受けるが、輸送小胞への選別と N 型糖鎖には密接な関係があることがわかっている。すなわち、マンノース 6 リン酸受容体 (MPR), VIP36, ERGIC-53, Emp46/47p などが積み荷タンパク質の N 型糖鎖を荷札として、選別・積み込みを行う積み荷タンパク質レセプター（輸送レクチン）として機能していることが明らかにされている [3-5]。その中でも P-type (mannose-6-phosphate) レクチンファミリーに分類されるカチオン依存性および非依存性 MPR の構造生物学的研究は進んでおり、それぞれ糖鎖結合型および非結合型の構造が明らかにされている [6-9]。一方、L-type (leguminous-like) レクチンファミリーでは、これまでにラット由来 ERGIC-53 の Ca²⁺ 結合型および非結合型, Emp46p の K⁺ 結合型および非結合型, Emp47p の金属非結合型の構造が明らかにされているが [10-12], 積み荷糖タンパク質および糖鎖との複合体構造は解析されていない。また近年, ERGIC-53 の遺伝子変異により, 糖タンパク質である血液凝固因子 (第 V 因子および第 VIII 因子) の小胞体からゴルジ体への輸送に機能的障害を生じ,

血友病と同様の出血性症状を呈する疾病が引き起こされることが明らかにされた [13]。従って, これら輸送レクチンの立体構造研究は, 糖タンパク質輸送に関わる疾患についての理解を深め, 最終的にはその治療の道へと繋げるための重要な課題の一つである。高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所の若槻壮市教授を中心とする構造生物学研究センターのグループは, 東京工業大学の山下克子教授, 国立医薬品食品衛生研究所の袴田航主任研究官 (現) 日本大学生物資源科学部, 専任講師) のグループとの共同研究で, VIP36 と糖鎖との複合体の高分解能 X 線結晶構造解析に成功した [14]。本稿では, 高分解能を示す単結晶が得られるまでの経緯も併せて, Ca²⁺ 依存性の輸送レクチン VIP36 について紹介する。

2. VIP36 の結晶化, 回折データ収集および構造決定

イヌ由来の VIP36 は, グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) との融合タンパク質として大腸菌で発現させ, 各種クロマトグラフィーにより精製を行った。結晶化はハンギングドロップ蒸気拡散法で行った。まず最初に, ERGIC-53 および Emp46/47p の結晶構造 [10-12] を基に糖鎖認識ドメイン (CRD) に対応する 51-278 残基を用いたコンストラクトを作成した。結晶は 20°C において短時間で様々な結晶化条件で得られたものの (Fig. 1a), いずれもモザイク性が高く多結晶であったため, 回折データ収集に適したものではなかった。このコンストラクトを用い, さらに他の結晶化条件の検討を行ったが, いずれも全く改善は認められなかった。我々はこの実験と並行して, VIP36 が C 末端に短い stalk ドメインを持つことから, CRD に加えて様々な長さの stalk ドメインを持つコンストラクト (51-286, 51-295, 51-301, 51-322 残基) を作成し, 結晶化を試みていた。しかしながら, 数週間に渡り 4°C および 20°C で仕込んだ結晶化プレートの観察を続けたが, 結晶を確認することが出来なかった。4°C で仕込んだ結晶

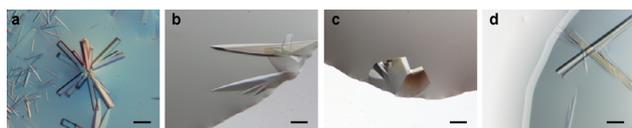


Figure 1

Crystals of VIP36. (a) The crystals of VIP36 CRD (residues 51-278). (b) The crystals of Ca^{2+} -bound VIP36 CRD with stalk domain (residues 51-301). (c) The crystals of $\text{Ca}^{2+}/\text{Man}_2$ -bound VIP36 CRD with stalk domain (residues 51-301). (d) The crystals of $\text{Ca}^{2+}/\text{Man}_3\text{GlcNAc}$ -bound VIP36 CRD with stalk domain (residues 51-301). A black bar indicates 0.1 mm.

化プレート 20 枚, 計 1920 条件を定期的に観察するのはハードな実験であったこと, CRD (51-278 残基) の結晶化条件の検討に重点を置いていたため, 仕込んでから 1 ヶ月後の観察を怠っていた。その後, 筆者は一向に改善されない CRD の結晶に嫌気がさし, 4°C で仕込んだ結晶化プレートを約 3 ヶ月ぶりに観察した。その結果, 51-301 残基のコンストラクトのみにおいて, 全く新しい条件で結晶らしき物体を発見し, その後結晶化条件の最適化を行ったところ, 数日で美しい結晶を得る事が出来た (Fig. 1b)。ドメインの結晶化を進めるに当たって, 筆者は教訓として「コンストラクトは削るだけでなく, 延ばしたものも試す」, 「 4°C での結晶観察は怠らない」の 2 点を再認識させられた。ちなみに現在, 高エネ研・構造生物学研究センターには低温温室での結晶観察自動化装置が導入されており, タンパク質結晶の量産に役立っている。

VIP36 の Ca^{2+} 結合型の結晶は, PF-AR NW12A ビームラインを用いて 1.80 \AA 分解能で回折データを収集した。構造解析は, ERGIC-53 の Ca^{2+} 結合型の CRD をサーチモデルとして分子置換法で行った。空間群は $C2$ で, 非対称単位中に 2 分子の VIP36 が存在していた。 Ca^{2+} 非結合型の結晶は, Ca^{2+} 非存在下では結晶が全く得られなかったことから, Ca^{2+} 結合型の結晶に 10 mM EDTA を浸漬して調製した。回折データは PF-AR NW12A を用いて 2.10 \AA 分解能で収集した。これまでに VIP36 は生化学的実験から N 型糖鎖の高マンノース型糖鎖, 特に $\text{Man}-\alpha 1,2-\text{Man}$ 結合を多く持つ D1 アームを認識することが明らかにされている [15,16]。そこで我々は, 高マンノース型糖鎖の D1 アームおよびその近傍の糖鎖構造に一致する様々な長さの種類糖鎖を用いて複合体の解析を行った。 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mannose}$ (Man) 結合型は Ca^{2+} 結合型の結晶に 50 mM Man を浸漬して調製した。 $\text{Ca}^{2+}/\text{Man}-\alpha 1,2-\text{Man}$ (Man_2) および $\text{Ca}^{2+}/\text{Man}-\alpha 1,2-\text{Man}-\alpha 1,3-\text{Man}$ (Man_3) 結合型は, 共結晶化 (モル比 1 : 10) により調製した (Fig. 1c, d)。一方, $\text{Man}-\alpha 1,2-\text{Man}-\alpha 1,2-\text{Man}$, $\text{Man}-\alpha 1,2-\text{Man}-\alpha 1,3-\text{Man}$ および $\text{Man}-\alpha 1,3-\text{Man}-\beta 1,4-\text{GlcNAc}$ 糖鎖を用いての共結晶化も試みたが, 回折データの収集に適した結晶を得る事が出来なかった。 $\text{Ca}^{2+}/\text{Man}_2$ 結合型の格子常数は Ca^{2+} および $\text{Ca}^{2+}/\text{Man}$ 結合型のものとほぼ同じであった。一方, $\text{Ca}^{2+}/\text{Man}_3\text{GlcNAc}$ 結合型の空間群および格子常数は Ca^{2+} および $\text{Ca}^{2+}/\text{Man}_{1,2}$ 結合型のものと全く異なっており, 空間群は $P2_12_12_1$ で非対称単位中に 5 分子の VIP36 が存在して

いた (Table 1, Appendix 参照)。 $\text{Ca}^{2+}/$ 糖鎖結合型の回折データの収集は全て PF BL-5A で行った。Table 1 に結晶学的データ, 回折データおよび精密化の統計値を示す。

3. 糖鎖認識ドメイン (CRD) と stalk ドメイン

VIP36 の CRD の全体構造は, L-type レクチンによく見られる凹型および凸型 β シートからなる β サンドイッチ構造から構成されていた (Fig. 2a)。ERGIC-53 および Emp46/47p の CRD と比較してみると, アミノ酸配列の同一性は 18-34% とさほど高くないが, その全体構造はよく似ていた (root mean square deviation = $0.8-1.2 \text{ \AA}$)。一方 stalk ドメインは, 大部分はループ構造からなり, 二次

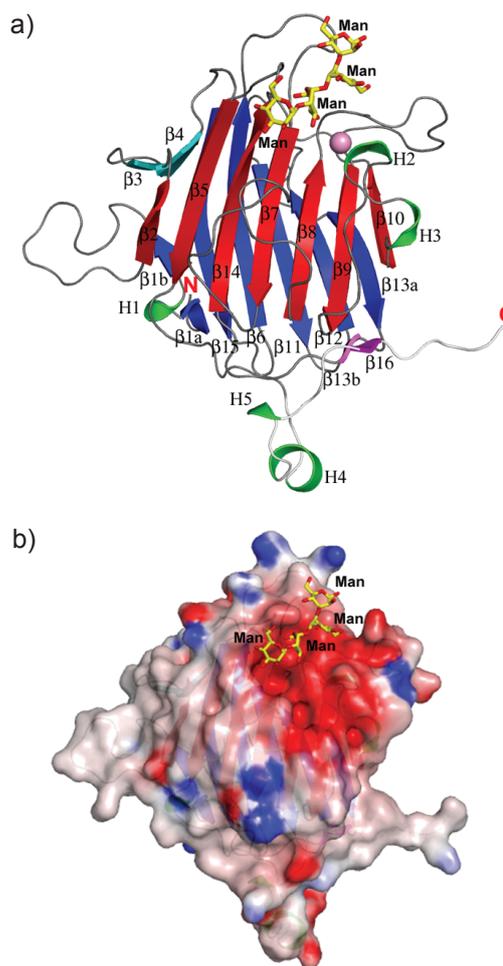


Figure 2

Overall structure of the exoplasmic/luminal domain of VIP36. The secondary structures are highlighted (β -strands belonging to the concave β -sheets, red; β -strands belonging to convex β -sheets, blue; β -strands belonging to β -hairpin, cyan; β -strands belonging to the short β -sheet formed between the stalk domain and one of the loops of the CRD, magenta; helices, green), and the loops of the CRD and stalk domain are colored gray and white, respectively. The bound Ca^{2+} is shown as a pink sphere. The bound oligomannoses are superimposed from the VIP36 complex structures with $\text{Man}-\alpha 1,2-\text{Man}$ (Man_2) and $\text{Man}-\alpha 1,2-\text{Man}-\alpha 1,3-\text{Man}$ (Man_3) and are shown as a yellow stick model. The reducing-end mannose residue in the Man_2 -bound form is omitted because its position is almost the same as that of the $\text{Man}_3\text{GlcNAc}$ -bound form. The surface models (b) are shown in the same orientations as in (a) and colored according to the electrostatic surface potential (blue, positive; red, negative; scale from -10 to $+10 \text{ kT/e}$).

構造は α ヘリックス (H4) に続き、 3_{10} ヘリックス (H5), CRD の $\beta 13b$ と逆平行 β シートを形成する β ストランド ($\beta 16$) が存在していた。また Ca^{2+} および Ca^{2+}/Man_{1-2} 結合型において、stalk ドメインは結晶学的な対称分子と水素結合を介して相互作用し、主に逆平行 β シート (297-299 残基) を形成していた。恐らくこの stalk ドメインを介した結晶中での相互作用が VIP36 結晶化成功の鍵であったと思われる。

ERGIC-53 および Emp46/47p の stalk ドメインは約 140-200 残基からなり、coiled-coil 構造を持つと推測され、多量体を形成することが明らかになっている [17,18]。一方、VIP36 の stalk ドメインは約 40 残基で ERGIC-53 や Emp46/47p のものと比較すると約 100-160 残基短く、coiled-coil 構造を持たないと予想されている。また、超遠心分析法および化学架橋剤を用いた実験から、VIP36 は生体内において単量体で存在すると推測されている [19]。実際、我々もゲルろ過クロマトグラフィーにより VIP36 が単量体で存在し、結晶構造解析により stalk ドメインの半分にあたる 279-301 残基は coiled-coil 構造を形成しないことを明らかにした。以上の結果から、生体内において VIP36 は ERGIC-53 や Emp46/47p とは異なり単量体で機能することが強く示唆された。

4. Ca^{2+} 依存的に糖鎖と結合

VIP36 の Ca^{2+} 結合部位は、豆科レクチンや ERGIC-53 と同じ様に凹んだ β シート上の負に荷電したポケットに存在していた (Fig. 2b)。しかしながら、豆科レクチンや ERGIC-53 とは異なり VIP36 の金属結合部位は Ca^{2+} の 1 箇所のみであった。豆科レクチンや ERGIC-53 では、VIP36 で見られた Ca^{2+} 結合部位に加えて、2つ目の金属結合部位が存在する (Fig. 3)。豆科レクチンでは Mn^{2+} (S1), ERGIC-53 では Ca^{2+} (M1) がさらに結合し、1つ目の Ca^{2+} 結合部位 (S2 もしくは M2) の安定化に寄与しているが、それらの金属結合部位は豆科レクチンと ERGIC-53 間で保存されていない。豆科レクチンでは、1つ目の Ca^{2+} (S2) が糖鎖リガンドと相互作用するアミノ酸側鎖を固定させていることが結晶構造解析により明らかにされている [20]。VIP36 は 1 分子の Ca^{2+} としか結合しない新奇の L-type レクチンであると言える。

これまでに生化学的実験により、ERGIC-53 および VIP36 は Ca^{2+} 依存性の輸送レクチンであることが示唆されているが [16,21], それらの詳細なメカニズムは明らかにされていない。そこで我々は、 Ca^{2+} 結合型に加えて Ca^{2+} 非結合型の構造解析を行い、 Ca^{2+} が結合することにより Ca^{2+} と (直接もしくは水分子を介して) 結合している Asp131, Asn166, His190 の側鎖が動くことを明らかにした (Fig. 4)。後で詳しく述べるが、 Ca^{2+} /糖鎖結合型の構造では豆科レクチンで報告された構造の様に、 Ca^{2+} が糖鎖リガンドと相互作用するアミノ酸側鎖 (Asp131, Asn166, His190) を固定させており (Fig. 5), VIP36 の Ca^{2+} 依存性の糖鎖認識メカニズムが詳細に明らかになった。

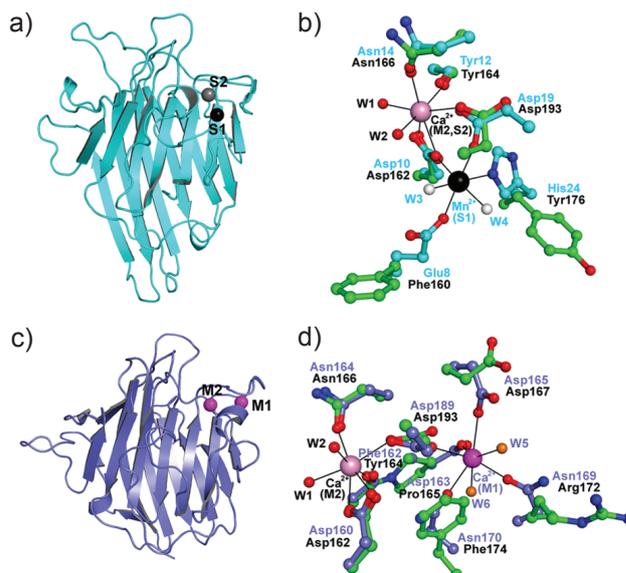


Figure 3

(a) Overall structure of ConA monomer. The bound Mn^{2+} (S1) and Ca^{2+} (S2) are shown as large black and gray spheres, respectively. (b) Comparison between VIP36 (green) and ConA (cyan) metal-binding site structures. Residues of VIP36 and ConA are labeled in black and cyan, respectively. The Ca^{2+} in VIP36 is shown as a large pink sphere. Because the position of Ca^{2+} at the S2 site in ConA is almost the same as in VIP36, it is not shown. Water molecules found in the S1 site of ConA are shown as small white spheres and are labeled W3 and W4. (c) Overall structure of ERGIC-53 CRD. The bound Ca^{2+} are shown as large magenta spheres (M1 and M2). (d) Comparison between VIP36 (green) and ERGIC-53 (purple) Ca^{2+} -binding site structures. Because the position of Ca^{2+} at the M2 site in ERGIC-53 is almost the same as in VIP36, it is not shown. Water molecules found in the M1 site of ERGIC-53 are shown as small orange spheres and are labeled W5 and W6. Residues involved in the metal binding are shown as ball-and-stick models.

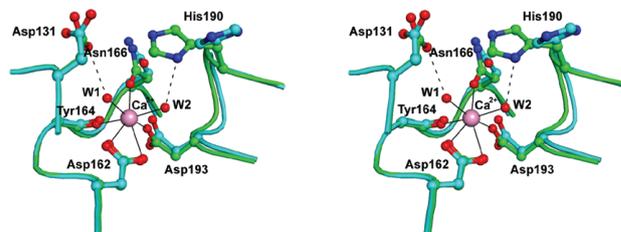


Figure 4

Ca^{2+} -binding site and its conformational changes upon Ca^{2+} binding of VIP36. The Ca^{2+} -bound and metal-free structures are shown in stereo and colored in green and cyan, respectively. Residues coordinating Ca^{2+} and those with notable conformational changes are shown in ball-and-stick models. Water molecules are labeled W1 and W2. Ca^{2+} -coordinating bonds are solid lines, and hydrogen bonds are dotted lines.

5. 高マンノース型糖鎖の D1 アームを特異的に認識

これまでの生化学的実験により、VIP36 が高マンノース型糖鎖の D1 アームを認識することが明らかにされている [15,16]。そこで我々は高マンノース型糖鎖の D1 アームおよびその近傍の糖鎖構造に一致する Man, Man_2 および $Man_3GlcNAc$ 結合型の立体構造解析を行った。 $Man_3GlcNAc$ 結合型では、VIP36 は GlcNAc 残基を認識していないため、電子密度は観測されなかった。糖鎖リガンドは、予

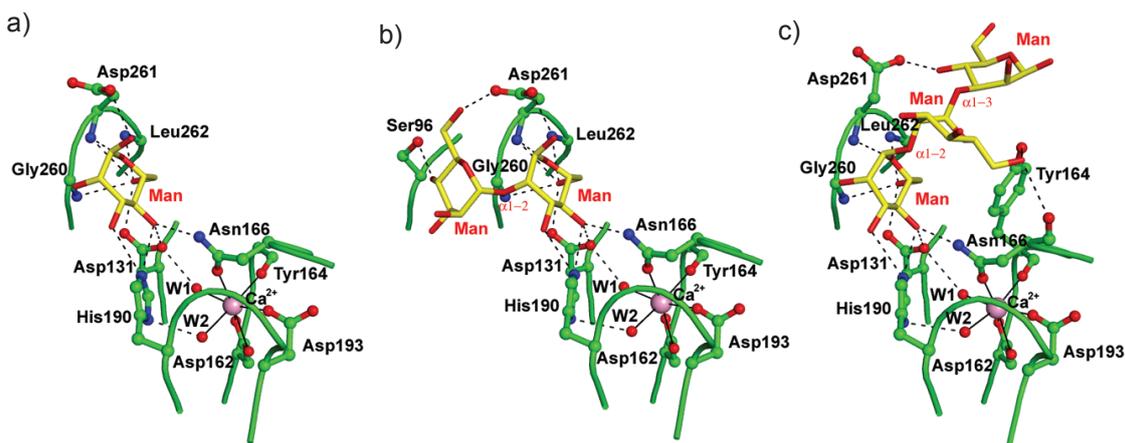


Figure 5

Carbohydrate ligand-binding site of VIP36. (a) Structure of mannose and Ca^{2+} -binding site of VIP36. (b) Structure of $\text{Man-}\alpha\text{-1,2-Man}$ (Man_2) and Ca^{2+} -binding site of VIP36. (c) Structure of $\text{Man-}\alpha\text{-1,2-Man-}\alpha\text{-1,3-Man}$ (Man_3) and Ca^{2+} -binding site of VIP36. The bound carbohydrate residues are shown as *yellow stick* models. Residues of VIP36 binding to the ligands are shown in *ball-and-stick* models.

想通り豆科レクチンで報告されている構造の様だに凹んだ β シート上の Ca^{2+} に近接したポケットに結合していた (Fig. 2)。Man 結合型の糖結合サイトは、 Man_2 および $\text{Man}_3\text{GlcNAc}$ 結合型の構造でも共通して存在しており、アミノ酸残基との相互作用が最も多く観測された (Fig. 5)。この糖結合サイトは、 Ca^{2+} と結合している Asp131, Asn166, His190 の側鎖および Gly260, Asp261, Leu262 の主鎖から構成されていた。以上 3 種の糖鎖との複合体と生化学的データの結果を併せて考察すると、VIP36 は Ca^{2+} 依存的に高マンノース型糖鎖の D1 アームに一致する $\text{Man-}\alpha\text{1,2-Man-}\alpha\text{1,2-Man}$ という糖鎖構造を厳密に認識していることが明らかになった。また、この結果に基づき VIP36 と高マンノース型糖鎖 ($\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2$) との複合体モデルを作製したところ、VIP36 と D1 アーム以外の糖鎖との間に目立った立体障害がないことが確認された (Fig. 6a)。

通常高マンノース型糖鎖の D1 アームは細胞内小器官のシスゴルジにおいて、ゴルジマンノシダーゼ I によりトリミングされることが知られている。従って、VIP36 はトランスゴルジネットワークに輸送される積み荷タンパク質を輸送する場合、積み荷タンパク質の高マンノース型糖鎖の D1 アームと結合することでゴルジマンノシダーゼ I によるトリミングを回避しながら、目的地に運ぶことが考えられる。一例として、積み荷タンパク質の一つとして明らかにされている唾液 α アミラーゼと VIP36 の複合体モデルを示す (Fig. 6b)。輸送レクチン VIP36 は糖鎖を荷札にして、このように膜の上で結合して目的地に積み荷タンパク質を輸送させると考えられる。

我々の報告 [14] とほぼ同時に、東京大学大学院新領域創成科学研究科の山本一夫教授らのグループにより、VIP36 の新たな相互作用分子 BiP が同定された [22]。BiP は小胞体分子シャペロンの一つで、その報告によると VIP36 と BiP は糖鎖を介さないタンパク質・タンパク質の相互作用で結合し、小胞体において共局在することが示さ

れている。今後、VIP36 の様々な細胞を用いた細胞内局在の解析、更なる積み荷タンパク質の同定およびその糖鎖構造の解析により、VIP36 による高マンノース型糖タンパク質の輸送メカニズムの理解がさらに深まることが期待される。

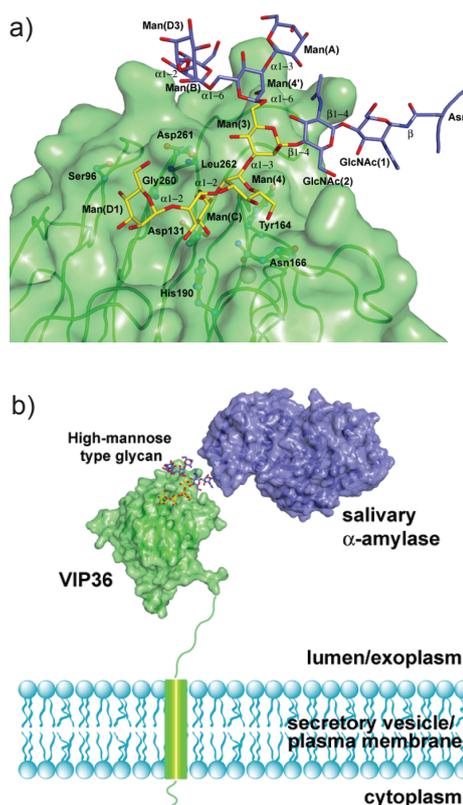


Figure 6

Model for binding between VIP36 and high mannose type glycan ($\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2\text{-Asn}$). (a) The high mannose type glycan is indicated by a *stick* model. In the oligosaccharide, the part determined in this study is colored in *yellow*. The modeled D2 and D3 arms and *N*-linked chitobiose moiety of the high mannose type glycan are shown in *purple*. The types of glycosidic linkages are also indicated. Residues involved in the ligand binding are shown as *ball-and-stick* models. (b) Model for binding between VIP36 and salivary α -amylase carrying $\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2$ in rat secretory vesicles.

謝辞

PF BL-5A, BL-6A および PF-AR NW12A での回折データ収集にあたり、ご協力頂いた PF ビームラインスタッフの方々に心より感謝致します。なお本研究の一部はタンパク 3000 プロジェクトの研究助成により進められた。

引用文献

- [1] M. J. Kuehn, J. M. Herrmann, and R. Schekman, *Nature* **391**, 187 (1998).
- [2] W. J. Belden, and C. Barlowe, *Science* **294**, 1528 (2001).
- [3] P. Ghosh, N. M. Dahms, and S. Korfeld, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **4**, 202 (2003).
- [4] K. Fiedler, and K. Simons, *Cell* **77**, 625 (1994).
- [5] K. Sato, and A. Nakano, *Mol. Biol. Cell* **13**, 2518 (2002).
- [6] D. L. Roberts, D. J. Weix, N. M. Dahms, and J. J. Kim, *Cell* **93**, 639 (1998).
- [7] L. J. Olson, J. Zhang, N. M. Dahms, and J. J. Kim, *J. Biol. Chem.* **277**, 10156 (2002).
- [8] L. J. Olson, R. D. Yammani, N. M. Dahms, and J. J. Kim, *EMBO J.* **23**, 2019 (2004).
- [9] L. J. Olson, N. M. Dahms, and J. J. Kim, *J. Biol. Chem.* **279**, 34000 (2004).
- [10] L. M. Velloso, K. Svensson, G. Schneider, R. F. Pettersson, and Y. Lindqvist, *J. Biol. Chem.* **277**, 15979 (2002).
- [11] L. M. Velloso, K. Svensson, R. F. Pettersson, and Y. Lindqvist, *J. Mol. Biol.* **334**, 845 (2003).
- [12] T. Satoh, K. Sato, A. Kanoh, K. Yamashita, Y. Yamada, N. Igarashi, R. Kato, A. Nakano, and S. Wakatsuki, *J. Biol. Chem.* **281**, 10410 (2006).
- [13] W. C. Nichols, U. Seligsohn, A. Zivelin, V. H. Terry, C. E. Hertel, M. A. Wheatley, M. J. Moussalli, H. P. Hauri, N. Ciavarella, R. J. Kaufman, and D. Ginsburg, *Cell* **93**, 61 (1998).
- [14] T. Satoh, N. P. Cowieson, W. Hakamata, H. Ideo, K. Fukushima, M. Kurihara, R. Kato, K. Yamashita, and S. Wakatsuki, *J. Biol. Chem.* **282**, 28246 (2007).
- [15] S. Hara-Kuge, T. Ohkura, A. Seko, and K. Yamashita, *Glycobiology* **9**, 833 (1999).
- [16] Y. Kamiya, Y. Yamaguchi, N. Takahashi, Y. Arata, K. I. Kasai, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito, K. Yamamoto, and K. Kato, *J. Biol. Chem.* **280**, 37178 (2005).
- [17] K. Sato, and A. Nakano, *Mol. Biol. Cell* **14**, 3055 (2003).
- [18] E. P. A. Neve, U. Lahtinen, and R. F. Pettersson, *J. Mol. Biol.* **354**, 556 (2005).

- [19] K. Fiedler, and K. Simons, *J. Cell Sci.* **109**, 271 (1995).
- [20] J. M. Rini, K. D. Hardman, H. Einspahr, F. L. Suddath, and J. P. Carver, *J. Biol. Chem.* **268**, 10126 (1993).
- [21] C. Appenzeller-Herzog, A. C. Roche, O. Nufer, and H. P. Hauri, *J. Biol. Chem.* **279**, 12943 (2004).
- [22] D. Nawa, O. Shimada, N. Kawasaki, N. Matsumoto, and K. Yamamoto, *Glycobiology* **17**, 913 (2007).

(原稿受付日：2007年11月15日)

著者紹介

佐藤匡史 (Tadashi SATOH)

高エネ研・物構研・構造生物学研究センター・博士研究員 (産学連携), 博士 (生物資源科学) (現) 米国 National Institutes of Health・National Cancer Institute-Frederick・Postdoctoral Visiting Fellow

e-mail: tadashi.satoh@kek.jp, satoht@mail.nih.gov

略歴：平成10年日本大学農獣医学部卒業, 平成12年日本大学大学院農学研究科修士過程修了, 平成15年日本大学大学院生物資源科学研究科博士後期課程修了, 平成15年4月より高エネ研・物構研・構造生物学研究センター・博士研究員 (産学連携), 平成19年9月より米国 National Institutes of Health・National Cancer Institute-Frederick・Macromolecular Crystallography Laboratory・Postdoctoral Visiting Fellow

最近の研究：糖鎖修飾と細胞内タンパク質輸送の構造生物学に関する研究。

趣味：サッカー (トップ・オフエンシブハーフ)

加藤龍一 (Ryuichi KATO)

高エネ研・物構研・構造生物学研究センター・准教授, 理学博士

〒305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1

TEL: 029-879-6177

FAX: 029-879-6179

e-mail: ryuichi.kato@kek.jp

若槻壮市 (Soichi WAKATSUKI)

高エネ研・物構研・構造生物学研究センター・教授, Ph.D.

〒305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1

TEL: 029-879-5631

FAX: 029-879-6179

e-mail: soichi.wakatsuki@kek.jp

(Appendix)

Table 1. Data collection and refinement statistics of VIP36

Crystallographic data	VIP36	VIP36/Ca ²⁺	VIP36/Ca ²⁺ /Man	VIP36/Ca ²⁺ /Man ₂	VIP36/Ca ²⁺ /Man ₃ GlcNAc
Data set	VIP36	VIP36/Ca ²⁺	VIP36/Ca ²⁺ /Man	VIP36/Ca ²⁺ /Man ₂	VIP36/Ca ²⁺ /Man ₃ GlcNAc
Space group	C2	C2	C2	C2	P2 ₁ 2 ₁
Unit cell					
<i>a</i> / <i>b</i> / <i>c</i> (Å)	171.0/45.2/117.1	170.1/45.4/116.1	171.2/45.0/117.0	171.2/45.5/117.4	57.2/151.2/177.1
α / β / γ (°)	90.0/132.6/90.0	90.0/131.5/90.0	90.0/131.9/90.0	90.0/132.7/90.0	90.0/90.0/90.0
Data processing statistics					
Beam line	PF-AR NW12A	PF-AR NW12A	PF BL-5A	PF BL-5A	PF BL-5A
Wavelength (Å)	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Resolution (Å)	50-2.10 (2.18-2.10)	50-1.80 (1.86-1.80)	50-1.80 (1.86-1.80)	50-1.65 (1.71-1.65)	50-2.50 (2.59-2.50)
Total reflections	128 308	228 854	191 856	283 509	350 729
Unique reflections	38 945	62 420	62 207	80 482	54 228
Completeness (%)	93.7 (78.9)	97.8 (97.1)	96.1 (84.5)	98.4 (91.1)	99.9 (100.0)
<i>R</i> _{merge} (%)	8.3 (31.4)	5.9 (38.5)	9.9 (28.2)	5.1 (28.6)	13.3 (37.6)
<i>I</i> / σ (<i>I</i>)	13.4 (3.7)	14.6 (3.1)	9.1 (2.9)	14.4 (3.4)	8.8 (5.8)
Refinement statistics					
Resolution (Å)	20 - 2.10	20 - 1.80	20 - 1.80	20 - 1.65	20 - 2.50
<i>R</i> _{work}	22.5	20.5	20.6	19.9	22.1
<i>R</i> _{free}	27.8	24.1	24.5	22.8	27.9
R.m.s.d. from ideal values					
Bond length (Å)	0.012	0.012	0.011	0.011	0.013
Angle distance (Å)	1.34	1.33	1.33	1.32	1.41
Ramachandran plot (%)					
Most favored	87.5	88.1	89.0	88.5	86.6
Additionally allowed	11.8	11.4	10.5	10.8	13.3
Generously allowed	0.7	0.5	0.5	0.7	0.1
Number of molecules and atoms					
Protein atoms	3913	3957	3974	4071	9617
Water molecules	194	421	429	418	66
Ca ²⁺ ions	0.5	2	2	2	5
Cl ⁻ ions	4	11	13	8	
Glycerol atoms	18			12	
Sugar atoms			24	46	80
Average <i>B</i> _{iso} (Å ²)					
Protein atoms	32.3/46.6	21.2/28.1	24.4/29.5	22.9/32.0	24.0/28.9/23.8/
(A/B/C/D/E chain)					26.5/36.7
Water molecules	36.5	29.9	32.9	33.4	20.6
Ca ²⁺ ions	33.4	23.5	21.8	20.0	25.4
Cl ⁻ ions	44.0	29.4	32.0	33.5	
Glycerol atoms	47.9			33.1	
Sugar atoms			23.0	27.6	39.5