

(¹広島大院理, ²広島大院生物圏科学, ³広島大 QuLiS)
紙谷 康則^{1,3}・堀 貫治²・月向 邦彦¹・片柳 克夫^{1,3}

海藻由来のレクチンは既知のレクチンとは一次構造レベルで全く異なり 新規のレクチンファミリーに属する。その多くは単糖を認識せず複合糖質の糖鎖を認識し, ユニークで厳密な糖鎖認識能を持つことから 立体構造的にも既知レクチンとは異なっていると考えられる。そこで我々は, その中でも紅藻から抽出され, 高マンノース型糖鎖に選択的に結合するレクチン, ESA-2 を構造解析の対象とした。このレクチンは最近, 発ガン性マウスに対する経口投与実験からも極めて強い抗ガン作用が観測されている。

結晶化は, 20 においてハンギングドロップ蒸気拡散法にて, 沈殿剤として PEG8000 を用いた系で行い, 幾重にも重なり合った微小板状結晶を得た。このままでは X 線回折実験に不適なため, ついでマイクロシーディングを行い, 厚さ約 10 μ , 0.3 x 0.5mm 程度の面積をもつ板状の結晶を得た。硬 X 線による回折実験は, 高エネルギー加速器研究機構のフotonファクトリーの BL6A, BL18B および SPring-8 の BL44XU, BL40B2 の各大型放射光ビームラインにおいて行った。空間群は $P2_1$, 格子定数はそれぞれ $a = 42.20$, $b = 62.43$, $c = 48.53$, $\beta = 110.34^\circ$ であった。また $V_m = 2.1$ で非対称単位あたり 1 分子を含んでいた。厚みがわずかに 10 μ であるにもかかわらず, 高分解能の回折点が観測され, ベンディングマグネットでは 1.7 \AA , アンジュレーター光で 1.5 \AA 分解能の回折点が観測されている。 R_{merge} は前者で 0.062, 後者で 0.093 であった。

重原子同型置換法により世界で初めて明らかにされた新規ファミリーレクチンである ESA-2 の立体構造は, 今までのサブユニット構造を持つ高等動植物由来のレクチンに比べると極めてユニークなものであった。すなわち, 1 次配列では 4 つの繰り返し配列を持っていたが, それらの配列は側鎖構造を含め極めてよく重ねあわせが可能であった。さらに, その 2 つずつが domain swap して バレル構造を形成し, 1 次構造上の 4 つの繰り返し配列が立体構造的には 2 つの相同なドメインを形成していることがはじめてわかった。

高分解能な回折点が得られる結晶であるため, ESA-2 に特有な糖認識機構を考える上での詳細な構造が得られることが期待でき, 糖基質との複合体の結晶化条件も探索中である。

(参考文献)

Kamiya, Y., Hori, K., Gekko, K. & Katayanagi, K The 8th Conference on Biology and Synchrotron Radiation, Sept. 2004, Himeji (Japan), p742.

片柳克夫, 紙谷康則, 月向邦彦, 堀 貫治 第 77 回日本生化学会 (横浜) W74-13 (4P-106)