

コアフコース認識レクチンの立体構造と糖鎖認識機構の解明

産業技術総合研究所

山崎和彦

1. 成果の概要 (1~2 ページ)

実施内容

本研究では、がん化など細胞の状態変化のバイオマーカーとなる α 1-6 結合 fucose (コアフコース型) 糖鎖修飾に特異的に結合するスギタケ由来レクチン PhoSL について、立体構造解析によって認識機構を解明することを目的とする。40 アミノ酸残基と極めて小さいが、化学合成によって調製されるため安定同位体標識ができないため、¹H NOESY などによって構造情報を取得する必要がある。所属研究所内の 500MHz 室温プローブでは、この分子サイズにも関わらず、十分な質のスペクトルが得られていなかったため、本課題の申請により、理研 900MHz 低温プローブ装置を用いて、高分解能かつ高感度の NMR 測定を行なうこととした。

PhoSL の単体試料および、単糖フコースや fucose[α 1-6]GlcNAc 二糖との混合試料について、NOESY、TOCSY、DQF-COSY、¹H-¹³C HSQC (natural abundance) の測定を行なった。必要に応じて nonlinear sampling 法の適用により、測定時間を短縮した。

本課題により得られた成果、当初目標と結果との比較

本課題で得られた良質のスペクトルから、シグナル帰属は曖昧さがなく、立体構造を決定するにあたっての距離情報も、約 700 個 (1 残基あたり 17 個、残基内は除く) と十分な数であった。CNS を用いた計算の結果、PhoSL は、ホモ三量体を形成し、全体として新規性の高い β プリズム型構造を有することが明らかとなった。また、単糖フコースや二糖体との分子間 NOE も多数得られた。それにより、会合境界に糖結合ポケットがあり、フコース部分が最も奥に入る形で、水素結合や疎水性相互作用によって認識されていることが判明した。

この NMR による溶液構造は、後にエックス線結晶解析を行なった際に分子置換法のテンプレート構造として用いることが可能であり、コアフコース型糖鎖修飾の基本ユニットである fucose[α 1-6][GlcNAc[β 1-4]]GlcNAc 三糖との複合体の立体構造決定につながった。

本成果は、当初の目的であった 1 残基あたり 10 個以上の NOE 取得を大きく超過しており、十分に達成したと言える。また、本成果は、理研 NMR 施設を利用した研究として、2 報の原著論文として公開された。

Kazuhiko Yamasaki, Tomomi Kubota, Tomoko Yamasaki, Izuru Nagashima, Hiroki Shimizu, Ryu-ichiro Terada, Hiroshi Nishigami, Jiyoung Kang, Masaru Tateno, Hiroaki Tateno, Structural basis for specific recognition of core fucosylation in *N*-glycans by *Pholiota squarrosa* lectin (PhoSL), *Glycobiology*, Volume 29, Issue 7, July 2019, Pages 576–587, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwz025>

Yamasaki, K., Yamasaki, T. & Tateno, H. The trimeric solution structure and fucose-binding

mechanism of the core fucosylation-specific lectin PhoSL. *Sci Rep* **8**, 7740 (2018).

<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25630-2>

今後の展開、課題

今後は、立体構造に基づいたデザインによって PhoSL を改変し、創薬応用展開を進める方針である。現在、抗ウイルス剤への応用を考えた研究開発を行なっている。

2. 利用における感想(改善要望等を含む)

現在、800MHz 以上の高磁場 NMR を導入し、維持・管理を行うことは極めて困難になっている。仮に補正予算などによって購入できたとしても維持するための液体ヘリウムの確保など、個々のユーザーでは不可能に近い。特にヘリウムの回収システムを有する理研 NMR 施設のような取り組みは、今後も重要である。これまでに尽力された関係の皆様方に心より感謝する。

利用料金については、導入や維持・管理にかかる費用を考えれば、十分にリーズナブルと言えるが、幅広い、特に若手の研究者の研究費から考えると、かなり大きな負担となる。放射光施設がアカデミアに対して無料解放していることと比較すると、今後、NMR 利用を普及させる上では、より気軽に使える取り組みを拡大できると理想的と思う。

3. 利用周辺環境に関する希望

特になし。

4. 今後の利用予定

本課題に関連しては今後の利用予定はないが、必要に応じて再申請したいと考えている。

5. 今後期待するその他のサービス

何よりも、昨今の情勢に関わらず、引き続き運営していただけることを期待する。

6. その他

特になし。

7. 利用実施時期及び期間

2015 年 1 月 28 日 ~ 2017 年 3 月 9 日

当初計画どおり。

8. 利用研究基盤

900MHz 低温プローブ付 2015 年 1 月 28 日~2015 年 1 月 29 日

900MHz 低温プローブ付 2016 年 3 月 8 日~2016 年 3 月 9 日

900MHz 低温プローブ付 2017 年 3 月 7 日~2017 年 3 月 9 日