

平成22年度特別経費（プロジェクト分）
「香川グライコリソース（希少糖・ヒト型糖鎖）を用いたナノ糖質生命科学研究推進事業」
研究グループ別研究成果報告書

研究組織					
研究グループの組織について記述してください。メンバーは教員ばかりでなく、本研究に携わっている非常勤職員・学生も記載してください。					
研究課題名	糖鎖結合タンパク質および糖質関連タンパク質の X 線結晶解析				
グループリーダー	氏名	所属・職名	連絡先		
	神鳥 成弘	総合生命科学研究センター・教授	e-mail	本人	kamitori@med.kagawa-u.ac.jp
				秘書等	xraylab@med.kagawa-u.ac.jp
メンバー	氏名	所属・職名 (学年)	分担事項・役割等		
	吉田 裕美	総合生命科学研究センター・准教授	ガレクチンおよび希少糖生産酵素の X 線結晶解析		
	山下 哲	総合生命科学研究センター・博士研究員	病原性細菌由来糖鎖結合タンパク質の X 線結晶解析		
	寺岡 美沙	総合生命科学研究センター・研究員	タンパク質の精製・結晶化		
	田原 康宏	工学部・大学院生 (M2)	希少糖および希少糖生産酵素の X 線結晶解析		

平成 22 年度研究成果概要

研究成果概要についてわかりやすく記載してください。できるだけ、図を挿入してください。すでに当該年度に外部に発表を行った成果については、研究業績欄の業績番号と対応させてください。なお、本欄は、必要に応じてホームページ上で公開しますので、知的財産に関連する記述等については注意してください。

① ガレクチン・糖鎖複合体の X 線結晶解析 (西グループ, 中北グループと共同で実施)

免疫応答において様々な生理活性を有するガラクトース特異的動物レクチン (ガレクチンファミリー) の中の、細胞接着活性を持つガレクチン 8, および活性化 T 細胞アポトーシスを誘導するガレクチン 9 について、それらの糖鎖複合体の X 線結晶解析に成功した。特にガレクチン 9 に関する研究では、ヒトガレクチン 9 の C 末側ドメイン (hG9C) を用いて、枝分かれを 1 つ持つ天然型糖鎖との複合体の X 線結晶解析に成功し、それぞれの枝が、2 つのタンパク質分子によって認識された架橋構造を形成していることを明らかにした (図 1)。これは、枝分かれ糖鎖がタンパク質に結合した構造を捉えた 2 例目であり、当該研究領域へのインパクトが高いと考えられたので、迅速な学術論文誌への投稿・発表を行った (研究業績#1)。また、シアル化糖鎖との複合体の X 線結晶解析にも成功し、hG9C のシアル酸認識機構についても学会発表を行った (研究業績#4, 5, 6, 9)。ガレクチン 8 についても、構造学的研究を進め、安定変異型ガレクチン 8 といくつかの短い糖鎖との複合体の X 線結晶解析に成功しており (図 2)、一部、学会発表を行った (研究業績#4, 9)。

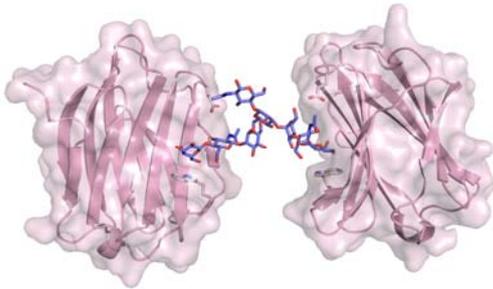


図 1 枝分かれ糖鎖によるガレクチン架橋構造

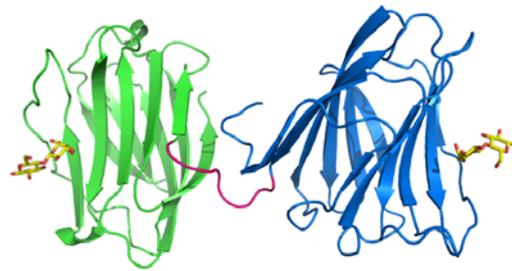


図 2 安定変異型ガレクチン 8・ラクトース複合体の構造

② 希少糖生産酵素の X 線結晶解析 (希少糖研究センターと共同で実施)

希少糖(d-altrose)生産酵素として期待される *Bacillus pallidus* D-arabinose isomerase の X 線結晶解析に成功した (図 3)。構造情報に基づき、本酵素が触媒するアルドース・ケトース異性化反応は、ene-diol 機構であることを明らかにし、論文報告を行った (研究業績#3)。また、d-allose 生産酵素として期待される *Pseudomonas stutzeri* L-rhamnose isomerase について変異酵素を用いた X 線結晶解析により、詳細な触媒反応機構に関する新たな知見を得て、論文報告を行った (研究業績#2)。

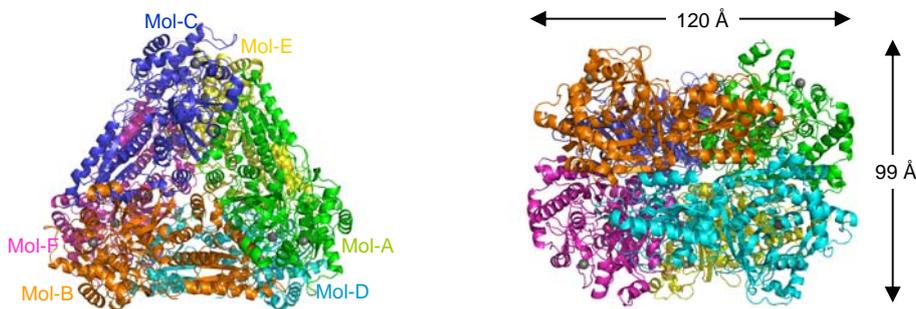


図 3 *Bacillus pallidus* D-arabinose isomerase の全体構造

③ ウェルシュ菌由来糖鎖プロセッシング酵素の X 線結晶解析 (医学部岡部・宮田グループと共同で実施)

ガス壊疽・食中毒原因菌であるウェルシュ菌由来の糖鎖プロセッシング酵素の X 線結晶解析に着手している。本年度は、N-アセチルグルコサミニダーゼ (NagH) の結晶化を行っているが、現在のところ良質な結晶が得られていない。

今後の研究計画

平成 22 年度に得られた研究成果を踏まえ、今後の研究計画について具体的に記載してください。図を挿入してもかまいません。

ガレクチンに関する研究については、本年度、枝分かれ構造を持つ糖鎖を用いた研究が極めて有用であることが証明されたので、引き続き、枝分かれ糖鎖を中心に、ガレクチン・糖鎖複合体の X 線結晶解析を行っていく。また、ガレクチンとそのターゲット糖タンパク質との複合体の X 線結晶解析に取り組む予定である。

希少糖生産酵素に関する研究では、新規 5 単糖異性化酵素である *Acinetobacter* sp. L-ribose isomerase (L-RI) の X 線結晶解析に取り組む予定である。

ウェルシュ菌由来糖鎖プロセシング酵素に関する研究については、糖鎖プロセシング酵素をドメインに分け、発現・精製し、結晶構造解析を試みる予定である。

その他、新たな研究課題として、「ボツリヌス菌感染に関与するヘマグルチニンとそのターゲット糖鎖複合体の X 線結晶解析」および「希少オリゴ糖の X 線結晶解析」に取り組む予定である。

特記すべき事項

本研究に関する受賞（学生対象の賞も含む）・プレスリリース・大型外部資金獲得につながった等、特記すべき事項があれば記述してください（ささいなことでもかまいません）。本欄は必須ではありませんので、「該当なし。」でも可ですが、できるだけ記載してください。

本事業の先行研究に携わっていた愛媛大学連合農学研究科学生である武田耕青君（希少糖研究センターより派遣）が研究業績 #3 により平成 22 年 3 月、博士（農学）を取得した。なお、武田耕青君は、在学中の研究活動・業績が評価され、日本学生支援機構により奨学金返還の半額免除が決定されている。

研究業績

本研究に関連した，[1] 査読がある原著論文（Corresponding Author には*印を付す。），[2] 著書，[3] 招待講演，[4] 学会発表（発表者には○印），[5] 産業財産権（特許等），[6] その他（プロシーディング，査読がない論文，投稿記事等）を通し番号を付して記入してください。本事業の参加者にはアンダーラインを引いてください。記入欄が足りない場合は，用紙を追加してください。なお，本欄は，必要に応じてホームページ上で公開します。

[1] 査読がある原著論文

1. Yoshida, H., Teraoka, M., Nishi, N., Nakakita, S., Nakamura, T., Hirashima, M. & Kamitori, S.* (2010). X-ray structures of human galectin-9 C-terminal domain in complexes with a biantennary oligosaccharide and sialyllactose. *J. Biol. Chem.*, **285**, 36969-36976.
2. Yoshida, H., Takeda, K., Izumori, K. & Kamitori, S.* (2010) Elucidation of the role of Ser329 and the C-terminal region in the catalytic activity of *Pseudomonas stutzeri* L-rhamnose isomerase. *Protein Eng. Des. Sel.*, **23**, 919-927.
3. Takeda, K., Yoshida, H., Izumori, K. & Kamitori, S.* (2010). X-ray structures of *Bacillus pallidus* D-arabinose isomerase and its complex with L-fucitol. *BBA - Proteins and Proteomics*, **1804**, 1359-1368.

[2] 著書

該当なし。

[3] 招待講演

該当なし。

[4] 学会発表(○は発表者)

4. ○吉田裕美, 西 望, 寺岡美沙, 中北慎一, 中村隆範, 平島光臣, 神鳥成弘 「ヒト由来ガレクチン9のC末端糖鎖認識ドメイン・シアリルラクトース複合体およびプロテアーゼ耐性型ヒト由来ガレクチン8のX線結晶解析」 第10回 日本蛋白質科学会年会，2010年6月（札幌）
5. ○Yoshida, H., Teraoka, M., Nishi, N., Nakamura, T., Hirashima, M. & Kamitori, S. (2010). Crystal structure of the C-terminal carbohydrate recognition domain of human galectin-9. 35th FEBS Congress, June 2010, Gothenburg, Sweden.
6. Yoshida, H., Teraoka, M., Nishi, N., Nakakita, S., Nakamura, T., Hirashima, M. & ○Kamitori, S. (2010). X-ray Structure of Galectin-9 C-terminal Domain in Complex with N-linked Oligosaccharide with a Branch. The 25th International Carbohydrate Symposium, Aug. 2010, Tokyo—Chiba, Japan.
7. ○Yoshida, H., Takeda, K., Tahara, Y., Ishii, T., Izumori, K. & Kamitori, S. (2010). X-ray structures of rare sugar production related enzymes and the catalytic mechanisms. The 25th International Carbohydrate Symposium, Aug. 2010, Tokyo—Chiba, Japan.
8. ○寺岡美沙, 吉田裕美, 武田耕青, 吉原明秀, 何森 健, 神鳥成弘 「Acinetobacter sp. strain DL-28 由来 L-ribose isomerase の結晶化及び予備的 X 線回折実験」 第33回日本分子生物学会年会，第83回日本生化学会大会，2010年12月（神戸）
9. 吉田裕美, 寺岡美沙, 西 望, 中北慎一, 中村隆範, 平島光臣, ○神鳥成弘 「X線構造に基づくガレクチン9のシアリ化糖鎖認識機構の解明」 第60回日本結晶学会，2010年12月（大阪）
10. ○Tahara, Y., Ishii, T., Yoshida, H., Izumori, K. & Kamitori, S. (2010). Crystal Structure of D-tagatose 3-Epimerase Cys66Ser from *Pseudomonas cichorii*. 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 2010, Honolulu, Hawaii, U.S.A.

[5] 産業財産権（特許等）

該当なし。

[6] その他（プロシーディング，査読がない論文，投稿記事等）

該当なし。