

## 27PE-am110

二価性架橋試薬を用いたヒトガレクチン-1とリガンド糖タンパク質の架橋  
○五十嵐 崇則<sup>1</sup>, 田村 真由美<sup>2</sup>, 荒田 洋一郎<sup>2</sup>, 笠井 猷<sup>1</sup>(<sup>1</sup>帝京大薬, <sup>2</sup>城西大薬)

【目的】ガレクチンは、 $\beta$ -ガラクトシド構造に対する親和性と、進化的に保存された糖結合部位のアミノ酸配列によって特徴づけられる動物レクチンである。ガレクチンは様々な生命現象に関わっているが、ガレクチンと糖鎖の相互作用は抗原抗体反応などと比較すると弱く、リガンド単離が困難な場合も多い。本研究では二価性の架橋試薬 BPM(benzophenone-4-maleimide)を用い、糖タンパク質リガンドをガレクチンと架橋させる手法の確立を目指した。

【方法】ヒトガレクチン-1 に部位特異的突然変異を導入し、内在する Cys 残基全てを Ser 残基に置換して Cys-less 型にした後、新たに Cys 残基を1個導入した変異体を調製した。BPM は、-SH 基と反応して共有結合を形成するマレイミド基と、紫外線照射により近くの炭素原子に架橋するベンゾフェノン基をもった二価性架橋試薬である。BPM を用いて Cys 導入ガレクチン-1 とモデル糖タンパク質であるアジアロフェツイン(ウシ由来)との架橋反応を試みた。架橋産物の検出には、ウェスタンブロット法を用いた。

【結果および考察】BPM を用いることで Cys 導入ガレクチン-1 とアジアロフェツインとの架橋産物が検出できた。この架橋産物は競合糖ラクトース存在下では形成されず、また、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ消化により非還元末端 Gal 残基を失ったアジアロフェツインを用いると架橋が形成されなかった。すなわち、Cys 導入ガレクチン-1 がアジアロフェツインの糖鎖と相互作用したときのみ架橋が形成された。二価性架橋試薬 BPM を用いた本方法により、ガレクチンとの相互作用が比較的弱い糖タンパク質リガンドも単離・同定が可能になると考えている。