

# 30P-0006

マウスガレクチン-2のS-ニトロソ化部位の検証

○舟橋 奈江<sup>1</sup>, 武内 智春<sup>1</sup>, 田村 真由美<sup>1</sup>, 大竹 一男<sup>1</sup>, 内田 博之<sup>1</sup>, 小林 順<sup>1</sup>,  
荒田 洋一郎<sup>1</sup>(<sup>1</sup>城西大薬)

【目的】胃内において、NOはケミカルメッセンジャーとして、またタンパク質のS-ニトロソ化を介して、胃粘膜の保護、免疫応答、細胞のがん化などに関与すると考えられている。S-ニトロソ化では、NOが基質タンパク質のCys残基のSH基に共有結合する。マウス胃内におけるS-ニトロソ化基質タンパク質の一つとしてガレクチン-2(mGal-2)が網羅的解析により見いだされている。mGal-2はβ-ガラクトシドを特異的に認識するレクチンで、細胞表面の複合糖質間を架橋すると考えられ、mGal-2のS-ニトロソ化が、胃粘膜の保護機能などにも影響する可能性がある。mGal-2は、分子内に2か所Cys残基(Cys<sup>57</sup>およびCys<sup>75</sup>)をもつ。本研究では、mGal-2のアミノ酸置換変異体を用いて、mGal-2が部位特異的にS-ニトロソ化を受けるか否かを検証した。本研究はS-ニトロソ化によるmGal-2への影響を解明するための足がかりになると考えている。

【方法】mGal-2 WT(野生型)、C57S(Cys<sup>57</sup>→Ser)およびC75S(Cys<sup>75</sup>→Ser)変異体を大腸菌にて発現させ、ガレクチンのリガンド糖タンパク質アシアロフェツイン(ASF)を固定化したカラムを用いてアフィニティー精製した。精製したタンパク質を、S-ニトロソグルタチオンを用いてS-ニトロソ化した。S-ニトロソ化されたタンパク質を、ピオチンスイッチ法により検出することで、mGal-2 WT、C57SおよびC75Sの試験管内におけるS-ニトロソ化感受性を比較した。

【結果・考察】mGal-2 WTとC57Sのニトロソ化感受性はほぼ同程度であった。一方、C75Sのニトロソ化感受性は低下していた。これら変異体のASFに対する親和性はほぼ同様であり、変異導入による構造変化はほぼないと考えられた。以上のことから、mGal-2のCys<sup>75</sup>が主たるS-ニトロソ化の部位であると示唆された。