

Cys 変異導入ガレクチン-1 と糖タンパク質リガンドの BPM による架橋

○渡邊 朋恵¹, 田村 真由美¹, 武内 智春¹, 笠井 献一², 荒田 洋一郎¹ (¹城西大薬,
²帝京大薬)

【目的】ガレクチンは B-ガラクトシド構造に親和性を示すレクチンである。ガレクチンとそのリガンドとの相互作用は比較的弱いことが多く、そのため、そのリガンドの単離・同定は困難を伴うことが多い。我々は架橋試薬 BPM (Benzophenone-4-maleimide) を用いた、ガレクチンリガンドの単離・同定法の確立を目指しており、これまでにガレクチン-1 K28C 変異体と、そのモデルリガンドであるアジアロフェツインとの架橋反応などについて報告している。BPM は Cys 残基の SH 基と反応するマレイミド基と、紫外線照射により近傍の炭素原子に反応するベンゾフェノン基をもつ。そのため、ガレクチン-1 における Cys 変異導入位置は、そのリガンドとの架橋産物形成において、きわめて重要と考えられる。そこで、本研究ではガレクチン-1 の Cys 変異導入位置について検証した。

【方法】Cys-less ガレクチン-1 (ヒトガレクチン-1 に存在する 6 つの Cys 残基を Ser に置換したもの) に、新たに Cys 残基を導入し、様々な Cys 導入変異ガレクチン-1 (S7C、L41C、A51C、K63C および A121C) を作成した。それら変異体および K28C 変異体と、モデル糖タンパク質リガンド (アジアロフェツイン、ラミニン) を用い、BPM を介した架橋を試みた。架橋産物をウエスタンブロット法により検出することで、Cys 変異導入位置による架橋効率の違いを検証した。

【結果・考察】アジアロフェツインとの架橋効率が高い変異体は K28C であり、ラミニンの場合は A51C および K28C であった。これらの結果から、K28C 変異体がガレクチンリガンド同定において有用であること、また、変異導入位置によりリガンド糖タンパク質との架橋効率が異なる場合があることが明らかになった。現在、K28C 変異体を用いたガレクチン内在性リガンドの探索を行っている。