

29P2-am002

BPM を用いたリガンドとの架橋形成におけるガレクチン -1 への Cys 変異導入部位の検証

○田村 真由美¹, 渡邊 朋恵¹, 庄司 麻衣子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】ガレクチンは動物レクチンの一種であり、多彩な生命現象に関わっている。ガレクチンは Galβ1-4GlcNAc 構造を持つ糖鎖と結合するが、この基本骨格が様々な糖鎖修飾を受けた場合でも、結合力に差はあるが認識する。このため、ガレクチンは多様な糖鎖リガンドと相互作用していると予想される。しかし、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、リガンドの単離・同定は困難を伴うことが多い。我々はこれまでに架橋試薬 BPM(Benzophenone-4-maleimide)を用いて、ガレクチンとモデル糖タンパク質リガンドを安定な共有結合で架橋する手法を報告している。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。BPM を介した架橋に用いるため、ヒトガレクチン-1(hGal-1)をいったん Cys-less 型にした後に新たに Cys 変異を導入する。導入部位が異なる複数の hGal-1 変異体を用いることで多様なリガンドを単離・同定できる可能性がある。

【方法】Cys 残基を 1 つだけ持つ、様々な Cys 導入 hGal-1 変異体を作製した。それら変異体と、リガンド糖タンパク質(モデルとしてアシアロフェツイン、ラミニンを使用)の 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し、Cys 変異導入部位による架橋効率の違いを検証した。

【結果・考察】アシアロフェツインとの架橋効率が高い変異体と、ラミニンとの架橋効率が高い変異体は異なっていた。このことから hGal-1 への Cys 変異導入部位によりリガンド糖タンパク質との架橋効率に差があることが明らかになった。様々な Cys 導入 hGal-1 変異体を用いることにより、生体内に複数存在すると予想される hGal-1 リガンドを網羅的に単離・同定できると考えている。