



Title	Structure Analysis of Hemolytic Lectin CEL-III from the Marine Invertebrate Cucumaria echinata
Author(s)	内田, 達也
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45650">https://hdl.handle.net/11094/45650</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	内田達也
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第19023号
学位授与年月日	平成16年9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科高分子科学専攻
学位論文名	Structure Analysis of Hemolytic Lectin CEL-III from the Marine Invertebrate <i>Cucumaria echinata</i> (海産無脊椎動物グミ由来溶血性レクチン CEL-III の結晶構造解析)
論文審査委員	(主査) 教授 月原 富武 (副査) 教授 後藤 祐児 助教授 楠木 正己

## 論文内容の要旨

レクチンは特異的な糖を認識し、結合するタンパク質であるが、酵素のような触媒活性はもたない。糖鎖の結合によって自己・非自己の識別や細胞間相互作用などに関与するが、歴史的に細胞凝集を生じる毒素として見出された。ナマコ類の一種グミ (*Cucumaria echinata*) 由来のカルシウム依存性レクチンが4種類 (CEL-I, II, III, IV) 知られている。CEL-I, III, IV は血球凝集反応を示すが、CEL-IIIのみが赤血球膜に膜孔を形成し、細胞内外の浸透圧差を破壊することにより細胞を死に至らしめる溶血反応を示す。

CEL-III はアミノ酸配列上、糖結合ドメインと機能性ドメインとを併せ持つ  $(QXW)_3$  ファミリーに分類され、機能性ドメインとしてオリゴマー化・膜結合ドメインをもつ。本研究は膜孔形成タンパク質の一つとして、かつ  $(QXW)_3$  ファミリーの一つとして CEL-III の立体構造を解析し、生理的・構造的観点から機能発現機構を考察することを目的とした。

福岡県沖玄海灘で採取された天然のグミを破碎し、カルシウム依存性と糖の親和性による液体クロマトグラフィーにより CEL-III を精製した。PEG8000 を沈殿剤とした条件により CEL-III の単結晶を得ることに成功し、放射光施設 Photon Factory、Spring-8 で X 線回折強度データを収集した。鉛の異常分散効果を用いた單一波長同形置換法により初期位相を得、モデルの精密化を行った結果、分解能 1.7 Å で CEL-III 単体の立体構造を決定した。

CEL-III は明瞭な 3 つのドメインから構成されていた。 $(QXW)_3$  ドメインに相当する N 末端側の 2 つの相同的ドメインは擬似 3 回対称を持った  $\beta$ -trefoil フォールドであるが、各サブドメインにカルシウムが結合している点がファミリー内の構造既知のタンパク質には見られない新規の特徴であった。植物由来のカルシウム非依存性レクチンであるリシン B 鎖との構造的類似性からこのサブドメインは糖結合サイトであることが考えられるが、CEL-III はリシンと異なるリカルシウムを介した糖との結合が予想された。C 末端側のオリゴマー化ドメインは 2 つの  $\alpha$ -ヘリックスと 1 つの  $\beta$ -サンドイッチから成る新規の構造であった。 $\alpha$ -ヘリックスは両親媒性に富むアミノ酸配列であり、抗菌活性を示す部位であるが、タンパク質の内部に位置していた。各ドメインは主に親水性相互作用をしており、溶血反応の際このヘリックスを露出するようなドメイン単位の動きが予想された。CEL-III はオリゴマー化に伴ってタンパク質表面の疎水性が増す二次構造変化を起こすことが知られており、特徴あるアミノ酸配列とを考え合わせ、露出した  $\alpha$ -ヘ

リックスが $\beta$ 構造に変化し、 $\beta$ -barrel を作ってオリゴマー化し、細胞膜と結合して溶血反応を引き起こすモデルを提唱した。

### 論文審査の結果の要旨

海産無脊椎動物グミ由来溶血性レクチン CEL-III の立体構造をX線結晶構造解析によって決定した。その結果、この蛋白質は3つのドメインからなる新しい構造であることが明らかになった。その内の2つのドメインは相同性が高く、それぞれは内部に3回対称を有する。その立体構造から、この相同的な2つのドメインにはカルシウムイオンと芳香族アミノ酸が糖の結合に関与している糖結合領域があることを明らかにした。また、この蛋白質は赤血球細胞を破壊（溶血）する性質も持っている。糖結合ドメインによる赤血球表面への結合とそれに続くドメインの再配列、2本の $\alpha$ ヘリックスのベータ構造への変換、分子間ベータ構造形成による6量体化と膜貫通孔形成によって、低分子量化合物が自由に赤血球膜を通過出来るようになる。その結果細胞破壊に至ることによって溶血が起こることを提案した。

この研究は溶血現象の解明に大きく貢献するものであり、博士（理学）の学位に値するものであると認める。