

## 海産無脊椎動物由来溶血性レクチンCEL-IIIのX線結晶構造解析

○畠山智充<sup>1</sup>、内田達也<sup>2</sup>、衛藤誠一郎<sup>1</sup>、山崎孝幸<sup>1</sup>、菅原肇<sup>3</sup>、栗栖源嗣<sup>2</sup>、中川敦史<sup>2</sup>、楠木正巳<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>長崎大・工・応化、<sup>2</sup>阪大・蛋白研、<sup>3</sup>理研・植物科学

海産無脊椎動物グミ(*Cucumaria echinata*)体液中には強い溶血活性や細胞毒性を有するCa<sup>2+</sup>依存性レクチンCEL-III(47.5 kDa)が存在する。CEL-IIIは標的細胞表面のラクトシルセラミドなどガラクトース含有糖脂質糖鎖に結合した後に、コンフォメーション変化を生じて、細胞膜内に侵入し、会合体としてイオン透過性ポアを形成することが予想された。そこで今回、CEL-IIIの細胞膜内ポア形成機構を明らかにすることを目的として、CEL-IIIのX線結晶構造解析を行った。

CEL-IIIの一次構造から、そのN-末端2/3は植物毒レクチンであるリシンやアブリンのB-鎖との相同性を持つ糖結合ドメイン(ドメイン1, 2)であり、C-末端1/3は疎水性領域を含む膜結合ドメイン(ドメイン3)であるものと考えられた。CEL-IIIの単結晶及びその鉛誘導体を作製し、SPring-8及びPhoton FactoryにおいてX線回折データ収集した結果、CEL-IIIのnative結晶は1.6 Å、鉛誘導体についても2.5 Å程度の反射を示したことから、鉛の異常分散効果を用いた重原子同型置換法(SIRAS法)により構造解析を行った。その結果、CEL-IIIは一次構造から予想された通り、立体的に明瞭に区別できる3つのドメインからなることが明らかになった。

ドメイン1, 2はリシンやアブリンのB-鎖と同様、3つの繰り返し領域からなるβ-trefoil構造をとり、両者合わせて7カ所のCa<sup>2+</sup>結合部位が認められた。一方、ドメイン3はこれまでに類似の構造が見当たらない、βシートに富むドメインを形成しており、これが細胞膜内で会合し、イオン透過性のポアを形成することが示唆された。また、ドメイン3には逆平行に並んだ2つの両親媒性αヘリックスが存在しており、これがドメイン1, 2の境界部分のくぼみにちょうど収まるように位置していた。この領域は、合成ペプチドの研究から、細胞膜と相互作用することにより抗菌活性を発現する領域でもあり、細胞膜との相互作用や自己会合に重要な領域であることが示唆された。