

研究区分	教員特別研究推進（地域振興）
------	----------------

研 究 テーマ	糖結合蛋白質を、光で駆動する糖鎖修飾触媒に改変する				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	藤浪 大輔
	研究協力者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	藤浪 大輔

講演題目
光反応性アミノ酸によるタンパク質の機能拡張
研究の目的、成果及び今後の展望 糖鎖は、細胞接着、免疫応答、がん細胞の分化・増殖などに関与する重要な生体分子である。一方で、糖鎖は多数の水酸基を持ち、結合位置、アノマー性、立体配置の違いにより多様な構造を形成するため、特定部位を選択的に化学修飾することは一般に困難である。本研究では、糖鎖を特異的に認識するタンパク質を反応場として利用し、光照射により糖鎖構造を変換する新たな分子ツールの創出を目指した。標的タンパク質として、β-ガラクトシド含有糖鎖を認識するレクチン Galectin-1 (以下 Gal-1) に着目した。Gal-1 の糖鎖結合部位には Trp69 が存在し、この芳香族側鎖は糖鎖認識に重要な役割を担う。そこで、遺伝暗号拡張法を用いて Trp69 を光反応性非天然アミノ酸 p-benzoyl-L-phenylalanine (pBPA) へ置換した変異体 W69pBPA を作製した。質量分析の結果、pBPA の導入効率はほぼ 100%であることを確認した。また、バイオレイヤー干渉法により糖鎖結合能を評価したところ、W69pBPA は野生型 Gal-1 と同等の高い結合能を保持しており、解離定数は $KD = 4.4 \text{ nM}$ であった。次に、W69pBPA と還元末端を p-ニトロフェニル基 (pNP) で修飾したガラクトシド含有糖鎖を混合し、365 nm の UV を照射した。反応後のサンプルを HPLC で解析したところ、β-pNP 化糖鎖では pNP の遊離に対応すると考えられるピークが観測された。一方で、α-pNP 化糖鎖では pNP の遊離はわずかであった。さらに立体構造予測から、β-pNP 化糖鎖では pBPA のベンゾフェノン部位と pNP 基が空間的に近接しうることが示唆された。したがって、本反応は単なる非特異的な光分解ではなく、Gal-1 による糖鎖認識と pBPA-pNP 間の距離に依存して進行する可能性が高い。以上の結果は、Gal-1 の糖鎖結合部位に導入した pBPA が、糖鎖認識状態において光誘起反応を引き起こすことを示すものである。今後は、反応産物の詳細な質量分析、ラジカルトラップ実験、ならびに X 線結晶構造解析を組み合わせ、電子移動、エネルギー移動、または水素原子移動を含む反応機構を分子レベルで明らかにする予定である。 