キノコ由来ガレクチンACGの糖認識メカニズム

平林 淳¹; 胡 丹^{1,†}; 舘野 浩章¹; 桑原 直之²; 加藤 龍一²; 八木 史郎³

¹国立研究開発法人 産業技術総合研究所

²大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構

³国立大学法人 鹿児島大学

[†]現所属: Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products,
College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China.

FAX: +81-29-861-3125, TEL: +81-29-861-3124, E-mail: jun-hirabayashi@aist.go.jp

(受付日: 2017年8月20日, 受理日: 2017年10月12日)

キーワード: *Agrocybe cylindracea*, キノコガレクチン, ガレクチン定義, シス-トランス異性化, 分子進化, GalNAc α 1-3Gal

要 約

食用キノコの一つである *Agrocybe cylindracea* (和名: ヤナギマツタケ) の子実体には ACG と名づけられたプロト型ガレクチンが含まれる。ACG は他のガレクチンと異なり、血液型 A 抗原やフォルスマン抗原に含まれる GalNAc α 1-3Gal/GalNAc という二糖構造にも結合する。ACG の構造は S4 ストランドに配置される進化的に保存された 65 位の Asn を欠くが (Ala65)、この欠損は本分子に特徴的な伸張したループ領域に存在する Asn46 によって補われている。最近行われた部位特異的変異導入によって、この Asn46 を Ala に置換した N46A 変異体が上記 GalNAc α 1-3Gal/GalNAc 二糖構造を含むオリゴ糖に選択的に結合することが示された。胡らは、Pro45 がシス型で存在するという以前の観察結果から、ACG が Pro45 のイミド基を介し二つのコンフォメーションをとると推定した。すなわち、シス型では β ガラクトシド構造を認識し、一方トランス型では上記 GalNAc α 1-3Gal/GalNAc 構造を認識するというものだ。この二重認識という推定メカニズムが実際に正しいことが、その後の部位特異的変異実験と X 線結晶解析によって証明された。ここで注目すべきは、N46A 変異体が認識しているのは非還元末端 GalNAc α 1-3Gal/GalNAc という二糖部分のみだということだ。「ヤヌス型」と呼べる二つの顔を持った本レクチンは、一側面では従来のガレクチンの定義を満たすが、他側面ではもはや満たさない。ガレクチンが進化の過程で逸脱する過程を構想してみた。

A. はじめに

1994 年にガレクチンの定義が提案されて以来(1)*、ひとつの疑問が残っている。それは、なぜガレクチンの特異性が β ガラクトシドに限定されているのかという点である。 β ガラクトシド型糖鎖への結合は、ゼリーロール構造と呼ぶトポロジーをもつガレクチン分子の β サンドイッチ構造の片面における、進化的に保存された S4-S6 ストランド部分で賄われている(3)。いくつかのガレクチンは柑橘類由来のペクチン多糖に結合するという報告がある。ガレクチン-3 では上記結合部位を介しこれらの多糖に結合し、腫瘍の促進や転移などの作用を阻害するとされる(4-8)。しかし、最近の報告は、これら多糖への結合はガレクチンがもつ規範的な糖認識ドメイン (CRD) を介したものではなく、本来の

結合部位以外が存在を示唆している(9-11)。よって、ガレクチン本来の CRD による糖認識は、1 型ないし 2 型ラクトサミン (Gal β 1-3/4GlcNAc)、およびその類型である LacdiNAc (GalNAc β 1-4GlcNAc)、Gal β 1-4Man、GalNAc β 1-4GlcA、Gal (NAc) β 1-3Gal (NAc)、Gal β 1-3Fuc などの多様な β ガラクトシド二糖に対するものが基本といえる(12, 13)。しかし、中には例外的にユニークな糖特異性を示すガレクチンも存在する。本レビューでは *Agrocybe cylindracea* というキノコ由来のガレクチンについて述べる。このレクチンは非常に幅広い特異性を示し、ラクトース以外に、その 3' OH 基が修飾された α 2-3 シアリルラクトースや 3' スルフォラクトース、A 抗原四糖の他、GalNAc α 1-3Gal (NAc) など β ガラクトシド以外の糖も認識する。

ACG はキノコ *A. cylindracea* から八木らによって単離された可溶性のレクチンで、NeuAc α 2,3Gal β 1,3GlcNAc-/GalNAc 構造を含む糖鎖と強く相互作用することが記述されたが(14)、その後ガレクチンの仲間であることが示された(15)。ACG は分子量 16,500 Da のサブユニットが二量体をつくるプロト型のガレクチンであるが(16)、このサイズは他のプロト型ガレクチン (14,000–15,000 Da) よりも若干大きい。これは、ACG には一本余計に β ストランド (本稿では F0 と

*ガレクチンは、1994 年当時の 21 人のガレクチン研究者における合意の下、以下のように定義された。ガレクチン家系のメンバーは二つの要件、すなわち β ガラクトシド糖鎖に対する特異性を有することと、X 線結晶解析(2)で明らかにされた糖結合に関わるアミノ酸残基を含む配列上の類似性を有することが求められる。これらはいくつものガレクチン研究から明らかになったもので、His44、Asn46、Arg48、Asn61、Trp68、Glu71、Arg73 などの保存残基によって賄われている (残基番号はヒトガレクチン-1)。

する)が存在すること、F2、F3と呼ばれるストランド間に冗長なループ領域が存在することによる(図1、17)。

ACGの生理的な役割はわかっていないが、他のキノコ *Coprinopsis cinerea* 由来のガレクチン (CCG2) では線虫 *Caenorhabditis elegans* のもつNグリカンのコア部分に付加したGal β 1-4Fuc構造を介し抗線虫活性を示すことが知られている(18)。さらに別のキノコ *Agrocybe aegerita* 由来のAAGでは(同種由来で別の有名なキノコレクチンAALと区別するため本稿ではこう呼ぶ)、抗腫瘍活性が報告されている(19, 20)。AAGはACGと酷似しており(アミノ酸レベルで90%一致)、上述F0ストランドやF2-F3間の余剰ループも存在するが(F節で論述)、詳細な糖特異性は現時点まで明らかにされていない。別のキノコである *Laccaria amethystina* からLAGと名づけられたレクチンが見つかり、*Agrocybe* や *C. cinerea* のガレクチンと35-65%のアミノ酸配列の一致を示す(21)。また、別の *Laccaria* 属のキノコ *L. bicolor* には3つ

のガレクチン関連遺伝子 (LBG1-3r) が存在することがわかっている(22)。これら関連遺伝子の機能解析はまだなされていないが、LBG1rと2rについては、他のガレクチンとの広範な類似性ととも、 β ガラクトシド糖鎖の認識に必須とされるHis44、Asn46、Arg48、Asn61、Trp78、Glu81、Arg83(残基番号はヒトガレクチン-1。詳細は図2を参照)といったアミノ酸残基のほとんどが保存されている(23)。

以前、今村らはACGにおけるGlu86残基に点突然変異を導入することで、酸性糖鎖への親和力を保持しながらガレクチン共通の β ガラクトシドへの結合活性を取り除く試みをした(25)。さらに最近、胡らはACGの糖結合に関与する親水性アミノ酸、すなわちAsn46、His62、Arg66、Asn75、Glu86に注目した改変を試みたが、そのうちAsn46をアラニンに置換したN46A変異体はACGに特有なGalNAc α 1-3Gal/GalNAcに対する特異性を保ちながら、 β ガラクトシドへの結合活性を失った変異体であった(26)。さらに彼らは改変によ

図1. a, ACGおよび他のガレクチンのアミノ酸配列。ACG; *Agrocybe cylindracea* ガレクチン; CCG-2; *Coprinopsis cinerea* ガレクチン・アイレクチン-2; hGal-1: ヒトガレクチン-1; hGal-7: ヒトガレクチン-7; Cg-16: ニワトリ 16K ガレクチン。F0-F5と名付けられた5+1本の β ストランドとS1-6と名付けられた6本の β ストランドを配列の上部にそれぞれ青と赤の横棒で示す。キノコガレクチンACGに特徴的な余剰なループ領域はF2-S3ストランド間に存在し、そこに5アミノ酸からなる配列GSPNNが挿入されている(赤字で表示)。S4-S5間のループ領域は脊椎動物ガレクチン(hGal-1とCg-16)と比べると短くなっている。b, ACGにおける β ストランドの構築様式。aと同様F0-F5およびS1-S6ストランドをそれぞれ青および赤の矢印で示す。キノコガレクチンACGとAAGにおいて、F2-S3間の余剰ループ領域に存在するPro45がシス型コンフォメーションをとると、それに続くAsn46が糖との結合に関与できるようになる(残基番号はACG)。キノコのガレクチンでは脊椎動物ガレクチンに存在するS4-S5ストランド間のテトラペプチドが欠損している。

図2. ヒトガレクチン-1とN-アセチラクトサミンの結合。 a, 進化的に保存された親水性残基は水素結合を介して糖の認識に関与する。Galの4位水酸基はS4ストランドにあるHis44、Asn46、Arg48と、6位水酸基はS5ストランドのAsn61およびS6ストランドのArg73と水素結合し、GlcNAcの3位水酸基はS5ストランドAsn61およびS6ストランドのGlu71、Arg74と水素結合を形成する。一方、Trp68はGalの疎水面（B面）と相互作用する。データはPDB: 1SLT(23) による。b, ガレクチン-1とN-アセチラクトサミンとの結合の様子をスキームで示した図。データはLobsanovとRini(24) による。

る解析を積み重ね、野生型とN46A改変体についての詳細なX線結晶解析も行った。ACGは大腸菌での生産性が高いうえ（10mg/L以上の可溶性タンパク質として調製可）、多様な糖特異性を備えているため、改変などのエンジニアリング目的にたいへん適したタンパク質である(27)。

B. 菌類の分類とレクチン

ACG分子の詳細を述べる前にこのレクチンの起源である *A. cylindracea* が属する菌類の生物学的な位置づけについて概観しておきたい。酵母、カビ、キノコに代表される菌類は、大きな真核性微生物のグループである界（kingdom）を形成する。菌類はさらに、ディカリヤ *Dikarya* 亜界（子囊菌門 *Ascomycota* と担子菌門 *Basidiomycota* で構成）、グロムス門 *Glomeromycota*、接合菌門 *Zygomycota*、コウマクキン門 *Blas-tocladiomycota*、ネオカリマスティクス門 *Neocallimastigomycota*、微胞子虫門 *Microsporidia*、ツボカビ門 *Chytridiomycota* に分けられる。菌類は形が小さくそのためしばしば「忘れられた界」とも揶揄されるが、生物環境における役割は重要で、炭素サイクルや共生といったさまざまな形で近くの生物群と連携している(28)。

キノコは古来、中国では医薬や食品として用いられてき

たが、中国や日本を含むアジア諸国では今でも魅力的な研究題材である。生物活性を持った成分が各種キノコから単離されている。たとえばβグルカンなどの多糖、多糖ペプチドや多糖-タンパク質複合体などの複合糖質、プロテアーゼやリボヌクレアーゼなどの水解酵素、リボソーム不活性化タンパク質、抗真菌タンパク質、免疫調節タンパク質、そしてレクチンである。キノコから得られるレクチンにはしばしばリンパ球幼若化活性や抗増殖活性、抗腫瘍活性、抗ウイルス活性、免疫刺激作用などが見出される(29)。しかし、これらの作用を期待した実用化にはなお課題があり、とくに証拠に基づく医学（evidence-based medicine）の質が問われている。

Varrotらは菌類レクチンの多様な役割について述べているが(30)、それらには貯蔵、発生、寄生、凝集、交配といったことが含まれる(18, 31)。近年、菌類レクチンはバイオテクノロジー分野での応用に高い関心を集めている。というのは、菌類が新規レクチンの宝庫だからだ。とくにユニークな特異性を持ったレクチンが多く、かつ安定性や生産性といった実用上の観点からも優れているものが多い。よく調べられていて商業的に入手可能なレクチンとして、ツクリタケ *Agaricus bisporus* レクチン（ABL）、ヤナギマツタケ *Ag-royce cylindracea* ガレクチン（ACG）、ヒオロチャワンタケ

Aleuria aurantia レクチン (AAL)、*Aspergillus oryzae* レクチン (AOL)、ハイイロシメジ *Clitocybe nebularis* レクチン (CNL)、シバフタケ *Marasmius oreades* レクチン (MOL)、ムジナタケ *Psathyrella velutina* レクチン (PVL)、*Rhizopus stolonifer* レクチン (RSL)、スギタケ *Pholiota squarrosa* レクチン (PhoSL)、アミヒラタケ *Polyporus squamosus* レクチン (PSL) などが挙げられる。これら菌類レクチンの詳細な性質や構造については Varrot ら (30)、ないし、小林と河岸 (32) の総説を読みたい。

菌類はレクチンの宝庫であると述べた。Shubert らによれば、「動くことができず、よって支配者や侵略者から逃れるすべを持たない多細胞性の菌類と植物は互いによく似た防御戦略を進化させた」という。彼らは獲得免疫や巡視する免疫システムを持たないため、その戦略は「自然の防御」システムに頼らざるを得ない (33)。これまで同定された菌類の防御関連タンパク質の中で、レクチンの占める割合は、数的にも質的にも大きいというデータがある (34-37)。おそらく菌

類のレクチンが量的にたいへん豊富で、また安定性も高いことが、子実体や菌核の繁殖力と長期生存に関わっているのだろう。このように、菌類レクチンは医学やバイオテクノロジー分野での応用が期待できる題材と言える。

C. *A. cylindracea* ガレクチン ACG の糖特異性： β ガラクトシド以外の糖を含む広い特異性

ACG は他のガレクチンと比べ広い特異性をもつ。具体的には、3'-シアリルラクトース Neu5Aca2-3Gal β 1-4Glc、3'-スルフォラクトース sulfo-3Gal β 1-4Glc、血液型 A 抗原四糖 Fuc α 1-2 (GalNAca1-3) Gal β 1-4Glc、フォルスマン五糖 GalNAca1-3GalNAc β 1-3Gala1-4Gal β 1-4Glc など、多様な β ガラクトシド糖鎖に結合する。図 3a に今村らによるフロントル・アフィニティクロマトグラフィー (FAC) の解析結果を示す (25)。ACG は基幹骨格であるラクトースの C3' 位に硫酸化や α Neu5Ac、 α GalNAc の修飾が起これと結合力の増強が観察されるという特徴がある。ラクトース以外の β ガラクト

図 3. FAC による野生型 ACG (a) および変異型ガレクチン N46A (b) の糖に対する親和性の定量解析。129 種類のピリジルアミノ化糖鎖に対する結合力を親和定数 (K_a) で示す。ACG および N46A のデータはそれぞれ今村ら (25) と胡ら (26) による。

シドでも非還元末端のGalやGalNAcのC3位に修飾が起これば結果は同様で、これは「サブサイト特異性」として理解される(38)。事実、このサブサイト特異性を起点として、さまざまな阻害剤がガレクチン標的医薬品として開発されている(39–41)。ガレクチン-3やガレクチン-9のCRDでも観察されるように、ACGもLacNAc₂、LacNAc₃、LacNAc₅といったラクトサミン構造(LacNAcβ1-3)の繰り返しに対して親和性を増すが、その効果はACGではそれほど顕著ではない。D節で後述するが、ACGの広範な特異性の要因は単にラクトース骨格のC3'位への修飾によるものだけではない。というのも、ACGはフォルスマン二糖GalNAcα1-3GalNAcという二糖にも結合するが、これはラクトースと異なりもはやβガラクトシドではないからだ。

ガレクチンの糖結合活性には進化的に保存された親水性残基が重要で、それらは糖への水素結合に関与することが広く知られている(図2)。実際、ヒトガレクチン-1のHis44、Asn46、Arg48、Asn61、Glu71、Arg73を性質の類似したアミノ酸に置換した変異体、H44Q、N46D、R48H、N61D、E71Q、R73Hは完全に活性を失う(42, 43)。これは進化的に離れた生物由来のガレクチンにも当てはまり、たとえば、線虫*Caenorhabditis elegans*においてもこれらの親水性残基は、Trp68(残基番号はヒトガレクチン-1; 44)とともにつよく保存されている。Trp残基はβガラクトース残基の疎水面に「スタッキング」と呼ばれる相互作用をすることで結合を安定化している(38)。

これまで、*Agrocybe*属のガレクチンについては二つの報告がある。一つは*A. cylindracea*由来のACGで、もう一つは*A. aegerita*由来という近縁種由来のAAGである。興味深いことに、進化的に保存されヒトガレクチン-1のAsn46に相当するアミノ酸残基がこれら*Agrocybe*属のガレクチン、ACG、AAGではいずれもAlaに置き換わっている(残基番号は開始Metを1とした場合64、図1a参照)。伴らによる以前のX線結晶解析で(17)、この保存されたAsn残基の欠損は46位に存在する別のAsn残基によって「穴埋め」されていることがわかった。このAsn46はF2とS3と呼ばれる二本のβストランドを結ぶ余剰ループ領域(Gly-Ser-Pro-Asn-Asn; 下線はAsn46)に存在し、他のガレクチンではこの領域がない。さらに興味深いのはこの一つ前のPro45残基の存在だ。Pro45が通常とは異なるシス型のコンフォメーションをとっていることを伴らは報告している(17)。その結果、Asn46がラクトースと結合することが可能になったのだ。

D. 系統的変異導入によって明かされたACGのGalNAcα1-3Gal/GalNAc認識機構

胡らはACGの糖結合機能に関与する親水性アミノ酸に着目した網羅的な変異導入を行った。標的残基は進化的に保存されたHis62、Arg66、Asn75、Glu86、および保存されて

いないが結合に関わる上記Asn46である(26)。ACGの広すぎる特異性を狭めることが実験の意図だったが、予想外の結果が得られた。保存されたHis62、Arg66、Asn75、Glu86(ヒトガレクチン-1のHis44、Arg48、Asn61、Glu71に相当)をAlaに置換した場合、得られた変異体のうちH62A、R66A、N75Aは予想通り活性を失い、またE86Aは失活にはいたらないものの数種のオリゴ糖に対し弱い活性を示すにとどまった(45)。これに対し、保存されていないAsn46をAla置換したN46A変異体はGalNAcα1-3Gal/GalNAc構造を含むオリゴ糖に対し、きわめて高い親和性を示すようになった。一方、ラクトースやLacNAcなどのβガラクトシド一般に対してはまったく結合しなかった。図3bにFACによる定量的特異性解析の結果を示す。

注目すべきことに、いくつかのオリゴ糖に対する結合力が野生型と比べ明らかに上昇していた。すなわち、血液型A抗原六糖Fuca1-2(GalNAcα1-3)Galβ1-3GlcNAcβ1-3Galβ1-4Glc(FACで求めたK_d値、3.8 μM)、同じくA抗原四糖Fuca1-2(GalNAcα1-3)Galβ1-4Glc(5 μM)、フォルスマン五糖GalNAcα1-3GalNAcβ1-3Gala1-4Galβ1-4Glc(10 μM)は野生型より親和性が増強していた。これらの糖鎖に共通するのはGalNAcα1-3Gal/GalNAcという非還元末端の二糖構造である。胡らはさらに糖鎖複合体アレイという手法を用い、N46A変異体がフォルスマン二糖GalNAcα1-3Galにも十分結合することを見出した(図4)。しかし、N46Aがβガラクトシドではないフォルスマン二糖に結合することはこれまでの常識では説明できない。一方、同じ解析を野生型ACGについて行ったところ、A抗原四糖には結合するがフォルスマン二糖には結合が見られなかった。この観察から、ACG変異体(N46A)は野生型とは異なる構造を備え、それが両者の糖特異性を決定していることが予想された。

ここで胡らはPro45のシス-トランス異性化がACGの異なる二つの構造状態に関係していると仮定した(図5)。そこでAsn46をAla以外に置換したすべてのN46X変異体を構築したところ、新たに作成した18のN46X変異体は、糖鎖複合体アレイ解析でいずれもN46Aと同じ糖結合プロファイルを示し、GalNAcα1-3Gal/GalNAcに対し選択的に結合した(図6)。以上の観察から、Asn46がβガラクトシドに対する結合を担っていること、Asn64(もし保存されていれば)の欠損により、それを補うためにPro45のシス異性化が必要である可能性が高まった(17)。一方、すべてのN46X変異体でPro45はトランス型をとっていると考えられる。なぜならこれらの変異体はいずれもβガラクトシド糖鎖に結合せず、Pro45はシス型になる必要がないからだ。その場合、構造的により好ましいtrans型となっているはずだ。おそらく、そのことがGalNAcα1-3Gal/GalNAcを有する糖鎖への選択的な結合性につながったのだろう。もし、この仮定が正しく、Pro45が特異性の「切り替え」役となっているとしたら、圧

図4. 糖鎖複合体マイクロアレイによる野生型ACG (a) および変異ガレクチンN46A (b) の解析。 データは胡ら (26) による。

図5. ACGおよびN46A変異体における糖結合モードのちがひ。野生型ACGはPro45がシス型コンフォメーションをとった状態でラクトースと結合する。この際、その次に位置するAsn46残基が非還元末端ガラクトースと水素結合を形成することが可能になる。ACG全体の構造を、リガンドなしの状態（黄色）とラクトースとの複合体形成時（緑）を重ねて表示する。2枚の β シートはF0-F5と表記されたFシートとS1-6と表記されたSシートからなる。図 (a) 中の点線で囲った部分を (b) で拡大する。Pro45がシス-トランス変換することで大きなコンフォメーション変化が予想される3アミノ酸残基、Ser44、Pro45、Asn46を一文字表記し、それらの構造を細線で示す。Ser44-Pro45間のペプチド結合は太い赤線で誇張して表記する。データはPDB: 1WW6 (ACG/lactose complex) and 1WW7 (ACG/free) を基に作成。

図6. すべてのAsn46変異体 (N46X) はN46Aと類似の結合プロファイルを示す。野生型ACGとN46X全変異体の糖結合プロファイル解析は糖鎖複合体マイクロアレイによって行われた。19すべての変異体はN46Aと同等の糖鎖結合プロファイルを示している。データは胡ら(26)による。

倒的に安定なトランス型を取ることが想定されるPro以外のアミノ酸に置換したP45X変異体も、N46X変異体と同様の特異性プロファイルを示すはずだ。仮説を証明するため構築したP45A変異体は、予想通りN46X変異体と酷似した結合プロファイルを示した。すなわち、A抗原四糖Fuca1-2 (GalNAc α 1-3) Gal β 1-4GlcNAcとフォルスマン二糖GalNAc α 1-3GalNAcに結合し、 β ガラクトシド糖鎖にはまったく結合しなかった(図7)。

以上の結果から、ACGは β ガラクトシド糖鎖に結合するときPro45は通常型ではないシス型のコンフォメーションをとり、一方これがトランス型になったときには、GalNAc α 1-3Gal/GalNAcなど、他のガレクチンにはないユニークな特異性を発揮するようになることが推論された。この仮説を検証するため、桑原らは野生型とN46A変異型のACG両方について結晶解析を行った。結晶化は遊離状態とラクトース、またはA抗原四糖との複合体について行い、得られた結果を先の伴らのデータ(17)と比較した。図8に今回決定した構造を以前伴らが報告した構造と重ねて示す。ここで、Ser44-Pro45-Asn46の3アミノ酸残基からなる44-46残基の領域で最大の構造変化が起こっていることに注目されたい。余剰なループ領域に含まれる44-46残基付近が、Pro45のシストランス異性化によって大きく構造変化していることが明らかだ。これらの観察から桑原らは、i) Pro45は、野生型ACG

がラクトースと結合するときシス型コンフォメーションをとり、遊離状態のときはより安定なトランス型をとること、ii) 野生型ACGがA抗原四糖と結合する際にはトランス型をとる、と結論付けた。また、iii) N46A変異体においてトランス型コンフォメーションは、遊離状態であれA抗原四糖と結合する場合であれ、一貫して維持されと考えられた。

詳細な結合メカニズムは以下のように推論した。野生型ACGがラクトースに結合する場合(古典モード)、Pro45はシス型コンフォメーションをとる。このことによりそれに続くAsn46が進化的に保存されたAsn65の欠損を補うかたちで非還元末端ガラクトースのC3位水酸基、およびC4位水酸基と水素結合を形成する。他の結合様式については通常とまったく同様で、ガラクトースのC4位水酸基はHis62(ヒトガレクチン-1のHis44に相当、以下同様)と水素結合、C6位の水酸基はAsn75(Asn61)と水素結合、還元末端側グルコースのC3位水酸基はArg66(Arg48)およびArg88(Arg73)と水素結合を形成する。さらに、Trp83(Trp69)とGlu86(Glu71)も認識に関与する(図9a)。これとは逆に、野生型ACGやN46A変異体がA抗原四糖と結合する場合(新規モード)、Pro45はトランス型コンフォメーションをとる。その結果、Asn46残基の側鎖は結合部位と反対側を向く。一方この状況下、Trp83のインドール環における窒素原子がGalNAcのC6位水酸基と新たに水素結合を形成する。同時に、Asn47、

a

b

図7. P45A変異体はN46Aと類似の糖鎖結合プロファイルを示す。糖鎖複合体マイクロアレイによるN46A (a) およびP45A (b) の解析結果。データは胡ら (26) による。

Ala49, Asn140, Thr142といったアミノ酸残基の側鎖がGalNAc残基に近づき、Nアセチル基部分と広範なファンデルワールス接触を果たす (図9b)。このことによってN46Aにおける強く選別的な α GalNAc含有糖鎖に対する親和性が発生する。図10にPro45がシス型コンフォメーションをとったときの結合の様態を示す。

FACで求めた K_d 値的を眺めると、野生型ACGの親和性はN46変異体と比べ明らかに弱いことに気づく。このことは、野生型ACGが溶液状態にいるとき、シス型とトランス型のPro45が混在していることを反映しているのかも知れない。

E. ガレクチンからの逸脱

なぜACGだけがフォルスマン五糖やA抗原四糖に代表されるGalNAc α 1-3Gal/GalNAc含有糖鎖に対し結合能を獲得したのか。ここで、Gly-Ser-Pro-Asn(46)-Asn配列を含む余剰なループ領域の存在が重要な役割を担う。すでに述べたように、Asn46は進化的に保存されたAsnの欠損を補うべく、ガラクトースのC4位水酸基への水素結合形成の代役を果たしてみせた。ACGの場合、特にその前に位置するPro45の存在

が不可欠で、Asn46の側鎖がガラクトースのC4位水酸基と接触する先導役となっている。

さて、このミニレビューを執筆中に他のキノコガレクチンの中に余剰なループ領域を有するものはいくつか存在することに気づいた。それらは*A. aegerita*由来のAAG、*L. amethystina*由来のLAG、*L. bicolor*由来のアイソレクチンLBG1-3r、それから*C. cinerea*由来のアイソレクチンCCG1-3である。しかし、これらの中では同じ属である*Agrocybe*由来のAAGのみが件の「Pro-Asn」配列をもつ。AAGのアミノ酸配列をよくみると、Gly-Asn-Pro-Asn-Asnという配列はACGのGly-Ser-Pro-Asn(46)-Asnとほぼ一致する。事実AAGにおけるPro43 (ACGのPro45に相当) はラクトースに結合する際、シス型コンフォメーションをとっていることが示されている (PDB ID: 2ZGM; 20)。興味深いことに、AAGのPro43は遊離状態においてもシス型コンフォメーションをとっている (2ZGL)、ラクトース結合理型との構造変異はRMSDとしてわずか0.3–0.5 Åである。AAGについてはGal β 1-3GalNAc α との詳細な結合解析が行われているものの、現時点でこのレクチンがACGと同様、GalNAc α 1-3Gal/GalNAc含有糖鎖に結合するかどうかはわからない(47)。

図8. 野生型 ACG と N46A 変異体の遊離状態、およびラクトース、A 抗原四糖との複合体の結晶構造間の類似性。データは桑原ら (44) による。PDB: 3WG1 (野生型とラクトースの共結晶)、3WG2 (N46A 変異体の遊離状態)、3WG3 (野生型と A 抗原四糖)、3WG4 (N46A 変異体の遊離状態)。参考として野生型とラクトースとの共結晶構造 (PDB ID: 1WW6) も示す (15)。

図9. ACG で観察された二つの結合モード：ラクトース (野生型、a) と A 抗原四糖との結合 (野生型および N46A 変異体、b)。データは桑原ら (46) による。PDB ID: 3WG1 (野生型とラクトース)、3WG3 (野生型と A 抗原四糖)。

図 10. ACGとN-アセチルラクトサミンとの結合の全容。進化的に保存されたAsn64（ACGではAla64に変異）の欠損により、非還元末端ガラクトースの4位水酸基の認識が不十分な状態となる。しかし、Pro45がシス型コンフォメーションをとることによって、Asn46側鎖が4位水酸基と接触可能となり欠損の代替機能を果たす。

他のキノコ由来のガレクチンもさまざまな長さの余剰ループをもつようだが、同等な位置にACGが有する「Pro-Asn」モチーフを持つ訳ではない。しかし、少し離れた位置であれば「Pro-Asn」を見つけることができる（図11）。たとえば、*L. amethystina* ガレクチンLAGにおけるPro-Asn（残基番号36）や*C. cinerea* ガレクチン様アイソレクチンCCG3rにおけるPro-Asn(37)である。これらのガレクチンについてはまだ結晶解析が行われていないが、これらAsn残基がF2-S3ストランド間をつなぐ柔軟なループ領域に存在することを鑑みると、その前のPro残基がシス型コンフォメーションをとることによって糖結合に関与する可能性はある。*Agrocybe* 属由来のACGとAAGを除いては、これらキノコガレクチンに関する詳細な糖結合活性は調べられていない。FengらはAAGがThomsen-Friedenreich抗原として知られるGal β 1-3GalNAc α 構造にユニークな水素結合を介し結合することを報告している。すなわち、進化的に保存されたArg85（ヒトガレクチン-1のArg73に相当）が水分子を介し、Arg85-水分子-Glu66-水分子というモチーフを形成し、上記構造に結合するという(47)。一方、Glu66がキノコのガレクチンでは広く保存されているが、これは脊椎動物のガレクチンではまったく見られない（図11）。FengらはPro42、Asn43、His59、Arg63、Asn72、Trp80、Glu83といった残基が非還元末端ガラクトースとの結合に関与すると述べているが、

Pro45の関与やシス型コンフォメーションについては言及していない。

F. 想定される筋書き

上記の情報を元に、ACGや他の関連ガレクチンがどのような進化過程をたどってきたかを考えてみたい。すでに述べたように、現存のACGはシス型とトランス型とをとりうるPro45残基の仲介によって、それぞれ β ガラクトシドと α GalNAcに対する結合特性を備えている。よって、ACGは現行のガレクチンの定義を満たすし(1)、そこからの逸脱はガレクチンの子孫の一環として理解できる。ここで、このヤヌス型二重特異性というべき特質は、*Agrocybe* ガレクチンに備わったF2-S3ストランド間を結ぶ余剰なループ領域と、そこに存在するPro45（シス型コンフォメーションをとる場合）とAsn46（保存されたAsn65の欠損を補う代役）の二残基という三つの要素すべてがそろってはじめて成り立つ。祖先型ACGではAsn65をまだ保持していて β ガラクトシドに対する結合能を保持していたことが想定される。しかし、この先もしPro45やAsn46に変異が生じて、たとえば現在のCCA(Pro)-AAC(Asn)という塩基配列が一塩基の非同義置換によってCGA(Arg)-AAC(Asn)やCCA(Pro)-ATC(Ile)といった配列に変化したらどうであろう。GalNAc α 1-3Gal(NAc)構造に対する結合は維持されかもしれないが、ガレクチン本来の β ガラクトシドに対する結合能は失われよう。この場合、変異を生じた分子(P45XやN46X)はもはやガレクチンの定義を満たさなくなる（図12）。

糖結合活性を証明することのできないガレクチン関連分子といわれるものが数多く存在する。古くから知られるCharcot-Leyden結晶タンパク質(48)やGRIFIN(galectin-related interfiber protein; 49)がその先例といえる。前者はガレクチン家系の一員として見つかりガレクチン-10と命名されたが、 β ガラクトシドに対する結合活性はほとんどない。なぜなら、進化的に保存された親水性残基の多くが変異しているからだ(H44R、N46R、R48H、R73T。残基番号はヒトガレクチン-1)。面白いことに、このタンパク質は胎盤の免疫に関与しておりPP13とも呼ばれている。最近の研究ではPP13は胎盤における免疫調節タンパク質のひとつで、妊娠中の生体防御に関わっているという(50)。

GRIFINは目のレンズに特異的なタンパク質で、レンズの繊維細胞間の境界部分に局在している。これも β ガラクトシドに対する親和性を失っていて、進化的に保存されたアミノ酸残基2箇所に変異がある(N46KおよびR73V)。PP13やGRIFINには、ACGと異なりF2-S3間の余剰ループ領域はない。ゼブラフィッシュにはGRIFINのホモログが見つかり、レンズに特異的に発現することが確認されている。しかし、奇妙なことに、ゼブラフィッシュのGRIFINには β ガラクトシド結合活性が検出され、糖結合に関わる重要

図 11. ACG および関連ガレクチンのアミノ酸配列比較。 残基番号は ACG を基準に付与（開始 Met を 1）。ヒトガレクチン-1 の配列したに付した星印（*）は進化的に保存された糖結合残基を示す。ACG が β ガラクトシド（ラクトースなど）結合時にシス型コンフォメーションをとる Pro45 には上にドットを付した。AAG が Gal β 1-3GalNAc と結合する際、水分子を介したユニークな水素結合形成に関与する Glu69 と Arg88 は赤で示した。余剰、および短縮されたループ領域は青で囲った。参考のため、ヒトガレクチン-1（hGal-1）の配列を最下部に示した。略号は以下のとおり。ACG: *A. cylindracea* ガレクチン、AAG: *A. aegerita* ガレクチン、LAG: *L. amethystina* ガレクチン、LBG1-3: *L. bicolor* ガレクチン・イソレクチン 1-3、CCG1-3: *C. cinerea* ガレクチン・イソレクチン 1-3。CCG3r および LBG1r-3 はゲノムデータベースから推定される潜在的なガレクチンで糖結合活性の証明はされていない。

図 12. ACG の誕生とガレクチンからの脱逸を想定した進化シナリオ。ユニークな F2-S3 ストランド間を結ぶ余剰なループ領域にシス型、トランス型のコンフォメーション双方をとれる Pro45 が存在することによって、現在の ACG にはそれぞれ β ガラクトシドと α GalNAc のいずれにも結合する能力が備わっている。しかし、*Agrocybe* 属を含むキノコガレクチンの祖先型にはもともと Asn64 が備わっていたはずである。もし将来、Pro45 や Asn46 に変異が生じれば、ガレクチン固有の能力、すなわち β ガラクトシドに対する結合力は失われる一方、GalNAc α Gal (NAc) 含有糖鎖に対する結合能は保持されるだろう。その場合、生成した子孫分子（P45X や Asn46）はもはやガレクチンの定義を満たさなくなる。

な7つのアミノ酸、すなわちHis44、Asn46、Arg48、Asn61、Trp68、Glu71、Arg73がすべて保存されている(51)。より最近、ニワトリのホモログであるC-GRIFINがGabiのグループにより見つかりレンズでの局在が確認された。しかし、この分子ではアミノ酸変異は最少のR73Vのみで、 β ガラクトシド結合活性は保持されていた(52)。他の多くのガレクチン関連タンパク質はレクチンとして機能していないらしいが、ガレクチンと同様の構造を維持し、ガレクチンと同様、幅広い生物分布をしているのは不思議である(53, 54)。進化過程で起こったことと実際の糖結合活性は、生物進化で分岐したそれぞれの生物種間で必ずしも一致しない(詳細は本特集号におけるGabiの稿を参照)。

G. 結語

1994年に提唱されたガレクチンの定義だが、どうやら25周年を迎える前に再考の時期を向かえそう。古典的な定義での要件は β ガラクトシド糖鎖への結合性と配列上の類似性であった。しかし、さまざまな生物のゲノムが解き明かされるにつれ、多くの例外の存在が明るみになり、もはや上記要件は拡張、ないし修正すべき事態となった。ガレクチンが脊椎動物、無脊椎動物、植物、菌類を含む多くの生物で β ガラクトシド結合特異性を示すことは十分確認された(55、

56)。最近の考察では、ガレクチンは本来、侵入を試みる病原菌の表面糖鎖に結合し自然免疫における認識とエフェクター因子として機能していたのではないかと論じてられている。一方、病原菌は宿主ガレクチンの認識を回避するすべを講じる(57)。なぜ、 β サンドイッチ-ゼリーロール構造というガレクチンが有するタンパク質骨格が β ガラクトシド結合活性という特性に向かうのか、腰を据えて調べてみる必要がある。このためには、ガレクチン骨格を持ち、かつ β ガラクトシド以外の特異性を持つレクチンを作るかをまず試してみるべきだ。本稿では、菌類レクチンACGが余剰ループ領域に存在するPro45のシス-トランス異性によって β ガラクトシドと α GalNAc含有糖鎖への結合が篩い分けられていることを強調したが、このことは糖結合タンパク質に限ることではなく、他の機能タンパク質にも共通して見つかる現象であろう。

謝 辞

小林夕香博士(J-オイルミルズ株式会社)には菌類の分類に関し、岩城隼(東京化成工業株式会社)博士にはガレクチンの特異性に関し有益な議論をする機会をいただいた。英文校正はEditage(www.editage.jp)によって行われた。

参考文献

- Barondes, S. H., Castronovo, V., Cooper, D. N. W., Cummings, R. D., Drickamer, K., Felzi, T., Gltt, M. A., Hirabayashi, J., Hughes, C., Kasai, K., Leffler, H., Liu, F.-T., Lotan, R., Mercuri, A. M., Monsigny, M., Pillail, S., Poirer, F., Raz, A., Rigby, P. W. J., Rini, J. M., and Wang, J. L. (1994) *Cell* **76**, 597–598.
- Lobsanov, Y. D., Gitt, M. A., Leffler, H., Barondes, S. H., and Rini, J. M. (1993) *J. Biol. Chem.* **268**, 27034–27038.
- Barondes, S. H., Cooper, D. N., Gitt, M. A., and Leffler, H. (1994) *J. Biol. Chem.* **269**, 20807–20810.
- Inohara, H., and Raz, A. (1994) *Glycoconj. J.* **11**, 527–532.
- Glinksky, V. V., and Raz, A. (2009) *Carbohydr. Res.* **344**, 1788–1791.
- Sathisha, U. V., Jayaram, S., Harish Nayaka, M. A., and Dharmesh, S. M. (2007) *Glycoconj. J.* **24**, 497–507.
- Li, Y., Liu, L., Niu, Y., Feng, J., Sun, Y., Kong, X., Chen, Y., Chen, X., Gan, H., Cao, S., and Mei, Q. (2012) *Eur. J. Nutr.* **51**, 107–117.
- Venkateshaiah, S. U., Eswaraiah, M. S., Annaiah, H. N., and Dharmesh, S. M. (2017) *Clin. Exp. Metastasis* **34**, 141–154.
- Miller, M. C., Ippel, M. C., Suylen, D., Klyosov, A. A., Traber, P. G., Hackeng, T., and Mayo, K. H. (2016) *Glycobiology* **26**, 88–99.
- Zhang, T., Zheng, Y., Zhao, D., Yan, J., Sun, C., Zhou, Y., and Tai, G. (2016) *Int. J. Biol. Macromol.* **91**, 994–1001.
- Stegmayr, J., Lepur, A., Kahl-Knutson, B., Aguilar-Moncayo, M., Klyosov, A. A., Field, R. A., Oredsson, S., Nilsson, U. J., and Leffler, H. (2016) *J. Biol. Chem.* **291**, 13318–13334.
- Hirabayashi, J., Hashidate, T., Arata, Y., Nishi, N., Nakamura, T., Hirashima, M., Urashima, T., Oka, T., Futai, M., Muller, W. E., Yagi, F., and Kasai, K. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1572**, 232–254.
- Iwaki, J., Tateno, H., Nishi, N., Minamisawa, T., Nakamura-Tsuruta, S., Itakura, Y., Kominami, J., Urashima, T., Nakamura, T., and Hirabayashi, J. (2011) *Biochim. Biophys. Acta* **1810**, 643–651.
- Yagi, F., Miyamoto, M., Abe, T., Minami, Y., Tadera, K., and Goldstein, I. J. (1997) *Glycoconj. J.* **14**, 281–288.
- Yagi, F., Hiroyama, H., and Kodama, S. (2001) *Glycoconj. J.* **18**, 745–749.
- Hirabayashi, J., and Kasai, K. (1993) *Glycobiology* **3**, 297–304.
- Ban, M., Yoon, H. J., Demirkan, E., Utsumi, S., Mikami, B., and Yagi, F. (2005) *J. Mol. Biol.* **351**, 695–706.
- Butsch, A., Titz, A., Wälti, M. A., Olieric, V., Paschinger, K., Nöbauer, K., Guo, X., Seeberger, P. H., Wilson, I. B., Aebi, M., Hengartner, M. O., and Künzler, M. (2010) *PLoS Pathog.* **6**, e1000717.
- Zhao, C., Sun, H., Tong, X., and Qi, Y. (2006) *Biochem. J.* **374**, 321–327.
- Yang, N., Li, D. F., Feng, L., Xiang, Y., Liu, W., Sun, H., and Wang, D. C. (2009) *J. Mol. Biol.* **387**, 694–705.
- Lyimo, B., Yagi, F., and Minami, Y. (2011) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **75**, 62–69.
- Martin, F., Aerts, A., Ahrén, D., Brun, A., Danchin, E. G., Duchaussoy, F., Gibon, J., Kohler, A., Lindquist, E., Pereda, V., Salamov, A., Shapiro, H. J., Wuyts, J., Blaudez, D., Buée, M., Brokstein, P., Canbäck, B., Cohen, D., Courty, P. E., Coutinho, P. M., Delaruelle, C., Detter, J. C., Deveau,

- A., DiFazio, S., Duplessis, S., Fraissinet-Tachet, L., Lucic, E., Frey-Klett, P., Fourrey, C., Feussner, I., Gay, G., Grimwood, J., Hoegger, P. J., Jain, P., Kilaru, S., Labbé, J., Lin, Y. C., Legué, V., Le Tacon, F., Marmesse, R., Melayah, D., Montanini, B., Muratet, M., Nehls, U., Niculita-Hirzel, H., Oudot-Le Secq, M. P., Peter, M., Quesneville, H., Rajashekar, B., Reich, M., Rouhier, N., Schmutz, J., Yin, T., Chalot, M., Henrissat, B., Kües, U., Lucas, S., Van de Peer, Y., Podila, G. K., Polle, A., Pukkila, P. J., Richardson, P. M., Rouzé, P., Sanders, I. R., Stajich, J. E., Tunlid, A., Tuskan, G., and Grigoriev, I. V. (2008) *Nature* **452**, 88–92.
23. Liao, D. I., Kapadia, G., Ahmed, H., Vasta, G. R., and Herzberg, O. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **91**, 1428–1432.
24. Lobsanov, Y. D., and Rini, J. M. (1997) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **9**, 145–154.
25. Imamura, K., Takeuchi, H., Yabe, R., Tateno, H., and Hirabayashi, J. (2011) *J. Biochem.* **150**, 545–552.
26. Hu, D., Tateno, H., Sato, T., Narimatsu, H., and Hirabayashi, J. (2013) *Biochem. J.* **453**, 261–270.
27. Hu, D., Tateno, H., and Hirabayashi, J. (2015) *Molecules* **20**, 7637–7656.
28. de Mattos-Shipley, K. M. J., Ford, K. L., Alberti, F., Banks, A. M., Bailey, A. M., and Foster, G. D. (2016) *Stud. Mycol.* **85**, 125–157.
29. Singh, S. S., Wang, H., Chan, Y. S., Pan, W., Dan, X., Yin, C. M., Akkouch, O., and Ng, T. B. (2014) *Molecules* **20**, 446–469.
30. Varrot, A., Basheer, S. M., and Imberty, A. (2013) *Curr. Opin. Struct. Biol.* **23**, 678–685.
31. Liang, Y., Lin, J. C., Wang, K., Chen, Y. J., Liu, H. H., Luan, R., Jiang, S., Che, T., Zhao, Y., Li, F., Wang, C., Guo, L., and Sun, H. (2010) *Biochim. Biophys. Acta* **1800**, 474–480.
32. Kobayashi, Y., and Kawagishi, H. (2014) *Methods Mol. Biol.* **1200**, 15–38.
33. Schubert, M., Bleuler-Martinez, S., Butschi, A., Wälti, M. A., Egloff, P., Stutz, K., Yan, S., Collot, M., Mallet, J. M., Wilson, I. B., Hengartner, M. O., Aebi, M., Allain, F. H., and Künzler, M. (2011) *PLoS Pathog.* **8**, e1002706.
34. Renko, M., Sabotic, J., Mihelic, M., Brzin, J., Kos, J., and Turk, D. (2010) *J. Biol. Chem.* **285**, 308–316.
35. Lacadena, J., Alvarez-Garcia, E., Carreras-Sangrà, N., Herrero-Galán, E., Alegre-Cebollada, J., Garcia-Ortega, L., Oñaderra, M., Gavilanes, J. G., and Martínez del Pozo, A. (2007) *FEMS Microbiol. Rev.* **31**, 212–237.
36. Berne, S., Lah, L., and Sepčić, K. (2009) *Protein Sci.* **18**, 694–706.
37. Bleuler-Martinez, S., Butschi, A., Garbani, M., Wälti, M. A., Wohlschlagel, T., Potthoff, E., Sabotic, J., Pohleven, J., Lüthy, P., Hengartner, M. O., Aebi, M., and Künzler, M. (2011) *Mol. Ecol.* **20**, 3056–3070.
38. Lobsanov, Y. D., and Rini, J. M. (1997) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **9**, 145–154.
39. van Hattum, H., Branderhorst, H. M., Moret, E. E., Nilsson, U. J., Leffler, H., and Pieters, R. J. (2013) *J. Med. Chem.* **56**, 1350–1354.
40. Rajput, V. K., MacKinnon, A., Mandal, S., Collins, P., Blanchard, H., Leffler, H., Sethi, T., Schambye, H., Mukhopadhyay, B., and Nilsson, U. J. (2016) *J. Med. Chem.* **59**, 8141–8147.
41. Atmanene, C., Ronin, C., Téletchéa, S., Gautier, F. M., Djedaini-Pilard, F., Ciesielski, F., Vivat, V., and Grandjean, C. (2017) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **489**, 281–286.
42. Hirabayashi, J., and Kasai, K. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 23648–23653.
43. Hirabayashi, J., and Kasai, K. (1994) *Glycoconj. J.* **11**, 437–442.
44. Nemoto-Sasaki, Y., Hayama, K., Ohya, H., Arata, Y., Kaneko, M. K., Saitou, N., Hirabayashi, J., and Kasai, K. (2008) *Biochim. Biophys. Acta* **1780**, 1131–1142.
45. Hu, D., Huang, H., Tateno, H., Nakakita, S., Sato, T., Narimatsu, H., Yao, X., and Hirabayashi, J. (2015) *J. Biochem.* **157**, 197–200.
46. Kuwabara, N., Hu, D., Tateno, H., Makyo, H., Hirabayashi, J., and Kato, R. (2013) *FEBS Lett.* **587**, 3620–3625.
47. Feng, L., Sun, H., Zhang, Y., Li, D. F., and Wang, D. C. (2010) *FASEB J.* **24**, 3861–3868.
48. Ackerman, S. J., Corrette, S. E., Rosenberg, H. F., Bennett, J. C., Mastrianni, D. M., Nicholson-Weller, A., Weller, P. F., Chin, D. T., and Tenen, D. G. (1993) *J. Immunol.* **150**, 456–468.
49. Ogden, A. T., Nunes, I., Ko, K., Wu, S., Hines, C. S., Wang, A. F., Hegde, R. S., and Lang, R. A. (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 28889–28896.
50. Than, N. G., Balogh, A., Romero, R., Kárpáti, E., Erez, O., Szilágyi, A., Kovalszky, I., Sammar, M., Gizurarson, S., Matkó, J., Závodszy, P., Papp, Z., and Meiri, H. (2014) *Front. Immunol.* **5**, 348.
51. Ahmed, H., and Vasta, G. R. (2008) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **371**, 350–355.
52. García Caballero, G., Kaltner, H., Michalak, M., Shilova, N., Yegres, M., André, S., Ludwig, A. K., Manning, J. C., Schmidt, S., Schnölzer, M., Bovin, N. V., Reusch, D., Kopitz, J., and Gabius, H. J. (2016) *Biochimie* **128–129**, 34–47.
53. García Caballero, G., Flores-Ibarra, A., Michalak, M., Khasbiullina, N., Bovin, N. V., André, S., Manning, J. C., Vértessy, S., Ruiz, F. M., Kaltner, H., Kopitz, J., Romero, A., and Gabius, H. J. (2016) *Biochim. Biophys. Acta* **1860**, 2285–2297.
54. Kaltner, H., García Caballero, G., Sinowatz, F., Schmidt, S., Manning, J. C., André, S., and Gabius, H. J. (2016) *Biochim. Biophys. Acta* **1860**, 2298–2312.
55. Cooper, D. N. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1572**, 209–231.
56. Vasta, G. R., Ahmed, H., and Odom, E. W. (2004) *Curr. Opin. Struct. Biol.* **14**, 617–630.
57. Vasta, G. R., Feng, C., González-Montalbán, N., Mancini, J., Yang, L., Abernathy, K., Frost, G., and Palm, C. (2017) *Pathog. Dis.* **75**. doi: 10.1093/femspd/ftx046

著者情報

平林 淳：1958年2月28日生まれ（栃木県）。学歴：東北大理学部・学士（1980年3月）、同大学院理学研究科（化学）修士（1982年3月）。職歴：帝京大学薬学部（神奈川県相模湖町）助手（1982年4月）、講師（1989年4月）、東北大学大学院理学博士（1989年12月）、産業技術総合研究所（茨城県つくば市）糖鎖工学センター・チーム長（2002年11月）、香川大学（香川県）客員教授（2003年9月）、産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センター・副センター長（2006年12月）、同・首席研究員（2012年4月）。研究領域：生化学、糖鎖科学、糖鎖工学、レクチン工学、進化化学
日本糖質学会（JSCR）・評議委員、日本糖鎖科学コンソーシアム（JCGG）・常任幹事

胡丹：胡丹博士は1979年1月13日中国の湖南省に生まれた。山形達也教授指導の下で2006年に瀋陽薬科大学で修士を修了した。その後、日本に留学して2010年に山本一夫教授指導の下で東京大学で博士を修了した。JSPS外国人特別研究員として産業技術総合科学研究所の平林淳首席研究員の研究室でポストドク研究をした。2013年に中国に戻って暨南大学で準教授に昇進した。胡丹博士は細胞膜のガングリオシドと小胞体レクチンの機能を研究してきた。また、分子進化工学の手法を用いてレクチンの改変にも興味を用いた。現在、彼はカビ由来の二次代謝物の生合成の解明を中心に研究を行っている。

桑原直之：高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所構造生物学研究センター。現在の研究テーマ：高分解能立体構造に基づく糖認識タンパク質及び糖転移酵素の構造機能解析