

講演2

「 β グルカンの3重らせん構造と受容体との相互作用」

山口 芳樹 (やまぐち よしき)

(略歴)

1993年 東京大学 薬学部 卒業
1998年 同大学院 博士課程修了 博士(薬学)
1998年 日本学術振興会 特別研究員
2001年 東京大学 薬学部 助手
2001年 名古屋市立大学 薬学部 講師
2007年 理化学研究所 チームリーダー
2018年 理化学研究所 研究員
2019年 東北医科薬科大学 分子生体膜研究所 教授 現在に至る



(併任)

2010年～ お茶の水女子大学 非常勤講師
2021年～ 福島県立医科大学 非常勤講師

(学会活動)

2009年～ 日本糖質学会 評議員
2011年～ 日本生化学会 評議員
2015年～ 日本糖質科学コンソーシアム (JCGG) 企画委員・幹事
2019年～ FCCA幹事長・TIGG編集委員長

第4回パラミロン研究会学術集会

2022.11.29 14:50~15:20

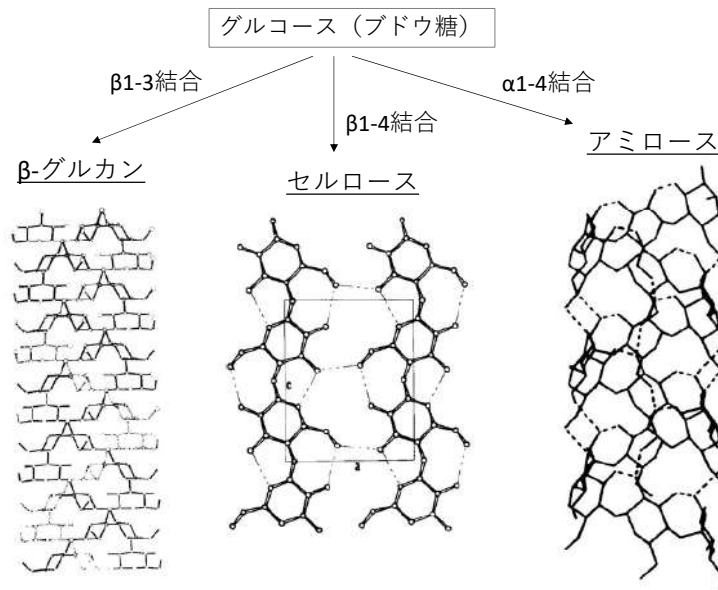
早稲田大学 新研究棟121号館
カンファレンスルーム

「 β グルカンの3重らせん構造と受容体との相互作用」

山口芳樹

東北医科薬科大学

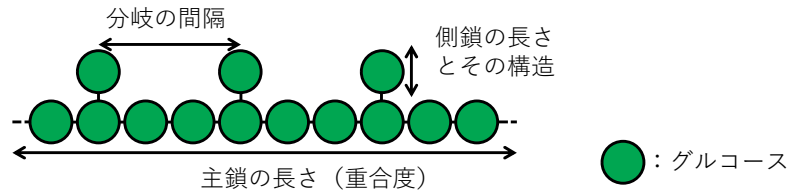
共通のビルディングブロックから様々な多糖が生み出される



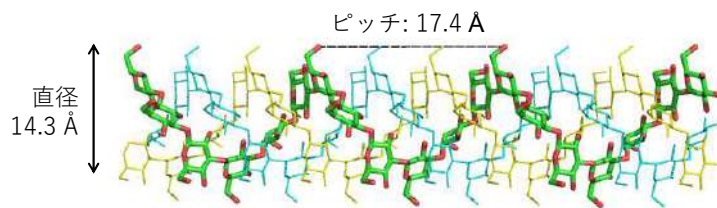
Edward Atkins, *Proc. Int. Symp. Biomol. Struct. Interactions, Supp. J. Biosci.*,
Vol. 8, No. 1 & 2, August 1985, pp. 375-387

βグルカンの構造を規定する要因

- βグルカンの化学構造

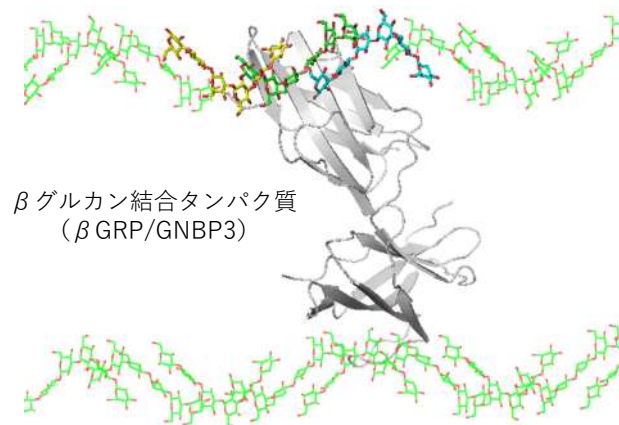


- βグルカンの高次構造 (三重らせん構造のモデル)



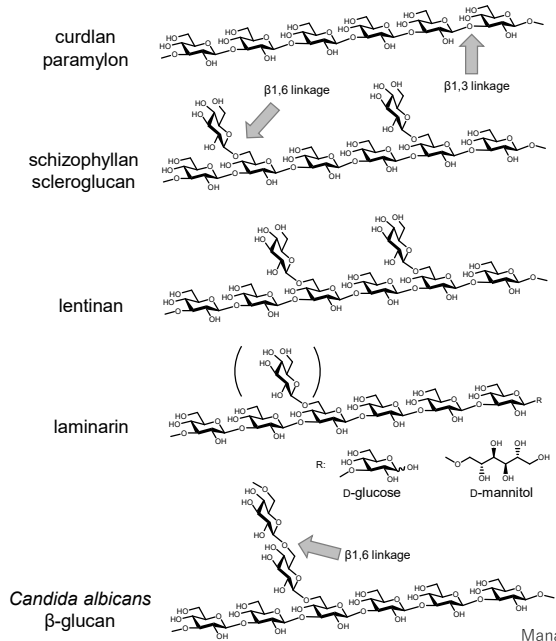
Manabe and Yamaguchi, *Int. J. Mol. Sci.* 2021

タンパク質存在下でのβグルカン6糖の3重らせん様配置



Kanagawa et al. *J. Biol. Chem.* 286, 29158-29165 (2011)

様々なβグルカンの例



Paramylonはcurdlanと同様直鎖構造のみである
(分岐構造がない)

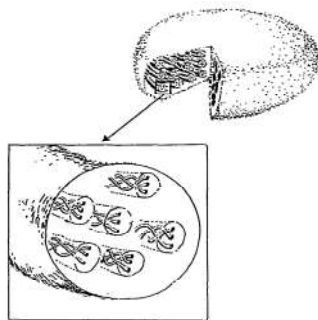
短鎖は可溶性であるが、長い鎖になると不溶性になる。

長鎖でもβ1,6分岐が増すと可溶性になる。

Manabe and Yamaguchi, *Int. J. Mol. Sci.* 22, 1578 (2021)

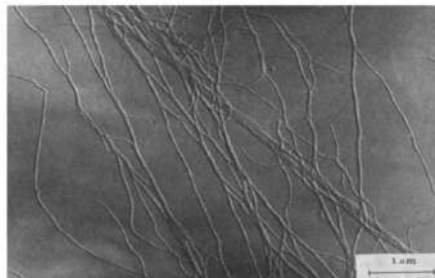
直鎖のβ-グルカン: Paramylon vs curdlan

Paramylon顆粒の構造モデル



顆粒状・高い結晶性

アルカリ処理したcurdlan



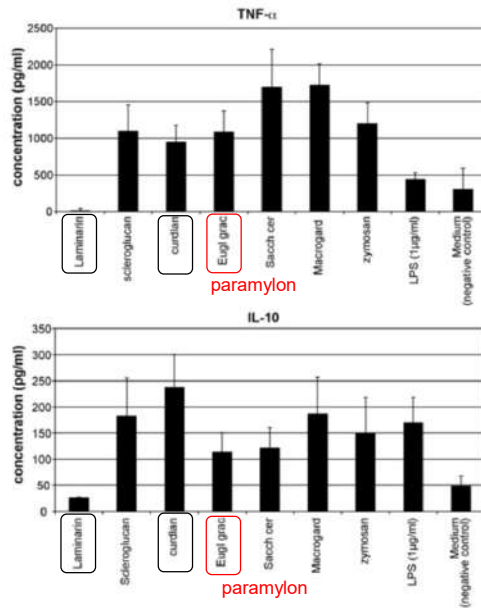
加工方法により形状が異なる
加熱によりゲル化する

CurdlanもParamylonも3重らせん状の線維がベースになっていると考えられる
線維の集合状態は両者で異なるようである

Marchessault and Deslandes *Carbohydr. Res.* 75, 231-242 (1979)

β-グルカンの種類によって活性が異なる

PBMCに対する反応



β-グルカンの構造-活性相関を理解するには？

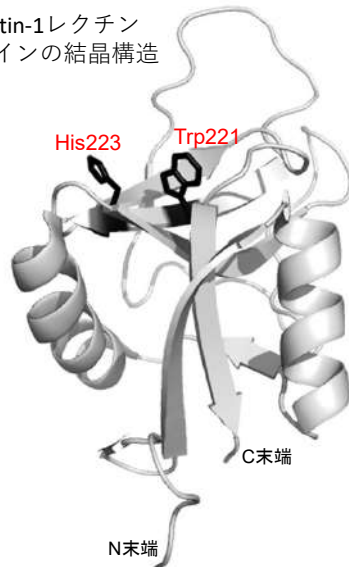
↓

β-グルカン受容体 (Dectin-1) 側も知る必要がある

Sonck et al. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 135, 199-207 (2010)

Dectin-1はβグルカンと結合する受容体である

Dectin-1レクチンドメインの結晶構造



Brown et al. *Protein Sci.* 2007

β(1,3)グルカンを特異的に認識する

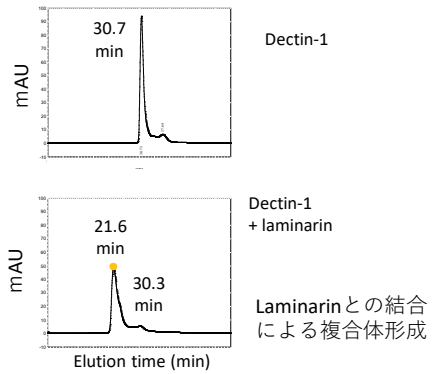
Trp221やHis223がリガンド結合に重要
(Adachi et al. *Infect. Immun.* 2004)

10か11グルコース残基以上が認識には必要
(Palma et al. *J. Biol. Chem.* 2006)

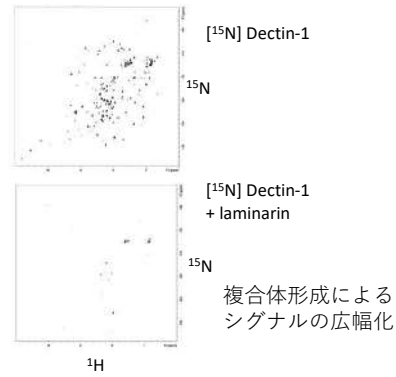
βグルカンとの結合によりオリゴマー化
(Dulal et al. *Protein Exp. Purif.* 2015, *Glycobiology* 2018)

可溶性βグルカンとDectin-1の相互作用解析

・ゲルろ過カラムを用いた解析



・NMRによる相互作用解析



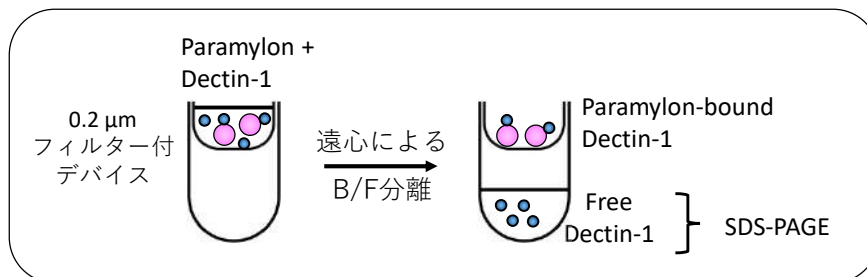
Dulal et al. *Protein Exp. Purif.* 2015, *Glycobiology* 2018

可溶性βグルカン (laminarin) を用いた解析が主であった

不溶性βグルカン (paramylon) との相互作用解析のためには系の立ち上げが必要

フィルター結合アッセイ

Paramylonが顆粒状で、不溶性であることを積極的に利用



Dectin-1を一定量とし、Paramylonの量を変える

遊離のDectin-1の量をSDS-PAGEのバンド強度から見積もる