

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 2 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24770111

研究課題名(和文) 自然免疫に関わるC型レクチン受容体の構造基盤の解明

研究課題名(英文) Structural basis for C-type lectin receptor in innate immunity

研究代表者

長江 雅倫 (Nagae, Masamichi)

独立行政法人理化学研究所・糖鎖構造生物学研究チーム・研究員

研究者番号：60619873

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円、(間接経費) 1,080,000円

研究成果の概要(和文)：高等動物には外来異物を排除する免疫系が発達している。自然免疫は免疫系の一つで、外来異物に特徴的な化学物質を認識する受容体が備わっている。C型レクチン受容体は外来異物由来の糖鎖を特異的に識別する受容体である。我々はC型レクチン受容体の異物認識機構を原子レベルで明らかにすることをめざし、レクチンドメインのX線結晶構造解析に取り組んだ。その結果、免疫抑制に働くDCIR-2と特異的なリガンドであるバイセクト型糖鎖との複合体の構造を明らかにした。また、免疫活性化に係るBDCA-2の構造も明らかにし、ドメインスワップという珍しい二量体構造を形成することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The immune system is a system which discriminates and removes the pathogens and highly developed in mammals. Groups of pathogens share similar chemical structures known as pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Many cell-surface receptors which involve in innate immunity specifically recognize PAMPs. Especially, C-type lectin receptors (CTLR) bind to carbohydrates derived from pathogens such as bacteria, virus and fungi. Both DCIR-2 and BDCA-2 belong to CTLRs and are highly expressed on dendritic cells. DCIR-2 works as negative regulator, while BDCA-2 works as activator. Our purpose is to clarify the ligand recognition of both proteins. We initially determined the crystal structures of DCIR-2 in the absence and complexed with its specific ligand, bisected N-glycan. As a result, non-conserved amino acids enable DCIR-2 to bind to bisected glycan. Next we solved the crystal structure of BDCA-2 in unliganded form. BDCA-2 forms 'domain-swapped' dimer in various conditions.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：構造生物化学、生物科学

キーワード：X線結晶構造解析 生物物理

## 1. 研究開始当初の背景

自然免疫系では様々なパターン認識受容体 (PRR) が細胞表面で異物の認識を行っている。樹状細胞上の C 型レクチン受容体は、外来異物もしくは内在成分由来の糖鎖と結合する受容体である。これらの受容体はマンノースやフコース、グルカンといった病原体の細胞壁の構成成分も認識する。このように C 型レクチン受容体の認識機構の解明は免疫系にとって重要な働きを担っている。

C 型レクチン受容体は文字通り C 型レクチンドメインを持っている。この C 型レクチンドメインは 1,000 を越す蛋白質中に見出されており、それらはドメインの数や位置関係、アミノ酸配列の類似度などによって 17 のグループに分類されている。本研究が対象としている C 型レクチン受容体はグループ 2 に分類される、II 型膜貫通蛋白質で N 末端から細胞質領域、膜貫通ヘリックス、コイルドコイル領域を経て、C 末端のレクチンドメインにつながる構成をしている。このグループ 2 には、asialoglycoprotein receptor, dendritic cell (DC)-specific ICAM3-grabbing nonintegrin (DC-SIGN), Langerin, Scavenger receptor、そして本研究で取り扱う DC inhibitory receptor (DCIR) family などが含まれている。話が複雑になって恐縮だが、DCIR family には、さらに DCIR1-4, Blood DC antigen-2 (BDCA-2), DC activating receptor (DCAR) などが含まれている。これら一連の遺伝子の多くは、ヒトでは 12 番染色体 (マウスでは 9 番染色体) 上の Natural Killer Complex (NKC) と呼ばれる領域に集中している。

DCIR-2 は B 細胞や monocyte、myeloid DC などに発現している受容体で、細胞質内に ITIM モチーフと呼ばれる特徴的なアミノ酸配列を持つため、免疫抑制に働く。

DCIR-2 のレクチンドメインはバイセクト型糖鎖と呼ばれる N 結合型糖鎖の一種と結合する。このバイセクト型糖鎖は内在性の糖蛋白質上に見られ、癌細胞の転移抑制と関係しているといわれている。また BDCA-2 は、plasmacytoid DC に発現している受容体で、細胞質内に ITAM モチーフと呼ばれるアミノ酸配列を持ち、免疫活性化に働く。BDCA-2 のレクチンドメインはバイアンテナ型糖鎖と呼ばれる N 結合型糖鎖の一種と結合する。DCIR family 内のアミノ酸配列の一致度は高く、全体で五割を超えている。従って、高い配列相同性を持つ蛋白質がどのようにして糖鎖に対して特異性を発揮しているのかが重要である。本研究は、この問題を構造生物学的に解明するべく、DCIR-2 および BDCA-2 の二つの C 型レクチンドメインについて X 線結晶構造解析を行ったものである。

## 2. 研究の目的

自然免疫系には異物に特有の化合物を認識する受容体、パターン認識受容体 (PRR) が多数存在する。本研究が対象とする C 型レクチン受容体ファミリーは PRR の一つであり、樹状細胞などの抗原提示細胞に発現している。C 型レクチン受容体は、細胞外に 130 アミノ酸残基からなるレクチンドメインを持ち、病原体などの糖鎖をカルシウム依存的に認識する。受容体に結合する糖鎖は、受容体ごとに限られており、同じフォールド (C 型レクチンフォールド) を持つにもかかわらず、いかにして多様なリガンドを特異的に識別することができるのかは興味ある問題である。

本研究は、この問題に対して X 線結晶構造解析を中心手法とした構造生物学的研究を通して解決を目指すものである。具体的には、樹状細胞に発現している二種類の C 型レクチン受容体、DCIR-2 と BDCA-2 に焦点をあて、レクチンドメイン単独または

申請者らが新規に合成した糖鎖リガンドとの複合体の X 線結晶構造解析を通して、特異性決定のメカニズムを明らかにすることを目的として行うものである。

### 3. 研究の方法

DCIR-2 の C 末端にあるレクチンドメイン ( Cys107-Lys233 ) および BDCA-2 のレクチンドメイン ( Cys83-Lys210 ) の遺伝子をそれぞれ pCold ベクターに組み込み、大腸菌 Rosetta2 ( DE3 ) 株に形質転換した。大腸菌を大量培養したのち、菌体を破碎し精製を開始した。精製は、尿素による可溶化後にリフォールド、Ni-NTA カラム、タグ切断、ゲル濾過カラムの順で行った。

精製蛋白質は濃縮し、20 の条件でシッティングドロップ蒸気拡散法を用いて結晶化を行った。DCIR-2 および BDCA-2 の結晶化条件は以下の通り

DCIR-2 Ligand-free form: 2.0M Ammonium sulfate

DCIR-2 Ligand-bound form: 0.1M Bis-Tris (pH 6.5), 0.2M Ammonium sulfate, 25% PEG3350

BDCA-2 Ligand-free form (Crystal 1): 0.1M HEPES (pH 7.5), 1.5M Lithium sulfate

BDCA-2 Ligand-free form (Crystal 2): 0.2M Ammonium phosphate, 20% PEG3350

BDCA-2 Ligand-free form (Crystal 3): 0.2M Potassium citrate, 20% PEG3350

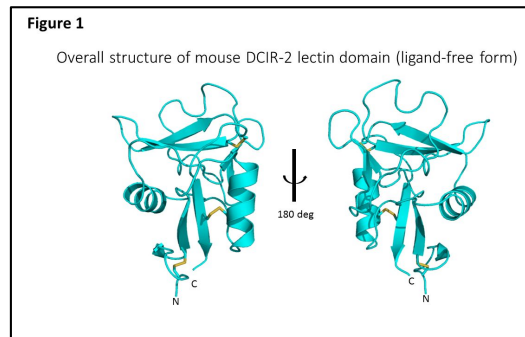
これらの結晶は 20% エチレングリコール存在下で浸漬させたのち、液体窒素温度で凍結し、大型放射光施設 Photon Factory ( 茨城県つくば市 ) BL-17A および AR-NW12A ビームラインにて X 線回折強度測定を行った。得られたデータの統計値は Table I のようになった。

| DCIR-2                            |  |  |  | BDCA-2   |            |            |            |
|-----------------------------------|--|--|--|--|------------|------------|------------|
| <b>Data collection statistics</b> |  |  |  | <b>Data collection and refinement statistics</b> |            |            |            |
| Space group                       | P6 <sub>3</sub> /2   | P2 <sub>1</sub>  | P2 <sub>1</sub>  | Cycle ID   | Form-1     | Form-2     | Form-3     |
| Unit cell                         | a = 84.49 Å, b = 75.92 Å, c = 75.92 Å, α = 90.0°, β = 90.0°, γ = 90.0° | a = 84.49 Å, b = 75.92 Å, c = 75.92 Å, α = 90.0°, β = 90.0°, γ = 90.0° | a = 84.49 Å, b = 75.92 Å, c = 75.92 Å, α = 90.0°, β = 90.0°, γ = 90.0° | Resolution (Å)                                   | 30.0       | 30.0       | 30.0       |
| Wavelength (Å)                    | 0.9192   | 0.9192   | 0.9192   | Resolution (Å)                                   | 30.0       | 30.0       | 30.0       |
| Beam line                         | BL-17A, PF   | AR-NW12A, PF   | BL-17A, PF   | Resolution (Å)                                   | 30.0       | 30.0       | 30.0       |
| Resolution (Å)*                   | 100-2.15   | 100-1.59   | 100-1.85   | Resolution (Å)                                   | 30.0       | 30.0       | 30.0       |
| Total reflections                 | 21,564   | 296,165  | 18,954   | Resolution (Å)                                   | 30.0       | 30.0       | 30.0       |
| Unique reflections                | 10,896   | 27,130   | 14,945   | Resolution (Å)                                   | 30.0       | 30.0       | 30.0       |
| Completeness (%)                  | 99.9 (100)   | 99.4 (100)   | 99.9 (100)   | Resolution (Å)                                   | 30.0       | 30.0       | 30.0       |
| R <sub>int</sub> (%)              | 3.2 (3.4)  | 4.7 (3.9)  | 4.8 (4.1)  | Resolution (Å)                                   | 30.0       | 30.0       | 30.0       |
| R <sub>sigma</sub> (%)            | 6.2 (3.8)  | 6.2 (7.6)  | 8.1 (9.3)  | Resolution (Å)                                   | 30.0       | 30.0       | 30.0       |
| <b>Refinement statistics</b>      |  |  |  | <b>Refinement statistics</b>                     |            |            |            |
| Resolution (Å)                    | 42.80-2.15   | 66.13-1.50   |  | Resolution (Å)                                   | 42.11-1.8  | 42.27-1.8  | 42.72-1.8  |
| Reflections                       | 18,218   | 28,110   |  | R <sub>int</sub> (%)                             | 2.2        | 2.3        | 2.5        |
| R <sub>work</sub> (%)             | 23.7   | 21.1   |  | R <sub>sigma</sub> (%)                           | 27.2       | 29.3       | 29.5       |
| R <sub>free</sub> (%)             | 27.2   | 22.4   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| B-factor (Å <sup>2</sup> )        | 42.80-2.15   | 66.13-1.50   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| Mean I/sigma(I)                   | 1.29   | 1.27   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC1/2                             | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC3/4                             | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC5/6                             | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC7/8                             | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC9/10                            | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC10/11                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC11/12                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC12/13                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC13/14                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC14/15                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC15/16                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC16/17                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC17/18                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC18/19                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC19/20                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC20/21                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC21/22                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC22/23                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC23/24                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC24/25                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC25/26                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC26/27                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC27/28                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC28/29                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC29/30                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC30/31                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC31/32                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC32/33                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC33/34                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC34/35                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC35/36                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC36/37                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC37/38                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC38/39                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC39/40                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC40/41                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC41/42                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC42/43                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC43/44                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC44/45                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC45/46                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC46/47                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC47/48                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC48/49                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC49/50                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC50/51                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC51/52                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC52/53                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC53/54                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC54/55                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC55/56                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC56/57                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC57/58                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC58/59                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC59/60                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC60/61                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC61/62                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC62/63                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC63/64                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC64/65                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC65/66                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC66/67                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC67/68                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC68/69                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC69/70                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC70/71                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC71/72                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC72/73                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC73/74                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC74/75                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC75/76                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC76/77                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC77/78                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC78/79                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC79/80                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC80/81                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC81/82                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC82/83                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC83/84                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC84/85                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC85/86                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC86/87                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC87/88                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC88/89                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC89/90                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC90/91                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC91/92                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC92/93                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC93/94                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC94/95                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC95/96                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC96/97                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC97/98                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC98/99                           | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |
| CC99/100                          | 0.99   | 0.99   |  | Completeness (%)                                 | 99.9 (100) | 99.9 (100) | 99.9 (100) |

構造決定は分子置換法を用いて行った。モデル分子は、DCIR-2 には DC-SIGN (PDB code; 2XR6) のレクチンドメインを、BDCA-2 には DCIR-2 のレクチンドメインをそれぞれ用いた。精密化は REFMAC5 を用いて行った。

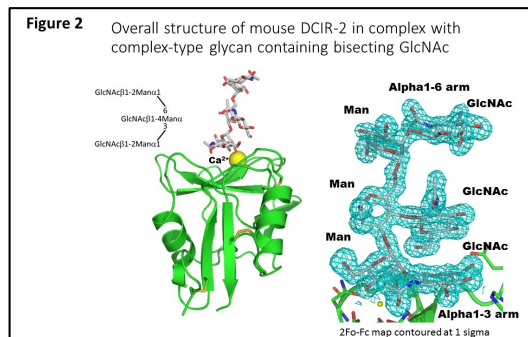
### 4. 研究成果

DCIR-2 レクチンドメインのリガンド非結合型の結晶構造は図 1 のようになった。

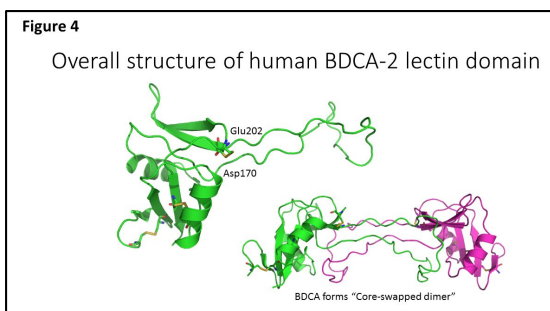


全体構造は、典型的な C 型レクチンドメインの構造をしていた。

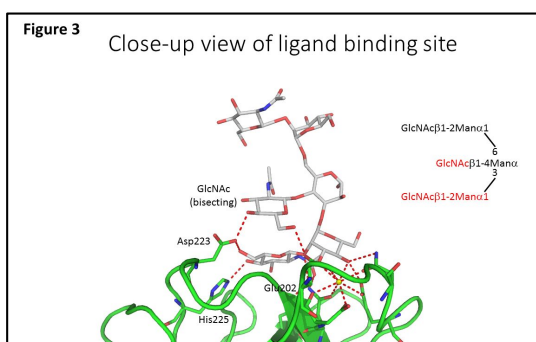
続いて図 2 左のような構造を持つ六糖を化学合成し、リガンド結合型の結晶構造解析を行った。その結果、図 2 右のように六糖すべての電子密度が良好に識別可能な精度で構造を決定することができた。



より詳細に構造を見ると、図3のようになった。配位結合および水素結合を赤い点線で示しているが、糖鎖は蛋白質上でこれらの結合によって安定化していた。興味深いことに、DCIR-2は六糖のうち図3右に赤色で示した三糖とのみ相互作用していた。

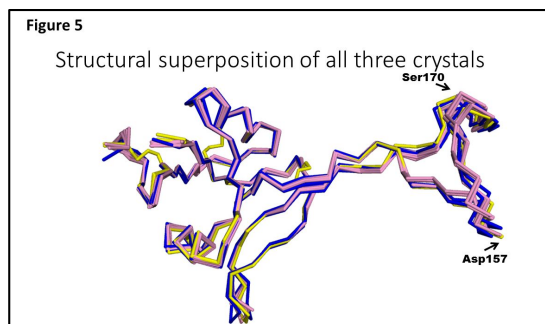


DCIR-2の特色であるバイセクト型糖鎖（図3中でGlcNAc(bisecting)と示した）との相互作用はAsp223とGlu202の二つの酸性残基と結合していた。



#### 4-2. BDCA-2 レクチンドメインの結晶構造解析

BDCA-2のレクチンドメインのリガンド非結合型の結晶構造を決定したところ図4のように二分子が互いのループを相手分子



に投げ出した、いわゆる“コアスワップ構造”もしくは“ドメインスワップ構造”と呼ばれる特徴的な構造をとっていた。

BDCA-2は三種類の異なる結晶化条件で結晶が得られている。これらの構造をすべて解析して構造比較をした結果、図5のようにすべてよく似た構造をしていた。こうしたことからBDCA-2の二量体構造は安定であると考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2件)

1, Masamichi Nagae, Akemi Ikeda, Yu Kitago, Naoki Matsumoto, Kazuo Yamamoto, and Yoshiki Yamaguchi  
Crystal structures of carbohydrate recognition domain of Blood Dendritic Cell Antigen-2 (BDCA2) reveal a common domain-swapped dimer

*Proteins: Structure, function, and Bioinformatics in press*

査読有、doi: 10.1002/prot.24504.

2, Masamichi Nagae, Kousuke Yamanaka, Shinya Hanashima, Akemi Ikeda, Kana Morita-Matsumoto, Tadashi Satoh, Naoki Matsumoto, Kazuo Yamamoto, and Yoshiki Yamaguchi

Recognition of bisecting *N*-acetylglucosamine: Structural basis for the asymmetric interaction attained by mouse dendritic cell inhibitory receptor 2

*The Journal of Biological Chemistry* **288**(47), 33598-610 (2013)

査読有、doi: 10.1074/jbc.M113.513572

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

長江 雅倫 (NAGAE, Masamichi)

独立行政法人理化学研究所・糖鎖構造生物学研究チーム・研究員

研究者番号：60619873