

「統合化推進プログラム」(統合データ解析トライアル)

発表開発課題名:

タンパク質－糖鎖間の糖鎖結合部位の
解明のためのツール改良及び解析

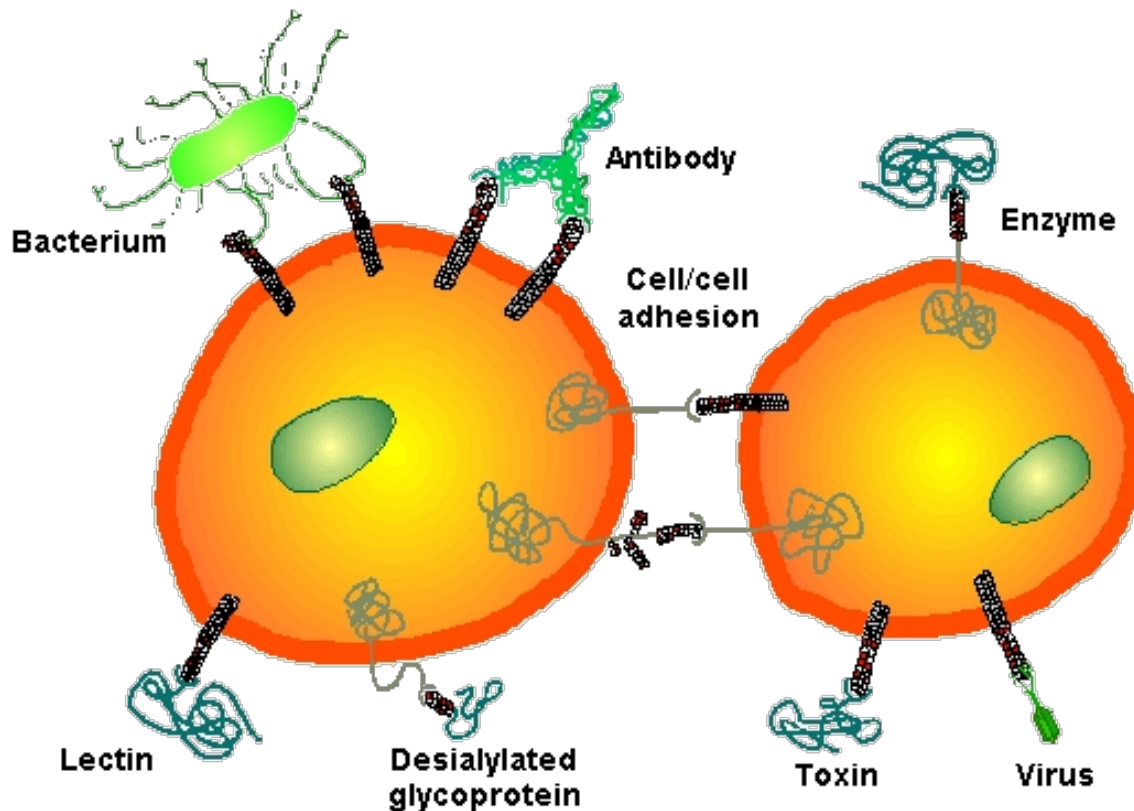
平成25年11月29日(中間発表)

研究代表者: 細田 正恵

創価大学大学院工学研究科生命情報工学専攻

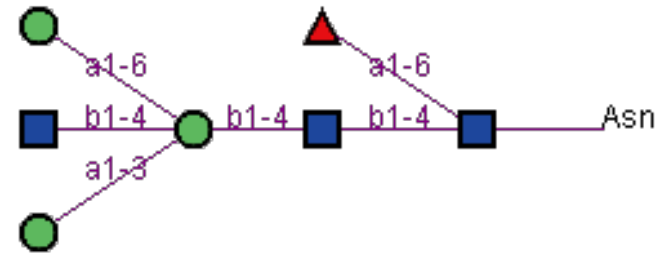
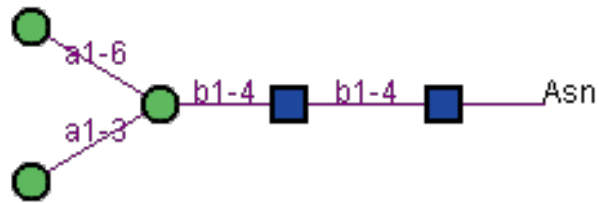
生体内での糖鎖機能

- 糖鎖は細胞表面のタンパク質や脂質に結合し細胞間接着、血液型の決定、ウイルス感染や抗原抗体反応などの生体反応で重要な役割を果たしている
- 生体分子が糖鎖を認識し結合することによりシグナル伝達や生体内機能調節を行っている

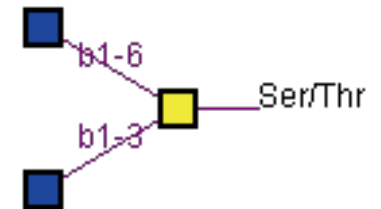
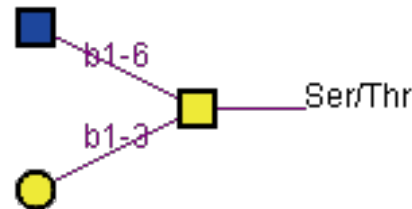


糖鎖構造の種類

○ N型糖鎖



○ O型糖鎖



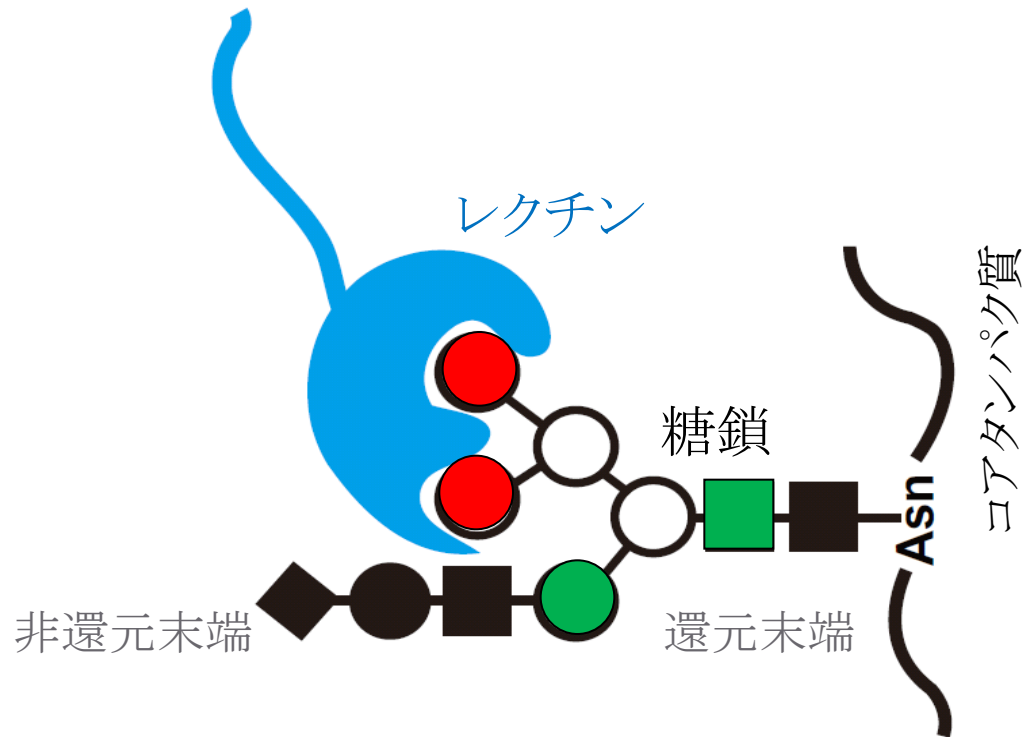
○ グリコサミノグリカン



- ▲ フコース
- ガラクトース
- Nアセチルガラクトサミン
- ◇ ガルクロン酸
- Nアセチルグルコサミン
- マンノース

タンパク質－糖鎖間の結合関係

糖鎖結合タンパク質などによる糖鎖の特異的認識



- レクチンの種類によって認識し結合する糖のパターンは様々である
- レクチンファミリーがどのような糖鎖部位を認識し結合するかについての詳細は、多くは明らかになっていない

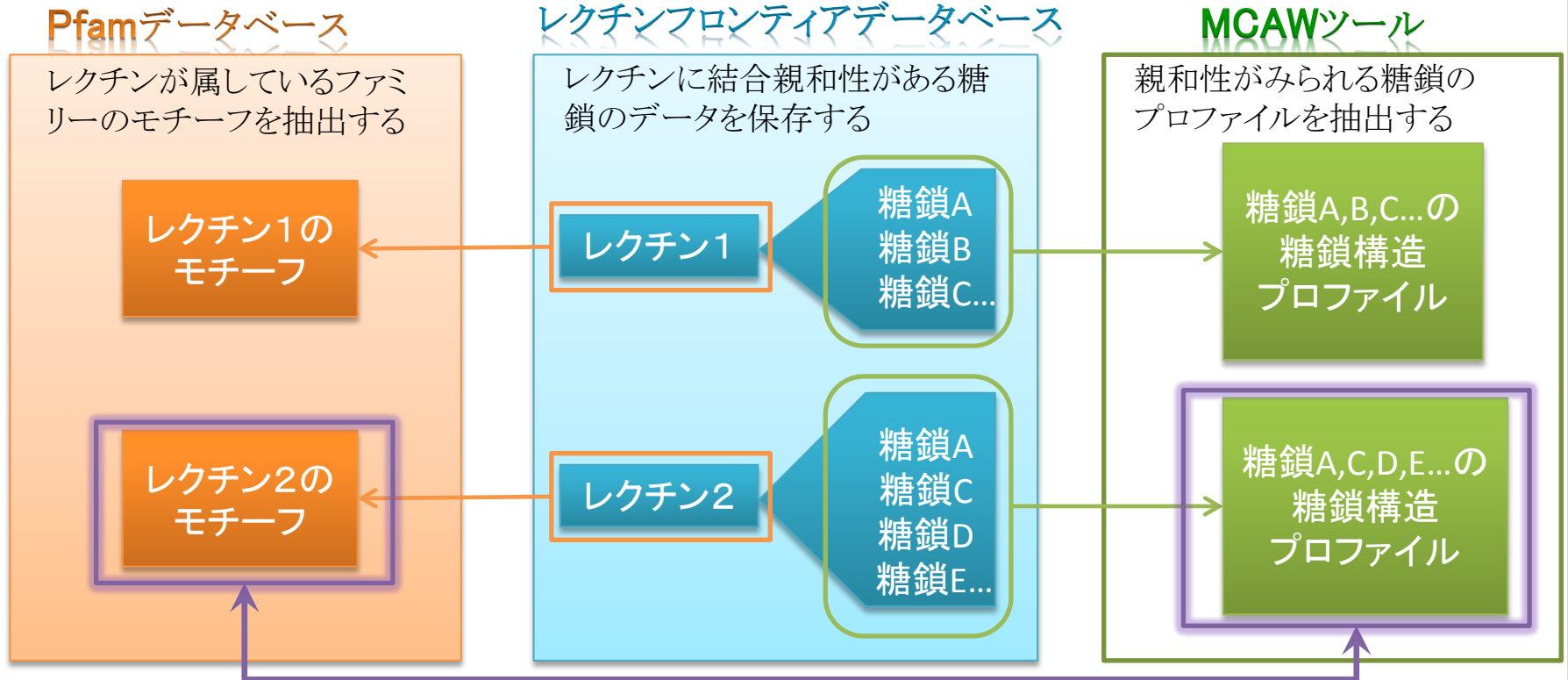
本研究開発課題の目的

- タンパク質と糖鎖の結合の関係性を探る
- 糖鎖構造を解析するMCAWツールの完成
 - 糖鎖認識結合部位の特定をする

全体図

タンパク質－糖鎖間の結合部位の研究手法

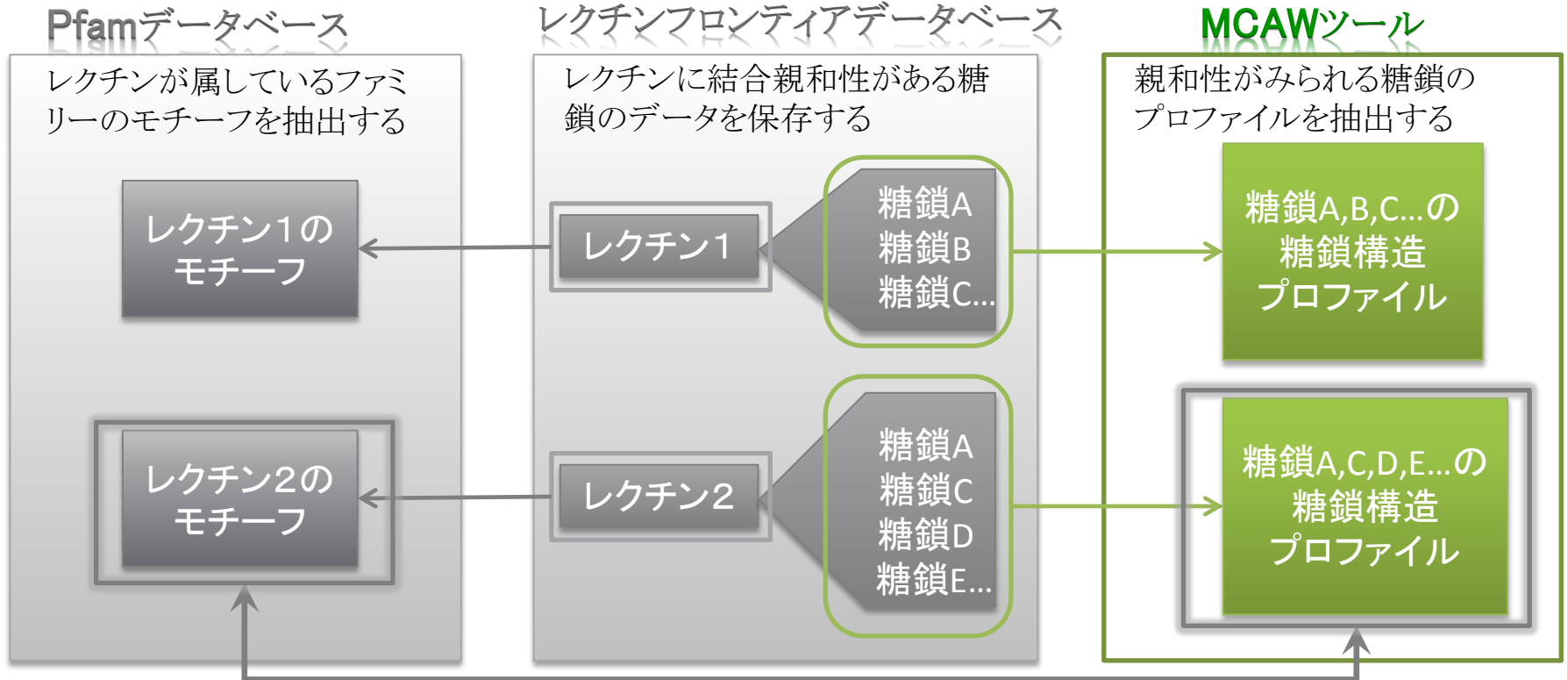
- タンパク質のモチーフとそのタンパクに結合親和性を示す糖鎖部分構造のデータを抽出する
- レクチンモチーフとレクチン結合親和性を持つ糖鎖部位の関連性を考察する



レクチンのモチーフと結合親和性を持つ糖鎖構造をマイニングして関連性を見出していく

タンパク質－糖鎖間の結合部位の研究手法

- タンパク質のモチーフとそのタンパクに結合親和性を示す糖鎖部分構造のデータを抽出する
- レクチンモチーフとレクチン結合親和性を持つ糖鎖部位の関連性を考察する

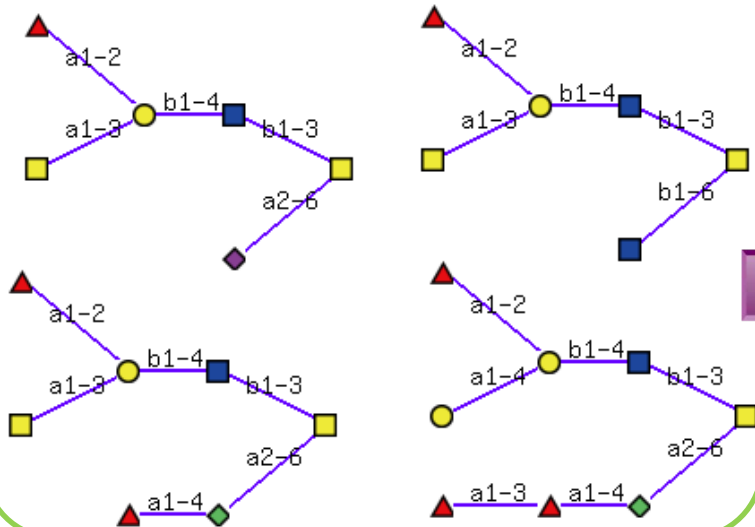


レクチンのモチーフと結合親和性を持つ糖鎖構造をマイニングして関連性を見出していく

親和性がみられる糖鎖のプロファイルを抽出するためのツール開発

- MCAW (Multiple Carbohydrate Alignment with Weights) は、複数の糖鎖構造のアラインメントを行い、結果を糖鎖構造プロファイルとして出力するツール
- ツールを用いることにより、レクチンフロンティアデータベースの実験データから共通する構造が得られるため、結合に関与する部分糖鎖構造を得ることができる

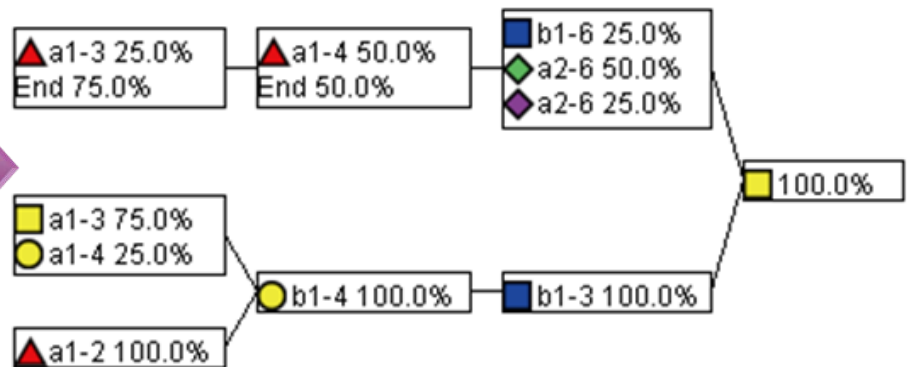
ツールに入力した糖鎖構造



ツールの実行結果



MCAW Results



糖鎖のアライメント手順

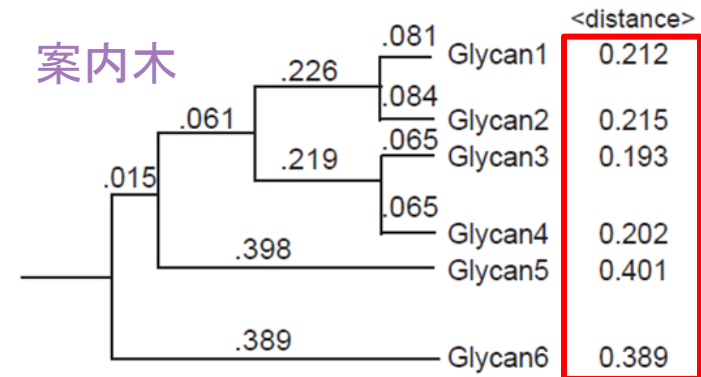
- MCAWアルゴリズムはClustalWを参考に多重木アライメントを行う

1. 全糖鎖のペアワイズアライメント (KCaM*)
を行い、距離行列を得る

Glycan	1	2	3	4	5
Glycan 1	-				
Glycan 2	.17	-			
Glycan 3	.59	.60	-		
Glycan 4	.59	.59	.13	-	
Glycan 5	.77	.77	.75	.75	-
Glycan 6	.81	.82	.73	.74	.80

距離行列

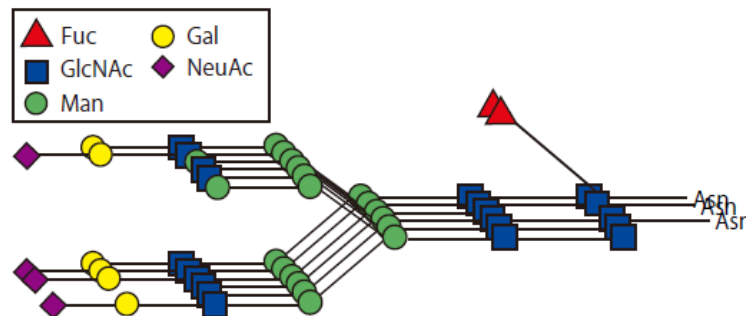
2. 距離行列からFM法を用いて系統樹(案内木)
を作成し、根からの距離を計算する



3. 案内木に従って糖鎖の多重木アライメントを行う

アライメントのオーダー

- (1) Glycan1+Glycan2
- (2) Glycan3+Glycan4
- (3) (1)+(2)
- (4) (3)+ Glycan5
- (5) (4) + Glycan6



MCAWツールを用いたデータ解析

○ レクチンフロンティアデータベース

- WGA (キチン結合レクチンファミリー、パンコムギ[イネ科])
- UDA (植物レクチン、イラクサの根茎)
- C16, CG-16 (鶏の肝臓、ガラクトースに結合する)

LFDB Lectin Frontier DataBase

GGDB | LFDB | GMDB | GlycoProtDB | English

Top > LFDB > Search Result

説明

- レクチンフロンティアデータベースとは
- FAC-FDの原理
- LFDB使用方法
- 参考文献
- お問い合わせ

検索

キーワード検索

AND/OR検索
高度検索

分類

- Lectin Family
 - Annexin
 - Chitin-binding Lectin
 - C-type Lectin
 - Fucose-binding Lectin
 - Galectin
 - binding to Gal(16);
 - binding to Others(2);
 - Jacalin-related Lectin
 - Legume Lectin
 - Lectin-like protein
 - Man6PI-binding Lectin
 - Monocot Mannose-binding Lectin
 - R-type Lectin
 - Siglec
 - Others
 - Monosaccharide Specificity
 - 3D-fold

検索条件

- キーワード:
- Lectin Family: Galectin
- Monosaccharide Specificity:
- 3D-fold:

全検索結果: 26 件 [\[GlycanList\]](#)

レクチン名	生物種	ファミリー	単糖特異性	相互作用
Galectin-9N (Human)	<i>Homo sapiens</i>	Galectin	Gal	
Galectin-1 (Human CS3)	<i>Homo sapiens</i>	Galectin	Gal	
Galectin-4C (Human)	<i>Homo sapiens</i>	Galectin	Gal	
Galectin-1 (Human C2S)	<i>Homo sapiens</i>	Galectin	Gal	
RCG1	<i>Rana catesbeiana</i>	Galectin	Gal	
Xgalectin VIIa	<i>Xenopus laevis</i>	Galectin	Gal	
C16 CG-16	<i>Gallus gallus</i>	Galectin	Gal	
C14 CG-14	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Galectin	Gal	
Galectin-1 (Toad)	<i>Bufo arenarum</i>	Galectin	Others	
Galectin-1 (Bovine)	<i>Bos taurus</i>	Galectin	Gal	
Galectin-9C (Human)	<i>Homo sapiens</i>	Galectin	Gal	
Galectin-2 (Rat)	<i>Rattus norvegicus</i>	Galectin	Gal	
GC1	<i>Geodia cydonium</i>	Galectin	Gal	
Galectin-9C (Human)	<i>Homo sapiens</i>	Galectin	Gal	
Congerin I	<i>conger myriaster</i>	Galectin	Gal	
Galectin-8N (Human)	<i>Homo sapiens</i>	Galectin	Gal	

LFDB Lectin Frontier DataBase

GGDB | LFDB | GMDB | GPDB | English

Top > LFDB > Search Result > Detail

説明

- レクチンフロンティアデータベースとは
- FAC-FDの原理
- LFDB使用方法
- 参考文献
- お問い合わせ

検索

キーワード検索

AND/OR検索
高度検索

分類

- Lectin Family
 - Annexin
 - Chitin-binding Lectin
 - C-type Lectin
 - Fucose-binding Lectin
 - Galectin
 - binding to Gal(16);
 - binding to Others(2);
 - Jacalin-related Lectin
 - Legume Lectin
 - Lectin-like protein
 - Man6PI-binding Lectin
 - Monocot Mannose-binding Lectin
 - R-type Lectin
 - Siglec
 - Others
 - Monosaccharide Specificity

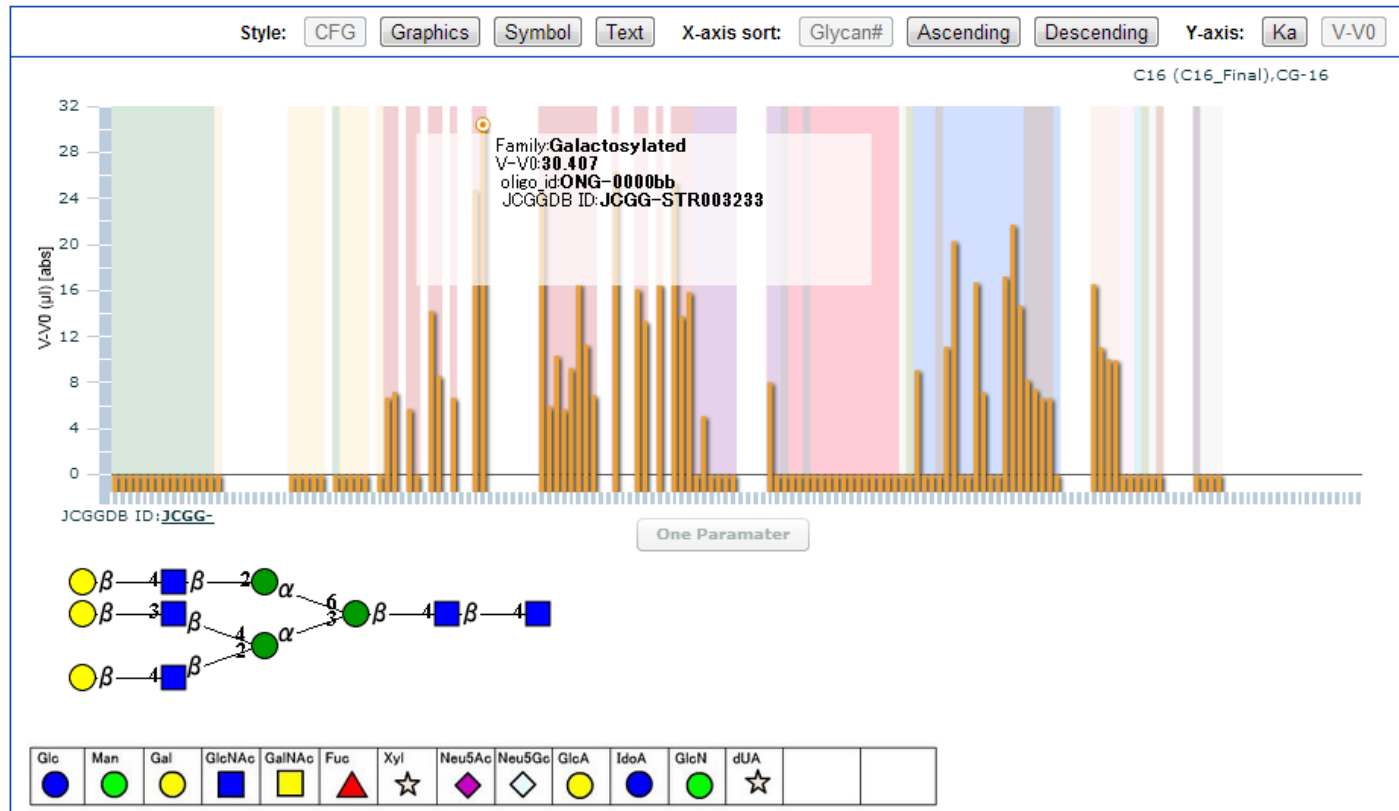
C16, CG-16 (LAG-0000cc) [\[印刷\]](#)

レクチンID	LAG-0000cc	分子構造	
レクチン名	C16, CG-16		
ファミリー	Galectin		
単糖 特異性	Gal		
生物種 (学名)	Domestic chicken, chickens (<i>Gallus gallus</i>)		
日本語名	ニワトリ [キジ科]		
生物界	Animal		
器官	liver		
特定の器官			
CRD数	1		
3D-fold	β -sandwich		
外部リンク	GenBank: NM_206905 PDB: 1QNJ Pfam: PF00337		
配列ID			
配列	<pre> 1 meqglvrrql drvgpgevrk kgklsdakg fsvrvgkdes vlmhlfqpf dchgdvrtv 61 onskedgtwg eedkiadpfp qggakveici sfdaaevrk vpevefefgn rlgmkliqyl 121 aregdftvka ikfs </pre>		
			Interaction Graph [Viewer] [GlycanList]
			参考文献
			Paloma et al. (1999) The 2.15 Å crystal structure of CG-16, the developmentally regulated homodimeric chicken galectin. J. Mol. Biol. 294 537-549

データベースから糖鎖構造の取得

- 親和性を持つ糖鎖構造を手作業でツールが扱える形式に変換した

C16, CG-16 (LAG-0000cc)



データベース中の糖鎖の表示について

LfDB Lectin Frontier DataBase - Google Chrome
jcggdb.jp/rcmg/glycodb/KavalueSearch

C16, CG-16 (LAG-0000cc)

Volume 201, number 1
FEBS 3692
May 1986

Characterization of new gangliosides of the lactotetraose series in murine xenografts of a human glioma cell line

J.-E. Månsson, P. Fredman, D.D. Bigner*, K. Molin, B. Rosengren, H.S. Friedman⁺ and L. Svennerholm

*Department of Psychiatry and Neurochemistry, University of Gothenburg, St. Jörgen's Hospital, S-422 03 Hisings-Backa, Sweden, *Department of Pathology and ⁺Department of Pediatrics, Duke University Medical Center, Durham, NC 27710, USA*

Received 4 April 1986

The major mono- and disialogangliosides of the extensively characterized established human glioma line D54MG were isolated and purified from subcutaneous solid xenografts grown in athymic (nu/nu) mice. Structural determination showed that they belonged to the lactotetraosylceramide series. The sialyllactotetraosylceramide contained 90% *N*-glycolyl- and 10% *N*-acetylneuraminic acid linked in an α 2-3 linkage (IV³NeuGc-LcOse₄Cer, IV³NeuAc-LcOse₄Cer). The disialogangliosides had a previously undescribed type of structure with sialic acids linked to the terminal galactose in an α 2-3 linkage and to *N*-acetylglucosamine in an α 2-6 linkage. Not only did species with NeuAc or NeuGc occur, but also species with mixtures of the two sialic acids, e.g. NeuAc and NeuGc. The schematic structures of the new disialogangliosides are

$$\begin{array}{ccccccc} \text{Gal}\beta 1 & \longrightarrow & 3\text{GlcNAc}\beta 1 & \longrightarrow & 3\text{Gal}\beta 1 & \longrightarrow & 4\text{Glc} \longrightarrow \text{Cer} \\ \alpha 2 \uparrow 3 & & \alpha 2 \uparrow 6 & & & & \\ (\text{NeuAc, NeuGc}) & & (\text{NeuAc, NeuGc}) & & & & \end{array}$$

Tumor ganglioside
Glioma-associated ganglioside
Monosialoganglioside
Disialoganglioside

Lactotetraose series

Glycan#
Ascending
Descending
Y-axis: Ka
V-V0

C16 (C16_Final),CG-16

Family: **Lactotetraose**
V-V0: **17.212**
oligo id: **OMT-00003f**
JCGGDB ID: **JCGG-STR031386**

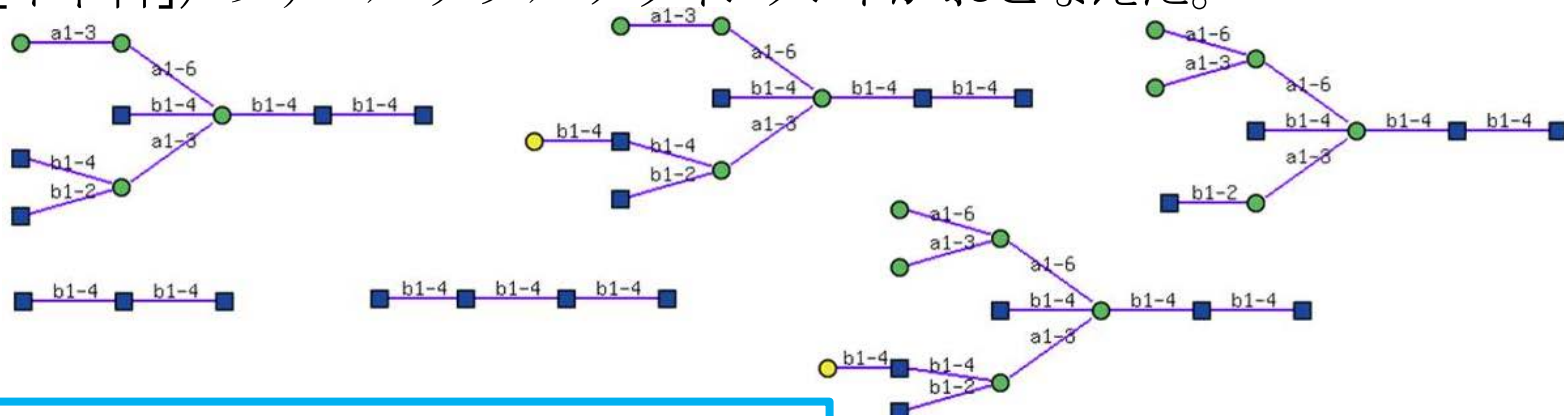
JCGGDB ID: JCGG-

● α \uparrow 3 ■ α \uparrow 3 ● β \uparrow 2 \rightarrow 4 ●

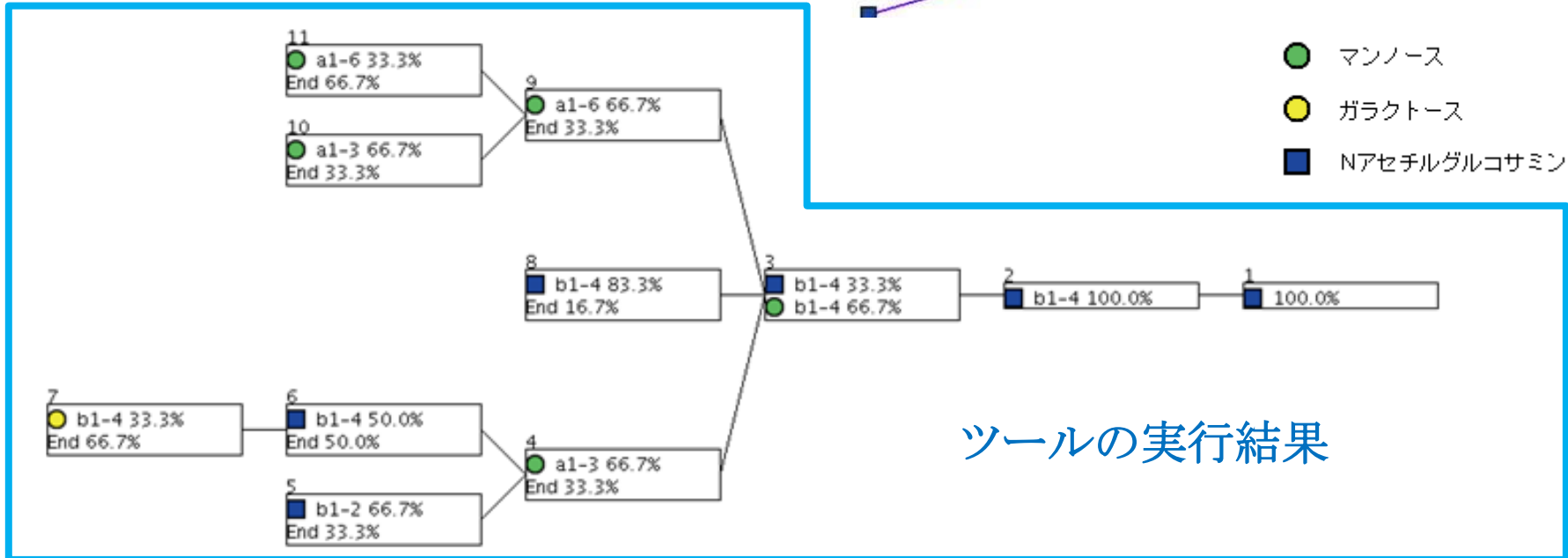
Glc	Man	Gal	GlcNAc	GalNAc	Fuc	Xyl	Neu5Ac	Neu5Gc	GlcA	IdoA	GlcN	dUA
●	●	●	■	■	▲	☆	◆	◇	●	●	●	☆

MCAWツールの実行 現状結果

- ツールの実行としてWGA (キチン結合レクチンファミリー、パンコムギ [イネ科]) のみマルチプルアラインメントがおこなえた。



- マンノース
- ガラクトース
- Nアセチルグルコサミン



ツールの実行結果

今後の研究課題

- ツールのプログラム改良
- レクチンフロンティアデータベースから糖鎖構造の取得
- 取得した糖鎖構造をツールで扱える形式に変換
- Pfamからレクチンのモチーフを取得する

研究開発成果の外部発表 報告

- 学会名: **2013 Annual Meeting of the Society for Glycobiology (SFG)**

開催地: アメリカ、フロリダ州、セント・ピーターズバーグ

開催日: 11月17日~20日

- ポスター発表題目: **A Web tool for visualizing common patterns among glycans**

Masae Hosoda, Kiyoko F. Aoki-Kinoshita

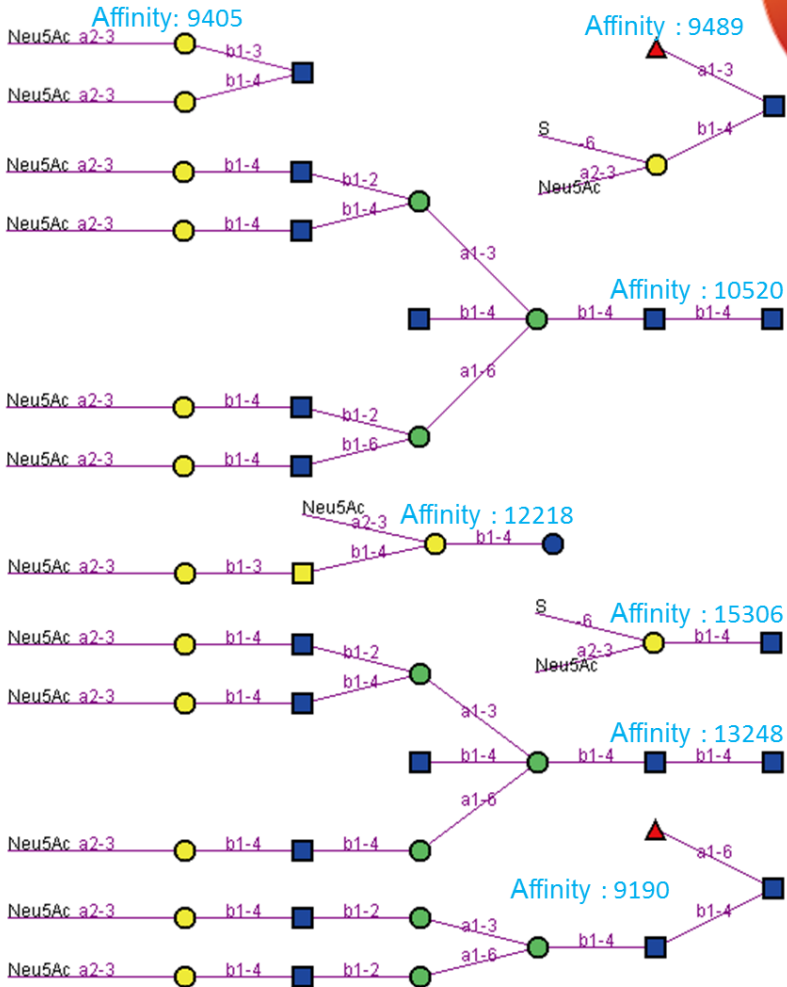
- Division of Bioinformatics Graduate School of Engineering Soka University
- JST, National Bioscience Database Center (NBDC), 5-3, Yonbancho, Chiyoda-ku, Tokyo, 102-0081, Japan

研究開発成果の外部発表 報告

Input glycans data

Advanced weighting options

gap:-10, monosaccharide:100, anomer:20,
nonreducing side:5, reducing side:15



発表内容

MCAWツール作成

CFG(Consortium for Functional Glycomics)の糖鎖アレイデータからツールの実行結果

MCAW Results

