

多機能蛋白質の機能発現の機構解明における小角散乱の役割 Role of small-angle scattering in unraveling the recognition mechanism by a multifunctional protein

和泉義信, Yoshinobu Izumi.

Graduate Program of Human Sensing and Functional Sensor Engineering, Yamagata University,

4-3-16 Jo-nan, Yonezawa, Yamagata 992-8510, Japan. E-mail:yizumi@yz.yamagata-u.ac.jp

1) 蛋白質の機能を理解するためには、蛋白質の立体構造を知ることが必要である。蛋白質の中には、1蛋白質で標的となる酵素(標的酵素)を多数もつ多機能蛋白質が存在する。このような多機能蛋白質は立体構造上どのような特徴をもっているのだろうか。ここでは、多機能蛋白質として、垣内らと Cheng により独立に発見されたカルモデュリン (CaM) をとりあげた。CaM は真核細胞に広く分布する、残基数 148, 分子量 16700 の比較的小さな酸性蛋白質で、その一次構造は種を超えて強く保存されている。CaM は酵素や細胞骨格の蛋白質など、標的となる多種多様な酵素や蛋白質を Ca^{2+} 依存的に活性化するため、多機能性発現の分子機構について多くの研究がなされている。

CaM と標的蛋白質との複合体の構造解析が分子機構解明に繋がることから、結晶解析, NMR, 小角散乱 (SAS) 法などが適用されてきた。これらの解析法の中で、SAS は低分解能の構造解析法として、蛋白質の分子構造の概略を知るために用いられてきた。このため、SAS で得られた構造情報から蛋白質の機能を知らることができるのか疑問に思われる方々も多いはずである。1980 年頃からはじまった放射光源, 点収束 SAXS 装置、検出器の進展により、SAXS より得られる蛋白質の構造情報は分子構造の概略に止まらず、より立ち入った構造の評価、さらには標的酵素を認識する素過程の解明も視野に入ってきた。とくに、SAS を結晶解析や NMR の相補的手法として用いる時、その能力は、より発揮される。

2) CaM は免疫細胞の生理機能、とくに細胞の活性化からアポトーシスにおよぶシグナル伝達経路において様々な機能を発現することが知られている。これまでの研究から、CaM はヒト免疫不全ウイルス (HIV-1) の外被糖蛋白質 (gp160) や構造蛋白質 (Gag, マトリックス蛋白質 (p17)) に Ca^{2+} 依存的に結合し、複合体を形成することが報告されてきた。

Ca^{2+} /CaM/gp160 系標的ペプチド複合体の溶液構造^[1]

gp160 の CaM 結合部位は、膜透過ドメイン (gp41) の C 末端側の細胞質領域に 2 箇所ある。これらの部位はウイルスの複製, 感染, 膜透過, 細胞変性に影響する。これらの CaM 結合部位ペプチドはレンチウイルス溶菌性を持ち、CaM に結合し、その標的酵素活性を阻害する。 Ca^{2+} /CaM は標的ペプチド (M13) と結合し、コンパクトな球状複合体を形成する: CaM の N ドメインの疎水性パッチが標的ペプチドの C 末端側のアンカー残基と、CaM の C ドメインの疎水性パッチが標的ペプチドの N 末端側のアンカー残基とそれぞれ相互作用する。これに対し、CaM は gp160 の標的ペプチドと結合し、球状の複合体を形成する: CaM の N ドメインの疎水性パッチが標的ペプチドの N 末端側のアンカー残基と、CaM の C ドメインの疎水性パッチが標的ペプチドの C 末端側のアンカー残基とそれぞれ相互作用する。後者の結合様式は、 Ca^{2+} /CaM/M13 複合体の場合と極性が完全に逆転している。SAXS からこの結論を導くために、3 種類の異なる HIV-1 の CaM 結合部位が準備され、これらが CaM