

# カルモデュリン(CaM)の新規な標的分子認識:

## CaM と HIV-1 Gag 系標的ペプチド複合体の小角散乱

和泉義信、青山亜季、南波宏匡、渡邊弘樹、松藤智洋、神保雄次、林宣宏<sup>1</sup>  
山形大院理工、藤田保健衛生大<sup>1</sup>

[1]CaM は、免疫細胞の生理機能において多様な役割を演じることが知られている。これは、CaM が活性化からアポトシスにおよぶ多様なシグナル伝達経路に関わるためである。最近、HIV-1 の被膜を形成するタンパク質が発現すると細胞内の CaM レベルが過剰に増加すること、さらに、CaM が Gag タンパク質やその構成要素である p17 に Ca<sup>2+</sup>依存的に結合することが報告された。P17 の CaM 結合部位は隣接して 2 箇所存在する。CaM はこれら 2 箇所の結合部位に相当するペプチドに対してナノモルの解離定数をもつ。しかし、これら複合体の溶液構造は報告されていない。本研究では、p17 の CaM 結合部位に相当する 3 種類のペプチドと Ca<sup>2+</sup>/CaM との複合体の溶液構造が小角散乱を用いて明らかにされる。

[2] CaM は林らの方法で調製されたものである。合成された 3 種類の標的ペプチドは、GELDRWEKIRLRPGGKKK(p17N), KKKYKCLKHIVWASRELERFAVN(p17C), GELDRWEKIRLRPGGKKKYKCLKHIVWASRELERFAVN(p17T)である。ここで、下線部はヘリックス構造をとる 1 次配列を示している。複合体の小角散乱測定は、KEK/PF/BL10/酵素回折計を用いてなされた。

[3]分子量の結果から、CaM は標的ペプチドと 1 対 1 および 1 対 2 でそれぞれ複合体を形成することが示された。1 対 1 のときの回転半径( $R_0/\text{\AA}$ )の値は、CaM/p17N で、22.1、CaM/p17C で 18.3、CaM/p17T で 20.3 を示した。前二者は、それぞれアレイ型とコンパクトな球状複合体の回転半径の値に対応している。これに対し、CaM/p17T の値は、これらのいずれの値とも異なる。Kratky プロットの挙動から、各複合体の形状を評価した。その結果、CaM/p17N はモル比によらずアレイ型形状を、CaM/p17C は等モルのとき、よりコンパクトな球状構造を、CaM/p17T は新規な構造をそれぞれとることが示唆された。後者の新規な構造は、CaM の各ドメインと p17T の 2 箇所の CaM 結合部位との新規な相互作用の結果生じるものと考えられる。p17T の C 末側の CaM 結合部位には 1-8-14 モチーフが存在するが、N 末側にはこのようなモチーフがないことから、CaM の各ドメインとの相互作用に大きな差異が生じたものと考えられる。

| Code | Sequence                                      | $R_0/\text{\AA}$ |
|------|---|------------------|
| P17N | <u>GELDRWEKIRLRPGGKKK</u>                     | 22.1             |
| P17C | <u>KKKYKCLKHIVWASRELERFAVN</u>                | 18.3             |
| P17T | <u>GELDRWEKIRLRPGGKKKYKCLKHIVWASRELERFAVN</u> | 20.3             |