

HIV-1 gp41 の LLP セグメントとカルモデュリンとの相互作用

和泉義信、天野章、齋藤剛史、神保雄次 山形大院理工

[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 が細胞の活性化からアポトー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 の被膜を形成する糖タンパク質(gp160)が発現すると細胞内の CaM レベルが過剰に増加することが報告された。Gp160 は、細胞表面にあるレセプターに結合する gp120 と膜貫通する gp41 の 2 つの部分から構成されている。CaM 結合部位は、gp41 の C 末端側の細胞質ドメインに 2 箇所存在し、C 末端側から lentivirus lytic peptide(LLP)-1, LLP-2 と名付けられた。LLP-1 と LLP-2 の CaM に対する解離定数は、それぞれ 31 と 41nM である。

本研究では、3 種類の HIV-1 の gp41 の LLP と CaM との相互作用が小角散乱により明らかにされる。小角散乱の結果と 3D-1D 法の結果から、gp41 の細胞質ドメインの立体構造が、Ca²⁺/CaM 結合により大きく構造変化をすることが提案される。

[2] CaM は林らの方法(*Protein Express. Purif.* 12(1998)25-28)で調製された。合成された LLP は、1 文字標記で表に記載された。下線付き文字は、予測されるアンカー残基を示している。CaM と LLP との相互作用解析は、KEK/PF/BL10/酵素回折計を用いてなされた。

[3] Ca²⁺存在下では、CaM は各 LLP と 1 対 1 で複合体を形成することが示された。回転半径と Kratky プロットの結果より、各複合体の形状はいずれも球状構造を取ることが示された。球状複合体は、LLP-1 の場合、逆 1-5-8-14 モチーフで、LLP-2 の場合、正 1-5-8-14 モチーフで形成されることが示された。さらに、モル比を変えた LLP-1 と LLP-2 と CaM との相互作用解析から、CaM はいずれの LLP とも非選択的に等価な球状複合体を形成することが示された。この結果は、上述の解離定数の結果と矛盾しない。これに対し、Ca²⁺非存在下では、apoCaM の有無にかかわらず、LLP は白濁した。これは、LLP 間の相互作用が、LLP-apoCaM 間の相互作用より強いいため、凝集体が形成され、白濁したものと考えられる。

3D-1D 法により、gp41 の細胞質ドメインの立体構造予測がなされた。その結果、LLP-1 と LLP-2 とは、約 27 の距離に位置していることが示された。これに対し、CaM と LLP との球状複合体の直径は約 55 である。このことから、LLP に CaM が結合すると、2 つの複合体が重なり、静電的反発力が生じる。その結果、2 つの複合体は、互いに斥け合うことが予測される。この構造変化が HIV-1 によるアポトーシスの進行に関わるものと考えられる。

Table SAXS results for Ca²⁺/CaM/LLP complexes

| LLP name | Sequence | M _{exp} /M _{cal} | Shape |
|---------------|--------------------------------|------------------------------------|---------|
| LLP1_A2/30 | DRVIEVAQRAYRAILHIHRRIRQGLERLLL | - | - |
| LLP1_A2/27 | DRVIEVAQRAYRAILHIHRRIRQGLER | 1.07 | Globule |
| LLP1_A2/20 | DRVIEVAQRAYRAILHIHRR | 1.02 | Globule |
| LLP1_revA2/20 | RRHIHLIARYARQAVEIVRD | 0.98 | Globule |
| LLP2_A2/20 | RRLRDLLLIARTVEILGHR | 0.98 | Globule |
| LLP1_H2/20A | DRVIEVVQGCRAIRHIPRR | 1.04 | Globule |
| LLP1_H2/20W | DRVIEVVQGCRAIRHIPRR | 1.09 | Globule |
| LLP1_B1/20 | DRVIEVVQGAYRAIRHIPRR | 1.04 | Globule |