

カルモデュリン / ミオシン V 系標的ペプチド複合体の小角散乱

海老沢大樹、渡部典子、神保雄次、和泉義信 山形大院理工

1) ミオシン V はアクチン繊維上を移動し、小胞やオルガネラを輸送するモータータンパク質の一つである。ミオシン V は球状 N 末端モーター領域である頭部、6 個の IQ モチーフ (IQ1~IQ6) を持つレバーアーム、小胞を結合する C 末端の尾部からなる。CaM はレバーアームの IQ モチーフに結合する。最近、IQ1 と IQ2 含む CaM 結合領域に結合した apoCaM の結晶構造が報告された¹⁾。それによると、apoCaM の C ドメインが IQ モチーフの N 末側と強く結合し、N ドメインは IQ モチーフの C 末端側と弱く結合している。本研究では、放射光小角 X 線散乱 (SR/SAXS) を用いて、CaM/IQ1 複合体の溶液構造を解析し、結晶構造と比較することを行った。

2) CaM は林らの方法 (Protein Express. Purif. 12(1998)25-28) で調製された。標的ペプチドとして、RIQKTIRGWLLRKRY (IQ1) が調製された。CaM/IQ1 複合体の Ca²⁺ 濃度変化、apoCaM/IQ1 と CaCaM/IQ1 複合体のタンパク濃度変化が、KEK/PF/BL10C/酵素回折計を用いて測定された。散乱データから、分子量 (M_{exp})、無限希釈時の回転半径 (R_0) および形状が評価された。

3) 表 1 に、apoCaM/IQ1 と Ca²⁺/CaM/IQ1 複合体の M_{exp}/M_{cal} と R_0 とがまとめて示された。apoCaM/IQ1 の結晶構造の回転半径の値も併せて示された。 M_{exp}/M_{cal} がほぼ 1 に近いことから、CaM と IQ1 とは 1 対 1 で複合体を形成することがみてとれる。apoCaM/IQ1 の R_0 はアレイ型構造をとる apoCaM の R_0 (21.2) に近い。これに対し、Ca²⁺/CaM/IQ1 の R_0 はこの値より約 1/3 小さな値を示した。いずれの値も結晶構造からの計算値より、3.4~4.5 倍大きい値を示している。図 1 は表 1 の 3 つの系の Kratky プロットの比較を示したものである。結晶構造からの計算曲線は、apoCaM/IQ1 複合体の Kratky プロットとは、 $0.008 < s/\text{Å}^{-1} < 0.028$ の領域で大きく外れている。このことから、結晶構造は溶液構造と異なることが示唆される。結晶構造では、apoCaM の N ドメインが IQ1 の C 末端側と弱く結合しているが、溶液状態ではこの弱い結合が保持されないものと考えられる。

表 1 複合体の M_{exp}/M_{cal} と R_0

	M_{exp}/M_{cal}	$R_0/\text{Å}$
ApoCaM/IQ1	1.02	21.5
Ca ²⁺ /CaM/IQ1	1.09	20.4
ApoCaM/IQ1 計算値	-	17.0

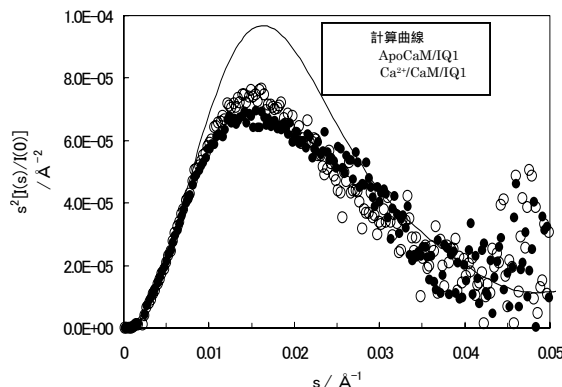


図 1 Kratky プロットの比較

1) Houdusse, A., Gaucher, J.-F., Krentsova, E., Mui, S., Tribus, K.M. and Cohen, C., (2006) *PNAS*, **103**, 19326-19331