

植物カルモデュリンの標的分子認識

後藤公平、神保雄次、和泉義信 山形大院理工、竹澤大輔 埼玉大理、
林 宣宏 藤田保健衛生大、松嶋範男 札幌医大

1) 植物カルモデュリンは、光、水分状態や温度変化など、様々な環境刺激を受けると Ca^{2+} 濃度が上昇するため、 Ca^{2+} と結合し、細胞分裂、細胞分化、 Ca^{2+} 情報伝達の活性化および制御を行う。ここで取り上げた馬鈴薯の CaM(PCM6)は、最近結晶構造が決定された。本研究では、放射光小角散乱法を用いて、PCM6の溶液構造と標的たんぱく質結合に伴う構造変化が明らかにされる。

2) PCM6 は既報告に従って調製された(Takezawa, *et al.*, (1995) *Plant Mol.Biol.* 27, 693-703)。標的分子として、細胞伸長タンパク質の PCM6 結合部位(DWF1)の野生型と変異型 2 種(F528D と V531D)および動物 CaM(以下 CaM)の標的酵素阻害剤として知られるトリフルオペラジン(TFP)とを用いた。測定は、KEK/PF/BL10C/酵素回折計を用いてなされた。散乱データから分子量、無限希釈時の回転半径(R_0)、形状が評価された。

3) 標的分子非存在下の Ca^{2+} /PCM6 の溶液構造: R_0 は 20.9 で CaM の R_0 より 1.3 小さい。Kratky プロットから、PCM6 の形状は、CaM よりドメイン間距離とドメインサイズの若干小さなアレイ型構造をとることが見て取れる。

DWF1 存在下の Ca^{2+} /PCM6 の溶液構造: PCM6 はいずれの標的ペプチドとも 1 対 1 で複合体を形成することが示された。複合体の R_0 は野生型で 18.8 、V531D で 19.3 、F528D で 20.7 となった。形状は前 2 者が Ca^{2+} /CaM/RS20 の複合体よりも少し緩んだ球状構造をとり、後者はさらに緩んだ球状構造をとることが示唆される。以上の結果から、複合体形成に 528 位の Phe が最も重要であることが示唆される。既報告の 1-5-8-14 モチーフと比べると PCM6 は 5 位と 14 位にアンカー残基が見られない。このため、コンパクトな球状複合体が形成されないものと考えられる。

TFP 存在下の Ca^{2+} /PCM6 の溶液構造: PCM6 は TFP と 1 対 1 でコンパクトな球状複合体を形成することが示された。このとき R_0 は 18.0 を示した。この値は Ca^{2+} /CaM/RS20 複合体の R_0 と同じ値である。既報告によると Ca^{2+} /CaM は TFP と 1 対 4 でコンパクトな球状構造をとる(Matsushima *et al.*, (2000) *Biochem. J.* 347, 211-215)。PCM6 と CaM との TFP に対する分子認識が大きく異なることが示された。