

カルモデュリンとアルツハイマー病タンパク質の相互作用解析

武田まなみ、神保雄次、和泉義信 山形大院理工

1) アルツハイマー病(AD)は、細胞内遊離 Ca^{2+} の増加による脳の記憶学習に関係する領域の細胞死が原因であることが明らかになっている。カルモデュリン (CaM) は Ca^{2+} シグナル伝達の細胞内主要センサーであることから、AD と直接関わる可能性があり、さらにデータベースにより AD 関連タンパク質の CaM 結合部位が多数見いだされたことから AD の Ca^{2+} 仮説がクローズアップされてきた。本研究の目的は CaM がこれら CaM 結合部位と実際に複合体を形成するかどうかを放射光小角 X 線散乱法で評価し、その構造情報をもとに、CaM と AD タンパク質との関係を検討することである。

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 AD ペプチド(ADpep)は一文字表記で下表に記載された。CaM と ADpep との相互作用解析は KEK/PF/BL10C/酵素回折計を用いて行われた。

3) Ca^{2+} 存在下では、各 ADpep と CaM とは 1 対 1 で複合体を形成することが示された。また、Kratky プロットから評価された複合体の形状は、モチーフにより分類できないことが示された。このことから Ca^{2+} /CaM/ADpep 複合体の Kratky プロットの形状から Ca^{2+} /CaM がどの ADpep と結合しているかを判定することが可能となる。BACE2 と PSN 1 とは CaM 存在下で共に白濁したので上清について測定した。APH-1a は Ca^{2+} 非存在下では白濁したが、 Ca^{2+} 濃度の増加に伴い、溶解した。これは Ca^{2+} が CaM に結合すると CaM のドメイン内部の疎水性パッチが開き、パッチと APH-1a の疎水性残基とが相互作用した結果、溶解したと考えられる。また、既存のモチーフが見いだされていない -syu は C 末端からの逆 1-5-8-14 モチーフで Ca^{2+} /CaM と複合体を形成することが示された。

以上の結果、CaM は Ca^{2+} 依存的に AD 関連タンパク質と結合し、それらの機能を調節することが示唆される。

Table SAXS results for Ca^{2+} /CaM/ADpep complexes

Peptide name	Sequence* ¹	M_{exp}/M_{cal}	Shape* ²
APH-1a	LQEVFRFA <u>YYKLL</u> KK	1.0 ₀	I ⁺
APP	RRRLA <u>L</u> ENY <u>I</u> TALQA <u>V</u> PPRPRH	1.0 ₄	I
PEN2	KLNLCKRKY <u>Y</u> LGGE <u>A</u> FL <u>P</u> E	1.1 ₄	G
PSN1	RGV <u>K</u> LGL <u>G</u> DF <u>I</u> FY <u>S</u> VL <u>V</u> GK	—	I ⁺
BACE1	RRGS <u>F</u> VEMVDNLRGKSGQGY <u>Y</u> VE	1.1 ₂	D ⁺
BACE2	<u>F</u> Y <u>V</u> I <u>D</u> RAQ <u>K</u> RV <u>G</u> E	—	D
NIC	D <u>L</u> MEKLGRTSRIAG <u>L</u> AVSLTK	0.9 ₂	I
Tau-alz	SSG <u>A</u> KEMKLGADGKTK <u>I</u> A <u>T</u>	1.0 ₀	D ⁻
-syu	KT <u>V</u> EGAGS <u>I</u> AA <u>A</u> T <u>G</u> F <u>V</u> KK	1.0 ₀	I ⁺

*1: 下線の 1 文字表記はアンカー残基を示す。

*2: I⁺, I は異なる中間体構造, G は球状構造, D⁺, D, D⁻ は異なるアレイ型構造をそれぞれ示す。