

カルモデュリンと HIV-1 Gag 系標的ペプチド複合体の小角散乱

渡邊弘樹、青山亜季、渡部典子、神保雄次、和泉義信 山形大院理工

[1]カルモデュリン(CaM)は免疫細胞の活性化からアポトーシスにおよぶシグナル伝達経路において多様な機能を持つ。ヒト免疫不全ウイルス(HIV)-1の外被糖タンパク質を発現する細胞中でCaMの増加することが報告された。さらなる研究の結果、CaMがHIV-1のGagタンパク質(p55)を構成するmatrix protein(p17)と結合することが示された。ヒト細胞内でHIV-1が増殖する際、転写されたRNAをもとにGagタンパク質が合成され、ヒト細胞膜へと集結し、細胞外へHIV-1として飛び出す。その際、p17はRNAを細胞膜へ誘導し、自ら細胞膜へ刺さって固定化する役割をしている。p17のN末端側にはCaM結合部位が2箇所あることが報告されている。p17のこれらCaM結合部位にCaMが結合すると、負電荷を持つヒト細胞膜内側と酸性タンパク質であるCaMとの間に静電的斥力相互作用が働き、近づくことができなくなる。その結果、ウイルス増殖が抑制されると考えられている。本研究では、2箇所のCaM結合部位を併せ持つペプチドp17(10-46)とCaMとが複合体を形成する際、CaMはNとC末端側のどちらと優先的に結合するのか、または2箇所同時にCaMが結合するのかを複合体の溶液構造から明らかにすることを目的とした。

[2]CaM試料はHayashiらの方法(*Protein Express. Purif.*12(1998)25-28)で調製された。合成されたp17(10-46)は、1文字表記で表に記載された。CaMとp17(10-46)との相互作用解析は、KEK/PF/BL10C/酵素回折計を用いてなされた。

Table Peptide name and sequence

Peptide name	Amino acid sequence
p17(10-46)	GELDRWEKIRLRPGGKKKYKCLKHIVWASRELERFAVN

[3]Ca²⁺存在下では、CaMはp17(10-46)と1対1で複合体を形成することが示された。回転半径の結果より、複合体はアレイ型構造とコンパクトな球状構造の中間的な値をとることが示された。Kratkyプロットの形状からは、コンパクトな球状構造(Ca²⁺/CaM/RS20)とアレイ型構造(Ca²⁺/CaM)の中間的な散乱挙動では説明できない。このことから、Ca²⁺/CaM/p17(10-46)複合体が新規な構造を取ることが示唆された。Ca²⁺/CaM/p17(10-46)複合体の分子モデルを予測した。SR-SAXS測定結果と最も適合するMolMovDBとInsight IIによる分子モデルを図1に示した。図2はDAMMIN

による分子モデルである。DAMMINによる分子モデルが右図のモデルの概略を示していることが見て取れる。複合体形成により、Ca²⁺/CaMの2ドメイン構造は保存されるが、p17(10-46)の結晶構造が大きく変化しているのが見て取れる。p17(10-46)のこの大きな形態変化は、p17(10-46)の2箇所のCaM結合部位がCa²⁺/CaMの両ドメインと同時に結合することにより誘起されると考えられる。



Fig1. A proposed Model

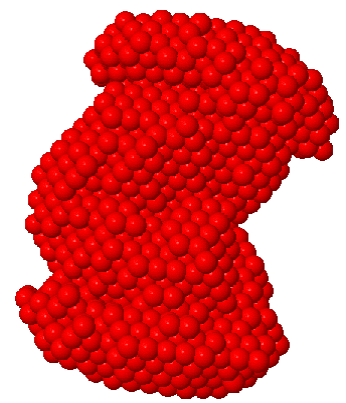


Fig2. DAMMIN model