

## 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 2

海老沢大樹, 嶋田信彦, 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, IQ モチーフをもつ標的タンパク質と結合する. このモチーフをもつモータータンパク質の一つにミオシン V がある. 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. その構造は N 末端モーター領域である球状の頭部, 6 個の IQ モチーフを持つレバーアーム, 小胞を結合する C 末端の尾部とからなる. CaM はレバーアームの IQ モチーフに結合する. 最近, 1 と 2 番目の IQ モチーフ (IQ1 と IQ2) それぞれに,  $Ca^{2+}$  非結合 CaM (apoCaM) が結合した複合体の結晶構造が報告された. それによると, apoCaM の C ドメインは IQ モチーフの N 末側と強く結合しているが, 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, CaM と IQ1, IQ2 およびこれらを含む IQ(1+2) との溶液構造を既報告の結晶構造と比較することを目的とした.

[2] CaM は遺伝子組換えにより発現させ, 生化学的に精製された. IQ1, IQ2 と IQ(1+2) は, 固相合成法により合成され, HPLC で精製された. 測定は, 高エネルギー加速器研究機構, 物質構造科学研究所, 放射光科学研究施設の BL10C に設置された酵素回折計を用いてなされた. CaM/IQ(1+2) 溶液は白濁したため, 遠心後, 上清が測定された. 散乱データから, 分子量, 回転半径および形状が評価された. 溶液構造との比較のために, PDB :1cfc と PDB :2ix7 とが用いられた.

[3] 表 1 に, apoCaM/IQ1 と apoCaM/IQ2 の実験値と計算値の分子量比 ( $M_{exp}/M_{cal}$ ) が示された.  $M_{exp}/M_{cal}$  がほぼ 1 に近いので, apoCaM は IQ1, IQ2 とそれぞれ 1 対 1 で複合体を形成することがみてとれる. 表 1 には, 各複合体の回転半径の実験値と計算値とがまとめて示されている. apoCaM/IQ1 と apoCaM/IQ2 の  $R_0$  は, 対応する結晶構造の  $R_0$  よりも大きい, apoCaM/IQ(1+2) では逆に小さくなっている. 図 1 に apoCaM/IQ1 と apoCaM/IQ(1+2) の Kratky プロットの実験と計算結果との比較が示されている. apoCaM/IQ1 (示されていないが, apoCaM/IQ2 も) の Kratky プロットは,  $0.008 < s^{-1} < 0.028$  の領域で計算結果から大きく上方に外れている. これに対して, apoCaM/IQ(1+2) 複合体の Kratky プロットは  $0.010 < s^{-1} < 0.035$  の領域で下方に外れている. このことから, どの複合体の溶液構造も結晶構造と異なることがみてとれる. 結晶構造では, apoCaM の N ドメインが IQ1 (IQ2) の C 末端側と弱く結合しているが, apoCaM/IQ1 (IQ2) の溶液状態ではこの結合が切れているものと考えられる. これに対して, apoCaM/IQ(1+2) の溶液構造は, 結晶構造よりコンパクトになっている. apoCaM 2 分子が IQ(1+2) に結合すると, apoCaM 間になんらかの協同的な相互作用がはたらき, apoCaM の両ドメインが結晶状態より強く IQ(1+2) に結合する結果と考えられる. また, apoCaM/IQ1 と apoCaM/IQ2 には白濁が見られず, apoCaM/IQ(1+2) に見られたが, これは IQ(1+2) の配列に, IQ1 と IQ2 に無い疎水性残基配列が含まれるためと考えられる.

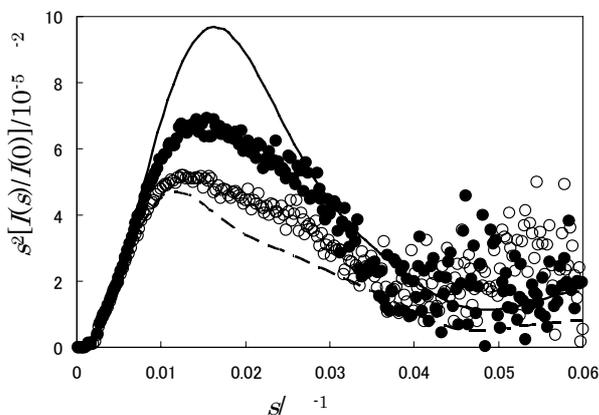


図 1 Kratky プロットの比較  
 (○) apoCaM/IQ1 (○) apoCaM/IQ1 計算値  
 (□) apoCaM/IQ(1+2) (---) apoCaM/IQ(1+2) 計算値

表 1  $M_{exp}/M_{cal}$  と  $R_0$  ( $R_g$ )

	$M_{exp}/M_{cal}$	$R_0$ /
apoCaM/IQ1 (exp)	1.04	21.8
apoCaM/IQ1 (cal)	-	17.0
apoCaM/IQ2 (exp)	0.94	21.3
apoCaM/IQ2 (cal)	-	17.5
apoCaM/IQ(1+2) (exp)	-	23.9 <sup>*1</sup>
apoCaM/IQ(1+2) (cal)	-	24.6
apoCaM (exp)	-	20.9 <sup>*2</sup>
apoCaM (cal)	-	19.5

<sup>\*1</sup> 有限濃度での  $R_g$ , <sup>\*2</sup> 既報告