

カルモデュリン/アルツハイマー病関連タンパク質:

シナプシン 1 溶液の小角散乱

加藤裕大, 嶋田信彦, 神保雄次, 和泉義信 山形大院理工

[1]

カルモデュリン(CaM)は真核細胞に存在し、アミノ酸 148 残基からなる酸性タンパク質で、2つの球状ドメインが中央リンカーで結ばれた亜鈴型構造をとっている。CaM は Ca^{2+} と結合($\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$)すると活性化し、その構造を大きく変化させ標的タンパク質と結合し、その機能を発現させる。CaM の標的タンパク質の一つにシナプシン 1 がある。シナプシン 1 は、神経細胞内にあるシナプス小胞の周りに結合して存在しており、 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ と結合することにより記憶力低下を促すとされている。そこで本研究ではシナプシン 1 を CaM の標的タンパク質として取り上げ、 Ca^{2+} 存在下での CaM との複合体の溶液構造を放射光小角 X 線散乱法(SR-SAXS)法により解析した。

[2]

CaM は遺伝子組み換え大腸菌により発現され、精製にはアフィニティークロマトグラフィーが用いられた。ペプチドは Fmoc 固相合成法で合成され、HPLC で精製された。合成したペプチドは 15 残基の S15WT、1 箇所変異させた S15D3K、16 残基の S16WT の 3 種類である。標的ペプチドと CaM との混合溶液の SAXS 測定を行い、散乱データから分子量比($M_{\text{exp}}/M_{\text{cal}}$)、回転半径(R_0)および形状が評価された。

[3]

シナプシン 1 は CaM キナーゼ II ペプチド(CaMK2p)と同じく1-5-10モチーフを持っているので $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ との複合体はコンパクトな球状構造をとると考えられた。表 2 の $M_{\text{exp}}/M_{\text{cal}}$ から、各ペプチドは CaM と 1 対 1 で複合体を形成していることが見て取れる。各複合体の R_0 は $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}/\text{CaMK2p}$ と異なり、 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 単独の値にほぼ等しい。図 2 の Kratky プロットから、各複合体は亜鈴型構造をとることが見て取れる。シナプシン 1 の結晶構造(PDB:1AUV)の、標的ペプチドに対応する領域を見てみると、 α -ヘリックス構造をほとんどとっていないことが確認できた。標的ペプチドにおいてもこの結晶構造が保持されるとするならば、 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ との複合体は亜鈴型構造をとるものと考えられる。この考えをさらに確かめるために、標的ペプチド単独の溶液構造を調べる予定である。

シナプシン 1 の CaM 結合部位は、アクチン結合部位およびシナプシン小胞の結合部位とも重なっていることから、CaM 結合により、これらの結合が阻害されると考えられる。そのため、記憶力低下が促進されると考えられる。

表 1 各標的ペプチドの一次配列

S15WT	H T D W A K Y F K G K K I H G
S15D3K	H T K W A K Y F K G K K I H G
S16WT	H T D W A K Y F K G K K I H G E

* 枠内はアンカー残基

* 下線は変異箇所

表 2 各複合体の $M_{\text{exp}}/M_{\text{cal}}$ と R_0 値

CaM	peptide	$M_{\text{exp}}/M_{\text{cal}}$	R_0
$\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$	-	1.00	21.9
	S15WT	1.13	21.8
	S15D3K	1.04	21.8
	S16WT	1.04	21.9
	CaMK2p*	-	17.8

*:本間忠大 修士学位論文(山形大学)13年3月

