

カルモデュリンと V2 バソプレッシンレセプター系
標的ペプチド複合体の小角散乱 2

嶋田信彦、神保雄次、和泉義信（山形大院理工）、林 宣宏（藤田保健衛生大）

[1]カルモデュリン (CaM) は、様々な G タンパク質共役受容体 (GPCR) と相互作用することが知られている。GPCR の 1 つである V2 バソプレッシンレセプター (V2R) は、腎臓の遠位尿細管と集合管に存在する細胞膜 7 回貫通型受容体であり、尿の濃縮と水分の恒常性を維持するシグナル伝達経路に関わっている。既報告から、Ca²⁺ 存在下で、CaM は V2R の C 末端側と相互作用することが知られている¹⁾。CaM 結合部位を CaM ターゲットデータベースで検索した結果、さらに細胞内の第 1 ループにも CaM 結合部位が確認された。

本研究では、CaM と V2R のこれら 2 箇所 CaM 結合部位に相当するペプチドとの相互作用と溶液構造とが小角散乱法により明らかにされ、シグナル伝達における CaM の役割が議論される。

[2]CaM は林らの方法で調製された²⁾。合成された V2R ペプチドは 1 文字表記で下表に記載された。CaM と V2R ペプチド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。

[3]CaM は各標的ペプチドと 1 対 1 で複合体を形成することが示された。回転半径と Kratky プロットの結果より、CaM と V2RC との複合体は亜鈴型構造を取り、V2RN との複合体は球状構造を取ることが示された。また、DAMMIN による分子モデル

からも各複合体の構造が示された。V2RC との複合体は、既報告の CaM 結合モチーフによる形成ではなく、V2RC のアルギニンと CaM 表面の酸性残基との静電的相互作用で結合していると考えられた。また、V2RN との球状複合体は、1-5-14 モチーフで形成されると考えられた。さらに、モル比を変えた V2RC と V2RN と CaM との相互作用解析から、CaM は V2RN と優先的に複合体を形成することが示された。以上の結果から、バソプレッシンのシグナル伝達には CaM が関与し、CaM は V2R の細胞内第 1 ループと複合体を形成し、その際の V2R の大きな構造変化により、シグナルが伝達すると考えられた。

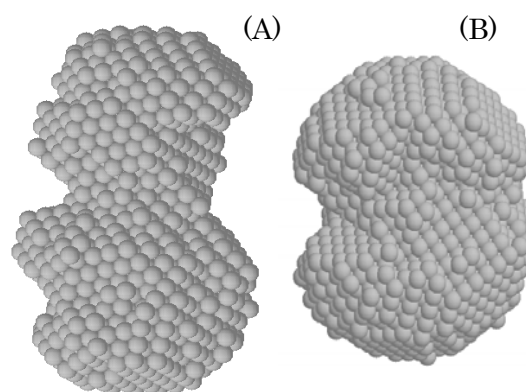


Fig DAMMIN model
(A) Ca²⁺/CaM/V2RC (B) Ca²⁺/CaM/V2RN

Table SAXS results for Ca ²⁺ /CaM/Target peptide complexes			
Peptide name	Sequence	M_{exp}/M_{cal}	Shape
V2RC	ELRSLSSARGRTPPSLGPQDES	0.94	Dumbbell
V2RCA	ELRSLSSAAAATPPSLGPQDES	0.89	Dumbbell
V2RN	NGLVLAALARRGRRGHWAPIH	1.01	Globule

1) Nickols, H.H., *et al.*, (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 46969-46980.

2) Hayashi N., *et al.* (1998) *Protein Express. Purif.* **12**, 25-28.