

## カルモデュリン/アルツハイマー病関連タンパク質の溶液構造解析

加藤裕大, 神保雄次, 和泉義信

山形大院理工

[1] 本研究ではカルモデュリン(CaM)の標的タンパク質としてアルツハイマー病 (AD) 関連タンパク質を取り上げた。既報告より、AD 関連タンパク質および AD に到る経路が明らかにされ、これらの経路に関わるタンパク質(AD 関連タンパク質)のアミノ酸配列に CaM ターゲットデータベースを適用すると、推定カルモデュリン(CaM)結合部位が多数探索された。その結果、AD に CaM が関わる事が提案された (CaM 仮説)。しかし、この仮説の実験的検証は未だ十分に行われていない。本研究では、CaM と AD 関連タンパク質由来の標的ペプチドとの複合体の溶液構造解析を行ない、この仮説の実験的検証を目的とする。

[2] CaM と標的ペプチドは既報告記載の方法で調製された。合成したペプチドを表 1 に示す。測定には KEK/PF/BL10C に設置された酵素回折計が用いられた。散乱データから各複合体の分子量、回転半径、および形状がそれぞれ評価された。

[3] 今回の標的ペプチドには CaMK2p と同じく 1-5-10 モチーフが存在する。そのため、Ca<sup>2+</sup>/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 R<sub>0</sub> 値から APH-1a だけが CaMK2p と同じ値なので球状構造を、シナプシン 1(S15WT,S15D3K,S16WT)と Nic は亜鈴型構造をとることがみてとれる。M<sub>exp</sub>/M<sub>cal</sub> から、ApoCaM は S16WT、ApH-1a 以外の各ペプチドと 1 対 1 で複合体を形成していると言える。S16WT の M<sub>exp</sub>/M<sub>cal</sub> は 0.87 と 1 より低い値なので 1 対 1 で結合していない。これは S16WT の C 末側の酸性残基が CaM の酸性残基と反発しあっていることが考えられる。APH-1a では逆に大きな値になった。これは ApoCaM/APH-1a の会合体が混在しているためと考えられる。Ca<sup>2+</sup>/CaM/シナプシン 1 複合体が亜鈴型構造なのは、シナプシン 1 が  $\alpha$ -ヘリックス構造をほとんどとっていないためと考えられる (結晶構造(PDB:1AUU)のこのペプチドに対応する領域が、 $\alpha$ -ヘリックス構造をほとんどとらない)。

次に Nic 複合体が亜鈴型構造をとる理由は、車輪プロットで考えた時、5 番目のアンカー残基の近くに酸性残基があり、これが CaM の疎水性パッチ周りにある酸性クラスターと反発し合うためと考えられる。今後、変異体を用いた構造解析により、この考えの確認を行う予定である。

表 1 各ペプチドの一次配列

S15WT	HTD <u>W</u> AKY <u>F</u> KGKK <u>I</u> HG
S15D3K	HT <u>K</u> <u>W</u> AKY <u>F</u> KGKK <u>I</u> HG
S16WT	HTD <u>W</u> AKY <u>F</u> KGKK <u>I</u> HGE
APH-1a	LQE <u>V</u> FRF <u>A</u> YYKL <u>L</u> KK
Nic	KANN <u>S</u> <u>W</u> <u>F</u> <u>Q</u> <u>S</u> <u>I</u> <u>L</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>D</u> <u>L</u> R

\* 枠内はアンカー残基 \* 下線は変異箇所 \* 丸枠内は IQ モチーフ

表 2 各複合体の測定値

CaM	peptide	M <sub>exp</sub> /M <sub>cal</sub>	R <sub>0</sub> /	形状
ApoCaM	-	1.00	21.5	
	S15WT	0.98	21.7	亜鈴型
	S15D3K	0.94	22.3	亜鈴型
	S16WT	0.87	21.7	亜鈴型
	APH-1a	1.49	22.5*2	亜鈴型
	Nic	0.96	21.6	亜鈴型
Ca <sup>2+</sup> /CaM	-	1.00	21.9	亜鈴型
	S15WT	1.13	21.8	亜鈴型
	S15D3K	1.04	21.8	亜鈴型
	S16WT	1.04	21.9	亜鈴型
	APH-1a	1.27	17.8*2	球状
	Nic	1.07	21.1	亜鈴型
	CaMK2p*1	-	17.8	球状

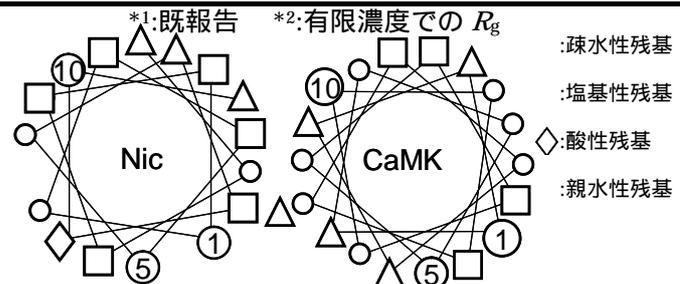


図 1 車輪プロット