

カルモデュリン/ミオシン 系標的ペプチド複合体の 小角散乱4

海老沢大樹、神保雄次、和泉義信 山形大院理工

[緒言] カルモデュリン(CaM)は、IQモチーフを持つ標的タンパク質と結合する。このモチーフを持つモータータンパク質の一つにミオシンVがある。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(IQ1~IQ6)を持つレバーアーム(レバー)、小胞を結合するC末端の尾部とからなる。CaMはレバーのIQモチーフに結合する。我々はこれまでにCa²⁺存在下と非存在下でのCaMとIQ1、IQ2、IQ(1+2)との複合体の溶液構造の解析を行ってきた。その結果、ApoCaMとIQ1、IQ2、IQ(1+2)との複合体はどれも結晶構造とは異なり、ApoCaMのNドメインと標的ペプチド(TP)のC末側との結合が切れていると考えられた。ApoCaM/IQ1、ApoCaM/IQ2では白濁しないがApoCaM/IQ(1+2)では白濁した。また、Ca²⁺存在下ではCaMとIQ(1+2)との2:1の複合体以外の存在が示唆された。そこでCaMとIQ(1+2)内のIQ1、IQ2の間の部分を含むペプチド(IQm)、IQ3そしてIQ4との複合体の溶液構造を解析し、前回の結果と併せて検討することを目的とした。

[実験]試料はこれまでと同様に得られた¹⁾。測定は酵素回折計を用いてなされた。CaMとIQm、IQ3、IQ4との溶液は[Ca²⁺]/[CaM]が1以下の時、白濁したため、一分間の遠心後、上清が測定された。上清は測定後回収され、分光学的に濃度決定された。得ら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。

[結果] CaM/IQmは[Ca²⁺]/[CaM]が1以下で白濁したことから、ApoCaMとIQ(1+2)との白濁はCaMとIQ(1+2)内のIQ1とIQ2との間のアミノ酸残基との相互作用によるものと考えられる。ApoCaM/IQ3、ApoCaM/IQ4は共に分子量(M_{exp})が複合体を形成した時の分子量の計算値(M_{cal})より大きく、無限希釈時の回転半径(R_0)もApoCaMの値より大きくなったことから、会合体の存在が示唆される。Ca²⁺存在下ではCaMとIQm、IQ3、IQ4と各複合体の分子量が M_{cal} に近いことから、1:1の複合体を形成していることが見て取れる。Ca²⁺/CaM/IQmの R_0 はCa²⁺/CaM/RS20のそれに近く、Kratkyプロットも同じような形状を示した。このことからCa²⁺/CaM/IQmはコンパクトな球状構造をとっていることが見て取れる。以上のことから、Ca²⁺/CaM/IQ(1+2)溶液にはCa²⁺/CaMとIQ(1+2)との2:1での複合体だけでなく、IQ(1+2)のIQmに対応する部分に結合した1:1の複合体も存在することになる。これらの比率は

$$\text{Ca}^{2+}/\text{CaM} : \text{Ca}^{2+}/\text{CaM}/\text{IQ}(1+2) : 2(\text{Ca}^{2+}/\text{CaM})/\text{IQ}(1+2) = 2 : 2 : 1$$

と考えられる。

1) 海老沢大樹、他：第26回PFシンポジウム要旨集, 68(2009)