

植物カルモデュリンの標的分子認識 4

原田靖之、神保雄次、和泉義信 山形大院理工、竹澤大輔 埼玉大院理工
林 宣宏 東工大院生命理工、松嶋範男 札医大医療人育成センター

[1] カルモデュリン(CaM)はCa²⁺結合に伴う立体構造変化を通じて標的タンパク質の活性化および制御を行う多機能Ca²⁺センサーである。これまで動物由来のCaMの立体構造と機能に関する研究が詳細に行われてきたが、植物由来のカルモデュリン(PCaM)に関する知見は十分に得られていない。馬鈴薯から発見されたPCM6 が、唯一結晶構造解析がなされたPCaMである。しかし、PCM6 と標的タンパク質の複合体の溶液構造、標的分子認識機構などについては明らかにされていない。本研究では、放射光小角X線散乱 (SR/SAXS)によりCa²⁺非存在下と存在下、標的分子非存在下と存在下でのPCM6 の溶液構造を解析する。標的分子としてはPCaMと結合し機能を発現することが報告された、細胞伸長タンパク質DWF1、ヒメツリガネゴケのペプチダーゼPhyCaMPN(PCPN)、シロイヌナズナのBAGタンパク質AtBAG6、馬鈴薯のCaM結合タンパク質PCBPの予測CaM結合部位(標的ペプチド)、さらにCaM阻害剤であるTrifluoperazine (TFP)、W-7、W-5 が用いられた。SR/SAXSで得られた溶液構造をもとにPCaMの標的分子認識機構、動物CaMとPCaMとの構造と機能の違いについて言及する。

[2]実験は既報告に従って行われた¹⁻³⁾。

[3] (a)標的分子非存在下では、Ca²⁺の有無に関わらずPCM6 は亜鈴型構造をとることが示された¹⁾²⁾。さらに、PCM6 の溶液構造はCa²⁺非依存的であることが示唆された。(b)各Ca²⁺/PCM6/DWF1 は1対1で複合体を形成し、球状構造をとることが示された¹⁻³⁾。PCM6 とDWF1 の球状構造は、新規モチーフを認識した結果と考えられる。(c)ApoPCM6/PCPNは亜鈴型構造を、Ca²⁺/PCM6/PCPNは球状構造を示した³⁾。Ca²⁺/PCM6/PCPNの球状構造は1-8-14モチーフを認識した結果と考えられる。(d)ApoPCM6/AtBAG6 は亜鈴型構造を、Ca²⁺/PCM6/AtBAG6 は新規構造を示した。ApoPCM6/AtBAG6 の複合体はIQモチーフを認識した結果と考えられる。(e)Ca²⁺/PCM6 はPCBPと1対2で結合し、楕円体構造を示した。Ca²⁺/PCM6 はPCBP内の既存のモチーフを認識せず、複合体を形成すると考えられる。(f)Ca²⁺/PCM6 と各CaM阻害剤の結果は動物CaMと類似する結果を示した³⁾。PCM6 の各CaM阻害剤に対する認識機構は、動物CaMの場合と類似していることが示唆された。

1)後藤公平他:第24回PFシンポジウム要旨集 p63(2007)KEK

2)原田靖之他:第25回PFシンポジウム要旨集, p55 (2008) KEK

3)原田靖之他:第26回PFシンポジウム要旨集, p70(2009)つくば国際会議場