

赤外分光法による EF ハンドモチーフの構造解析—配位子セリンが Ca²⁺配位構造に及ぼす影響

(医科歯科大教養¹・青山学院大理工²・東大院農³) ○奈良 雅之¹・森井 尚之¹・坂本章²・宮川 拓也³・田之倉 優³

Infrared spectroscopic analysis of the structure of EF-hand motif: Effect of ligand serine on the Ca²⁺-coordination structure. (¹College of Liberal Arts and Sciences, Tokyo Medical and Dental University, ²College of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University, ³Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo)

○Masayuki Nara,¹ Hisayuki Morii,¹ Akira Sakamoto,² Takuya Miyakawa,³ Masaru Tanokura³

EF-hand motif (helix-loop-helix) is a Ca²⁺-binding domain in common between many intracellular Ca²⁺-binding proteins such as parvalbumin and troponin C (TnC). Infrared spectroscopy (FTIR) was applied to study the synthetic peptide analogs corresponding to the Ca²⁺-binding site III (DRNADGYIDAE (residues 103-114)) of rabbit skeletal muscle TnC. The 17-residue peptide analog corresponding to the wild type (Ac-DRNADGYIDAEELAEIF-NH₂) showed the band at about 1552 cm⁻¹, which was assigned to the sidechain COO⁻ group of Glu at the 12th position serving as the ligand for Ca²⁺ in the bidentate coordination mode. The mutated peptide analog of the site III (N105D and D107S) showed a band at about 1546 cm⁻¹. Therefore, the COO⁻ group at the 12th position may interact with Ca²⁺ strongly, unless there is a formal charge at the 5th position.

Keywords : Coordination Structure; Infrared Spectroscopy; Calcium Binding Protein; Synthetic Peptide Analog

EF ハンドモチーフ (helix-loop-helix) はパルブアルブミン、トロポニン C (TnC) などに共通する Ca²⁺結合ドメインである。Ca²⁺結合部位はアミノ酸 12 残基からなり、酸性アミノ酸残基の側鎖の酸素原子などが Ca²⁺の配位子に関わっている。12 位のグルタミン酸側鎖の COO⁻基は Ca²⁺と二座配位型で配位し、その COO⁻逆対称伸縮モードは 1555-1550 cm⁻¹にバンドを示す。本研究ではウサギ骨格筋 TnC のサイト III の Ca²⁺ 結合部位のモデルとして、17 残基の合成ペプチド Ac-DRNADGYIDAEELAEIF-NH₂ (天然型) 並びにそのアミノ酸置換体の赤外スペクトルを測定した。天然型では、12 位のグルタミン酸は 1552 cm⁻¹にバンドを示したが、3 位のアスパラギン酸をアスパラギン酸に、5 位のアスパラギン酸をセリンに置換したペプチドでは、12 位のグルタミン酸が 1546 cm⁻¹に低波数シフトすることが分かった。また、1 位のアスパラギン酸をセリンに置き換えると、12 位のグルタミン酸は 1561 cm⁻¹に高波数シフトしたので、疑ブリッジ型で Ca²⁺に結合した可能性が高い。1 位、3 位、5 位等のアミノ酸残基をセリン残基に置換したときの Ca²⁺配位構造への影響について議論する。

1) Nara, M., Morii, H., and Tanokura, M. (2013) *Biochim. Biophys. Acta* **1828**, 2319-2327.