

26LA-am06

ヒトERK1/Iodotubercidin複合体の構造学的研究

○吉田 育代¹, 木下 誉富¹, 合田 正貴², 横田 耕一², 松原 守^{2,3}, 石黒 啓司²,
多田 俊治¹ (¹大阪府大院理, ²カルナバイオサイエンス(株), ³京都学園大バイオ環)

【目的】ERK は、細胞外刺激に応じた細胞成長と分化の調整と制御に寄与しており、ERK の異常亢進は AP-1 を介した炎症反応を引き起こす。ERK には ERK1 および ERK2 の 2 種のアイソフォームが存在するが、それらの生理機能の相違は明確ではなく、いずれが炎症性疾患のより適切な標的酵素であるかは曖昧である。そこで本研究では、human ERK1 の構造を X 線結晶構造解析により決定し、構造既知の human ERK2 との構造相違点を明確にし、アイソフォームそれぞれに高選択的な阻害剤のデザインを目指す。

【方法・結果】GST タグを付加した human ERK1 を大腸菌で発現させ、GST アフィニティークロマトグラフィおよび陰イオン交換クロマトグラフィにより精製した。陰イオン交換クロマトグラフィにおいて ERK1 は 2 つのピークに分離したことから、両ピークにおける ERK1 のリン酸化状態をウエスタンブロッティングにより検討した。その結果、先に溶出されたピークの ERK1 は上流のキナーゼである MEK1 によってリン酸化されるが、後のピークの ERK1 はリン酸化を受けないことが明らかとなり、ピーク間でリン酸化状態が異なることが示唆された。そこで、それぞれのピークにつき結晶化を試したところ、後のピークのサンプルで結晶を得ることに成功した。Photon Factory BL6A で 2.4 Å 分解能の X 線回折データを収集した。空間群は $P2_1$ 、格子定数 $a = 62.38 \text{ \AA}$, $b = 91.54 \text{ \AA}$, $c = 64.93 \text{ \AA}$, $\beta = 91.50^\circ$, $Z = 4$ であった。初期位相は構造既知の ERK2 を元に組んだ ERK1 の構造を初期モデルとして分子置換法で求めた。本発表では、ERK1 と ERK2 の立体構造を比較し、阻害剤の選択性について議論する。