



病原キナーゼ及び関連蛋白質の活性制御機構の解明と創薬基盤の構築

木下 誉富

大阪府立大学大学院理学系研究科

キーワード：キナーゼ，創薬基盤，X線結晶構造解析

1. 背景と研究目的

本研究は創薬標的キナーゼ及び関連蛋白質の X 線結晶構造解析を行い、その活性制御機構を解明する。これら分子メカニズムを基盤として新しいタイプのシグナル伝達阻害化合物の創出を目指す。518 個種のヒトキナーゼはガンなどの重篤な疾患において活性の異常亢進が見られることから、その多くが創薬標的分子として注目される。キナーゼ阻害薬は取組み易さから ATP 拮抗型として開発されることが多いが、しばしば標的以外のキナーゼにも作用し副作用を呈する。これはキナーゼの ATP 結合部位が酷似しており、ATP 拮抗剤が完全な選択性を持つことは難しいことに起因する。これに対して、不活性保持機構（分子ブレーキ）、活性化促進機構（分子アクセル）など活性制御の構造スイッチはそれぞれ特徴的である。したがって、分子ブレーキを安定化する、あるいは分子アクセルを抑制する化合物は ATP 拮抗薬に比べて高選択性が期待される。本研究では CK2a1, CK2a2, FGFR3, MKK3, MKK5, MKK6, MKK7, Frk, HGF などについて X 線結晶構造解析を行い、その不活性保持機構及び活性化促進機構を明らかにし、活性を効率的に制御しうる高選択性化合物の創出基盤を構築する。

2. 実験内容

本年度は大阪府立大学で調製した MKK7 及び CK2a1 キナーゼの結晶を持ち込み、BL2S1 のゴニオメータヘッドに取り付けて単結晶 X 線回折測定を行った。0.2 mm 程度の結晶を装置にセットし、コールド窒素ガス吹きつけ型冷却装置に発生する窒素気流下（100K）で凍結しながら、波長 1.12Å の X 線を用いて、単結晶 X 線回折像を大面積の二次元検出器 (ADSC Q315r) により記録した。プログラム XDS により処理したところ、MKK7 については 2.3 Å 分解能、CK2a1 については 2.5 Å 分解能のデータセットを得た。Amore による初期位相の決定、coot による分子モデルの構築及び修正、及び Refmac5 により構造精密化を行った。

3. 結果および考察

CK2a1 では、差フーリエ電子密度から占有率が低いと推定され、化合物の結合様式を同定することはできなかった。一方、MKK7 では、化合物が ATP 結合部位に結合している様子が明らかとなった。この複合体について構造精密化を行っており、現在のところ $R/R_{free} = 19.4\%/28.4\%$ となっている。ここで得られる構造知見は、高選択性 MKK7 阻害剤の創出を促進する。

4. 参考文献

1. T. Kinoshita, T. Hashimoto, Y. Sogabe, H. Fukada, T. Matsumoto, M. Sawa, High-resolution structure discloses the potential for allosteric regulation of mitogen-activated protein kinase kinase 7, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **493**, 313-317 (2017).
2. T. Kinoshita, T. Nakaniwa, Y. Sekiguchi, Y. Sogabe, A. Sakurai, S. Nakamura, I. Nakanishi, Crystal structure of human CK2a at 1.06 Å resolution, *J. Synchrotron Rad.* **20**, 974-979 (2013).