



圧力などの外部刺激を利用した蛋白質結晶構造解析

永江 峰幸
東京薬科大学・薬学部

キーワード：準安定状態，圧力擾動，創薬

1. 背景と研究目的

Hippo 経路は、ショウジョウバエで同定された細胞増殖や細胞死を制御するシグナル伝達経路であり、組織の過成長および腫瘍形成に関与している。このシグナル伝達の下流に位置する転写因子 TEAD (transcriptional enhanced associate domain) は、発がん性転写活性化因子 YAP と核内で結合することによって活性化する。近年の研究により、悪性中皮腫、卵巣がん、胆管がん、グリオブラストーマ等のいくつかのがんにおいて、Hippo 経路の不活性および YAP の過剰発現による TEAD の異常な活性化が、がんの進行に関与することが示唆されている。そこで申請では、YAP-TEAD 間相互作用を阻害する新規癌治療薬の開発を目指し、TEAD の基底状態および準安定状態の結晶構造解析を試みる。

2. 実験内容

大腸菌遺伝子組換え発現系を用いて TEAD を生産し、精製・結晶化を行った。複数の条件で初期結晶を得ることに成功し、名古屋大学ビームライン 2S1 (BL2S1) によって X 線回折実験を行った。低温条件の回折データ収集を行うために、得られた結晶を 10%および 20%グリセロールを含む抗凍結液に浸し、液体窒素で急速凍結した。凍結した試料結晶を BL2S1 の試料ゴニオにマウントし、100 K の窒素ガスで冷却しながら、波長 1.12 Å の X 線を用いて回折実験を行った。

3. 結果および考察

合計 10 個の結晶について回折データを収集した。解析の結果、空間群は $P2_1$ で、格子定数は $a = 73.0$ Å、 $b = 81.6$ Å、 $c = 75.9$ Å、 $\beta = 96.8^\circ$ 程度であった。回折斑点の形状が割れている、もしくは形状が悪いなど、作成した結晶は全体的に結晶性が悪かったが、分解能 3 Å 程度のフルデータを収集することが出来た。より高分解能の構造解析のために、本実験の結果を鑑みて結晶化条件の最適化および抗凍結液の最適化を行う予定である。

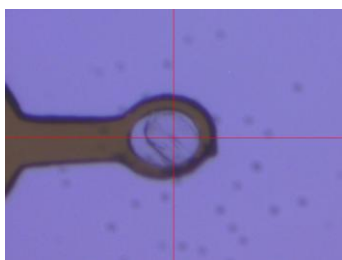


Fig. 1 回折実験に使用した結晶の写真

Table1 回折データの統計値

Space group	$P2_1$
Unit cell	
a, b, c (Å)	73.0, 81.6, 75.9
α, β, γ (°)	90.0, 96.8, 90.0
Wavelength (Å)	1.12
Resolution range (Å)	55.68 - 2.98 (3.03 - 2.98)
Completeness (%)	97.75 (88.27)
Multiplicity	3.37 (3.47)
I/sigma	3.58 (1.10)