

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	がん細胞の増殖と転移を促進するアダプタータンパク質の X 線結晶構造解析				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	菱木 麻美
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	橋本 博
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	菱木 麻美

講演題目	がん細胞の増殖と転移を促進するアダプタータンパク質の X 線結晶構造解析に向けた調製
------	--

研究の目的、成果及び今後の展望

細胞内シグナル伝達経路において、増殖、分化、がん化に深く関与するキナーゼなどの酵素の活性化は、アダプタータンパク質により緻密に制御されている。細胞のがん化や免疫疾患をはじめとする多くの疾患の発症は、酵素の機能異常のみならず、アダプタータンパク質による制御が深く関係している。本研究対象の STAP2 (signal-transducing adaptor protein 2) は、全長 403 アミノ酸残基で構成され、PH ドメイン、SH2 ドメイン、プロリンリッチ (PR) 領域からなるマルチドメインタンパク質である。STAP2 は、さまざまな細胞内のシグナルを制御するアダプタータンパク質であり、黒色腫、乳がん、前立腺がん、白血病がんなどの増殖と転移を促進する。一例として、N 末端領域に存在する PH ドメインを介して乳がん特異的チロシンキナーゼの BRK (breast tumor kinase) と、C 末端領域に存在する YxxQ モチーフを介して STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) と相互作用する。STAP2 は BRK と STAT3 との間の結合を介在するアダプタータンパク質として機能し、BRK による STAT3 の活性化を誘導することで、がん細胞の増殖を促進する。これまでに、STAP2 の BRK 相互作用領域や、STAT3 相互作用領域の構造生物学的知見は明らかとなっておらず、これらを解明することはトリプルネガティブ乳がんをはじめとした乳がんの新規治療法の開発につながると考えられる。本研究は、STAP2 単体の X 線結晶構造解析、STAP2 と STAT3 の複合体での X 線結晶構造解析と相互作用解析から、STAP2 が細胞内のシグナル伝達を制御するアダプタータンパク質としてどのように機能するか、その相互作用メカニズムを明らかにすることを目的とする。そこで今年度は、STAP2 の試料調製法の検討と結晶化を行った。

STAP2 の発現は、STAT3 との相互作用に関与する YxxQ モチーフを含む 3 種類の領域に、GST タグ、His タグ、Trx-His タグを融合した計 9 種類の発現ベクターを作製した。大腸菌 BL21 (DE3) を用いて STAP2 の発現を小スケールで調べ、発現と可溶化が良好な条件で大量培養を行い、アフィニティークラム、陽イオン交換カラム、ゲルろ過カラムを用いて高純度の精製方法を確立することに成功した。限外ろ過膜を用いて濃縮し、20℃でシッティングドロップ蒸気拡散法による結晶化スクリーニングを行ったが、現在までに結晶は得られていない。今後は、STAP2 の別の発現領域や精製方法を検討する。また、STAT3 との複合体での構造解析を目指し、安定な複合体を調製するための方法を検討する予定である。