

研究区分	教員特別研究推進（独創・先進的研究）
------	--------------------

研 究 テーマ	新規乳がん治療を目指した転写調節機構の解明				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	菱木 麻美
	研究協力者	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
乳がん特異的チロシンキナーゼの活性化機構の解明に向けた試料調製と結晶化
研究の目的、成果及び今後の展望 乳がんは、女性の罹患率と死亡率が最も高く、40～60歳代の患者が多い。乳がん症例の10～20%を占めるトリプルネガティブ乳がん（TNBC）は、エストロゲン受容体（ER）、プロゲステロン受容体（PR）、ヒト上皮成長因子受容体2型（HER2）の発現がいずれも陰性であり、治療の選択肢が限定されることから、乳がんの中でも特に治療が困難なタイプの一つである。TNBCは、特に若年層の患者が多いことに加え、進行が早く再発率が高いため、他の乳がんと比べて予後が悪いことが知られている。TNBCの治療の軸は化学療法であり、治療の過程で身体的・精神的な負担が大きく、TNBC患者のQOLの低下が懸念されることから、新薬の開発を含む治療法の多様化が期待される。 STAP2は、転写因子STAT3と、それを活性化する乳がん特異的チロシンキナーゼBRKのアダプタータンパク質として機能し、STAT3の活性化はがん細胞の増殖を亢進させる。BRKはTNBCの重要なターゲットタンパク質の一つであることが報告されており、BRKによるSTAT3の活性化には、両者がSTAP2と相互作用することが必須である。本研究では、STAP2とBRKの相互作用に着目し、STAP2のアダプタータンパク質としての相互作用を明らかにすることを目的に、STAP2とBRKの試料調製に着手した。 STAP2はPHドメイン、SH2ドメイン、プロリンリッチ（PR）領域で構成されるタンパク質であり、PHドメインを介してBRKと相互作用することが報告されている。そこで、STAP2のPHドメイン（STAP2^{PH}）の調製方法を検討するため、STAP2^{PH}を組換えタンパク質として大腸菌で発現させ、複数のカラムクロマトグラフィーにより精製した。精製途中から目的タンパク質に分解が見られたため、AlphaFoldを用いた構造予測を行い、N末端側のループ領域を欠損させた発現系を作製した。STAP2^{PH}と同様の方法で精製し、高純度の目的タンパク質（STAP2^{PHΔN}）を得ることに成功した。市販のスクリーニングキットを用いてSTAP2^{PHΔN}の結晶化条件を探索したが、現在までに結晶は得られていない。 BRKは、SH3ドメイン、SH2ドメイン、キナーゼドメインで構成されるタンパク質であり、SH2ドメインでSTAP2と相互作用する。そこでBRKのSH3ドメインとSH2ドメインを含む領域（BRK^{SH3-SH2}）をGST融合タンパク質として大腸菌で発現させ、可溶性画分に回収できることを確認した。次に、大腸菌で発現させたGST-BRK^{SH3-SH2}と精製したSTAP2^{PHΔN}の相互作用をGSTプルダウンアッセイにより確認した。今後は、STAP2^{PHΔN}の結晶化条件を引き続き探索するとともに、BRK^{SH3-SH2}またはBRK^{SH2}を高純度に精製し、STAP2^{PHΔN}との複合体での構造解析と相互作用の解明を進める予定である。