

実験室系装置での結晶スクリーニング

はじめに

放射光での効率の良いデータ測定には、あらかじめ実験室系X線装置での結晶の凍結条件の決定や、結晶性のチェックが有効です。後者は特に結晶のスクリーニングと呼ばれています。

測定・解析例

MAP2K4はストレスに応答するMAPシグナル伝達経路において、中心的な役割を果たすdual選択性キナーゼです。種々の癌において活性が異常亢進していることから、抗ガン剤の標的分子として注目されているタンパク質です。MAP2K4の結晶は板状で厚みが非常に薄く、十分な強度を得るために最終的な回折データは放射光を用いて測定する必要がありますが、FR-X / R-AXIS VIIの組み合わせを用いて結晶のスクリーニングを行うことで、放射光での限られた時間内でも効率よくデータ測定を行うことができました。その結果、基質ペプチドの有無に対応する、2つの状態のMAP2K4の構造が明らかになりました⁽¹⁾(図1、図2および図3)。

MAP2K4はシグナルがOFFの時、すなわちリン酸化されていない時に、基質ペプチドが反応部位とは異なるアロステリック部位に結合することが引き金となって自己阻害状態となり、基質のリン酸化によるシグナル活性化を起こさないという制御機構が明らかとなりました。

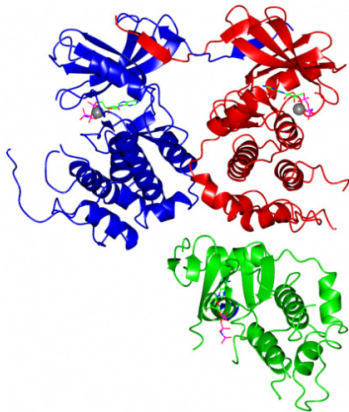


図1 MAP2K4・AMP-PNP 複合体



図2 MAP2K4・AMP-PNP・基質ペプチド複合体

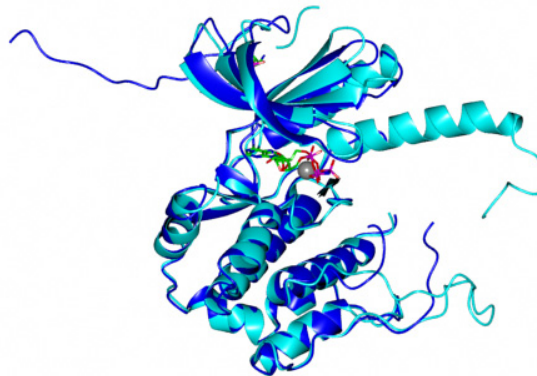


図3 AP2K4・AMP-PNP複合体とMAP2K4・AMP-PNP・基質ペプチド複合体の重ね合わせ

試料ご提供: 大阪府立大学 理学部 生物科学科 多田俊治教授・木下誉富准教授

本研究は、大阪府立大学とファルマアクセス株式会社との共同研究の一部です。

参考文献: (1) T. Matsumoto, et al, *Biochem Biophys Res Commun.*, **400**, 369-373. (2010)

推奨装置

- ▶ 超高輝度X線発生装置 FR-X
- ▶ 高輝度X線発生装置 MicroMax007HFM
- ▶ 高速イメージングプレートX線検出器 R-AXIS VII
- ▶ イメージングプレートX線検出器 R-AXIS IV

(K1125ja)