

(様式 1-2)

提出日：2020 年 月 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	チロシンキナーゼの活性制御ペプチドの創製		
研究代表者	氏名	小橋川 敬博	
	所属機関名・部局名	熊本大学・生命科学研究部（薬）	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	藤原 敏道		
<p>受容体型チロシンキナーゼは、細胞外ドメインへのリガンド分子の結合を契機としてホモ 2 量体を形成する。ホモ 2 量体形成を介して、細胞質領域にあるキナーゼドメイン同士が近接し、キナーゼドメイン内の活性化ループにあるチロシン残基を互いにリン酸化し合うことで活性化される。この過程において、キナーゼドメイン間で過渡的に 2 量体構造を形成することがキナーゼドメイン自身のリン酸化において必須であることが明らかにされつつある。これまでに FGFR1 の活性化ループのリン酸化に関わるキナーゼドメイン間 2 量体構造を解析し、① リン酸化部位周辺だけではなく、広い相互作用面を有すること、② 塩橋等の特異的な相互作用が形成されており、特異的かつ広い相互作用面を用いて基質となるキナーゼを識別していること、③ 既知の構造との比較からキナーゼドメイン間 2 量体構造がキナーゼ間で異なることを明らかにしてきた (Kobashigawa <i>et al.</i>, 2015)。本研究の目的は、キナーゼドメイン間 2 量体構造に作用し、キナーゼを活性化もしくは阻害するペプチドの創製を目的としている。</p> <p>これまでに、FGFR1-FGFR1 の間のキナーゼドメイン間 2 量体構造の相互作用面および、FGFR1-FGFR4 の間のキナーゼドメイン間 2 量体構造の相互作用面の特定に成功している。FGFR1 のキナーゼドメイン間相互作用面を模倣したペプチドを作製し、FGFR1 に結合すること、さらには、活性化ループのリン酸化を促進するとの結果を得ている。そこで、この模倣ペプチド添加による FGFR の構造変化に関する情報の取得を試みることにした。</p> <p>チロシンキナーゼは柔軟な酵素であり、複数の構造状態を取り得る。模倣ペプチド添加による FGFR1 の構造状態に関する知見を得ることを目的として、<sup>19</sup>F-NMR 測定へ向けた発現系の構築を行った。培養条件等の検討を行い、FGFR1 を得た。得られた FGFR1 について、<sup>19</sup>F-NMR 測定を行った。その結果、4 個のピークを確認した。そのうち、1 個については、積分強度より、2 残基分であると考えられた。FGFR1 のキナーゼドメインは 5 個の Trp を有することより、全てのピークが観測されていると考えられる。今後、構造状態に関する情報の取得を進める。</p>			