

## 構造からデザインするチロシンキナーゼアフィニティプローブの開発

奥村英夫

プロテインキナーゼは細胞内シグナル伝達系において重要な役割を果たしており、その数はヒトにおいておよそ 500 種類に及ぶ。キナーゼの異常は、癌をはじめとした疾患の原因になることも多く、シグナル過程のなかで果たしている役割を特定することが重要であると考えられる。キナーゼ活性の制御ツールとしての低分子有機化合物は即効性が高く、効果が量依存的であるために強力ではあるが、キナーゼが持つ構造の共通性に由来する選択性の低さなどの問題点もある。今回の論文では、細胞内の活性状態のキナーゼを評価するために、チロシンキナーゼに変異を加えることで阻害剤に対して特異性を持たせ、これに選択的に結合する蛍光性アフィニティプローブを開発し、活性状態のキナーゼ量の定量化を行ったので報告する。

### 紹介論文

Structure-guided development of affinity probes for tyrosine kinases using chemical genetics

Jimmy A Blair, Daniel Rauh, Charles Kung, Cai-Hong Yun, Qi-Wen Fan, Haridas Rode, Chao Zhang, Michael J Eck, William A Weiss and Kevan M Shokat

(Department of Chemistry, University of California, USA ほか)

Nat. Chem. Biol., 3, 229-238 (2007)

### 要旨

シグナル伝達経路の重要な構成要素として、プロテインキナーゼは低分子阻害剤による細胞シグナリングの制御において魅力的な標的である。我々は構造を基盤として不可逆なキナーゼ阻害剤 6-acrylamido-4-anilinoquinazoline を開発した。この阻害剤は野生型キナーゼに見られない 2 つの選択性要素（求電標的となるシステイン残基およびゲートキーパーグリシン）をもつよう合理的に設計されたキナーゼを強力かつ選択的に標的とする。上皮成長因子受容体 (EGFR) および変異 c-Src と二つの不可逆性キアズリン阻害剤の共結晶構造により阻害剤と標的システイン残基 (Cys797:EGFR, Cys345:c-Src) の共有結合が示された。キナーゼ構造内における可逆的なキアズリン阻害剤の配置とは異なり、キアズリン骨格が新しい共有結合にあうような位置をとっていた。これらの構造に基づき、細胞シグナリングに必要なキナーゼのフラクシオンを調べるために蛍光性 6-acrylamido-4-anilinoquinazoline アフィニティプローブを開発した。またこれを用いて EGF による EGFR 刺激とその下流出力 (Akt, Erk1, Erk2) の関係を定量化した。