

スフィンゴ脂質リン酸化酵素群の結晶構造解析 Crystal Structure Analyses of Sphingolipid Kinases

梅田知伸¹, 日下部吉男¹, 阪本泰光², 北川康行¹, 田中信忠^{1,*}

¹昭和大学薬学部, 〒142-8555 東京都品川区旗の台 1-5-8

²岩手医科大学薬学部, 〒028-3694 岩手県矢巾町西徳田 2-1-1

Tomonobu Umeda¹, Yoshio Kusakabe¹, Yasumitsu Sakamoto², Yasuyuki Kitagawa¹
and Nobutada Tanaka^{1,*}

¹School of Pharmacy, Showa University, 1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo, 142-8555, Japan

²School of Pharmacy, Iwate Medical University, 2-1-1 Nishitokuta, Yahaba, Iwate, 028-3694, Japan

1 はじめに

脂質メディエーターは局所で一過性に産生され、その受容体に作用してシグナルを伝え、速やかに分解される脂溶性物質である。プロスタグランジンやロイコトリエン等のエイコサノイド類に関する研究は半世紀以上の歴史がある。一方、リゾリン脂質に関する研究は歴史が浅く、近年急速に発展している。代表的リゾリン脂質として、リゾホスファチジン酸 (lysophosphatidic acid: LPA) とスフィンゴシン 1 リン酸 (sphingosine-1-phosphate: S1P) が挙げられる。これまで、LPA には 7 種、S1P には 5 種の受容体が同定され、それらの大部分が GPCR である。LPA は、lysophosphatidylcholine (LPC) を基質として autotaxin (ATX) により産生され、S1P は、sphingosine (Sph) を基質として sphingosine kinase 1 あるいは 2 (SphK1, SphK2) により産生される。LPA 受容体を介したシグナルが癌の浸潤・転移などに関与し、S1P 受容体を介したシグナルは血管新生などに関与する (図 1)。従って、これらの受容体アンタゴニストやリゾリン脂質産生酵素阻害剤は、各種疾病に対する治療薬候補として注目されている。

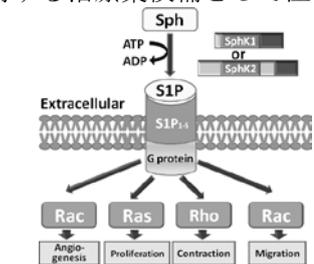


図 1 : S1P 産生と生理機能

LPA 産生酵素である ATX の立体構造は、2011 年に東京大学の濡木理教授らのグループから *Nature SMB* 誌に報告された。しかし、S1P 産生酵素である SphK1, SphK2 の立体構造は報告されていなかった。そこで我々は、S1P 産生酵素であるヒト SphK1, ヒト SphK2 の立体構造解析に取り組んだ。

2 実験

ヒト SphK1 に関しては大腸菌 BL21 株、pET101/D-TOPO ベクターを用いて大量発現させ、3 段階のクロマトグラフィーにより精製し、ATP および基類似体の存在/非存在下で結晶化条件探索を行った。ヒト SphK2 に関しては、大腸菌 BL21 株、pCold II ベクターを用いて大量発現させ、3 段階のクロマトグラフィーにより精製し、ATP および基類似体の存在/非存在下で結晶化条件探索を行った。

3 結果および考察

ヒト SphK1 に関しては、ポリエチレングリコールなどを沈澱剤として、0.02 x 0.08 x 0.5 mm³ 程度の薄い柱状結晶を得ることができた (図 2)。この結晶を用いて X 線回折実験を行ったが、10 Å 以下の低角領域にしか反射が観測されなかった。その後結晶化条件の改良を試みているが、高角まで反射を生じる結晶は未だ得られていない。ヒト SphK2 に関しては、数百種類の条件下での結晶化を試みたが、未だ結晶は得られていない。



図 2 : ヒト SphK1 の柱状結晶

4 まとめ

ヒト SphK1 およびヒト SphK2 の立体構造解析に取り組んだが、未だ立体構造決定に至っていない。昨年、米国アムジェン社のグループによりヒト SphK1 の立体構造解析が報告されてしまった[1]。

参考文献

[1] Z. Wang *et al.*, *Structure* 7, 798 (2013).

* ntanaka@pharm.showa-u.ac.jp