

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		シグナル伝達における分子基盤研究:MEK1-ERK1-MP1 複合体の相互作用解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Structural basis for molecular recognition of the MEK1-ERK1-MP1 complex			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) キノシタ	名) タカヨシ	研究期間 B	2008 ~ 2009年
	漢字 CB	木 下	誉 富	報告年度 YR	2010 年
	ローマ字 CZ	Kinoshita	Takayoshi	研究機関名	大阪府立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	木下誉富 大阪府立大学大学院理学系研究科・准教授				
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)					
<p>シグナル伝達は、単独分子レベルでの解析だけでは解釈が難しい状況となっている。蛋白質-蛋白質複合体、あるいは超分子複合体の形成と局在化がシグナル伝達の特異性を説明するカギとなる。研究代表者は、Raf/MEK/ERKシグナル伝達経路の選択的制御機構(ERK1経路とERK2経路)を構造生物学的に解明することを最終目的としている。</p> <p>ERK1は核内において単体で、細胞質中ではMEK1との2者複合体、細胞膜内膜では超分子複合体として存在している。特に超分子複合体ではMP1との結合がERK1/2の選択性を決定している。本研究では、それぞれの状態のERK1についてX線構造解析を行い、ERKの局在をコントロールしているシグナル伝達の3段階の分子スイッチメカニズムを解明することを目指した。</p> <p>ERK1単体の低活性体について構造解析に成功した(Biochem. Biophys. Res. Commun. 377 (2008), 1123-1127)。次にMEK1との2者複合体の調製を試みた。ERK1は不活性体、MEK1は活性体の組み合わせが最も親和性が高いと推定されるが、これまでに調製したサンプルでは最適なリン酸化状態を実現できておらず、複合体の形成を確認することができていない。ERK1のリン酸化制御はMKP3を作用させることにより達成される。一方、MEK1は活性化に必須となるリン酸化部位Ser218, Ser222の他に、数ヶ所の負方向の制御がかかるリン酸化部位が存在している。現状サンプルでは、負方向制御部位のいくつかはリン酸化されているためにMEK1のERK1への親和性が不十分であった可能性が高い。現在、ERK1及びMEK1のリン酸化状態を制御できる発現系を構築し、X線構造解析に供与できる複合体サンプルの大量取得を試みている。</p>					
キーワード FA	ERK	シグナル伝達	X線構造解析	局在	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Crystal structure of human mono-phosphorylated ERK1 at Tyr204							
	著者名 ^{GA}	Takayoshi Kinoshita, et al	雑誌名 ^{GC}	Biochemical and Biophysical Research Communications					
	ページ ^{GF}	1123 ~ 1127	発行年 ^{GE}	2	0	0	8	巻号 ^{GD}	377
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Signal transduction is hard to study at molecular level without understanding the formation of protein-protein interactions and/or super-molecular-assembly, and their localization in the cell. We planed to clarify the alternative mechanism between ERK1 and ERK2 in the Raf/MEK/ERK signal transductions with a structural-biology view.

ERK1 localizes as a monomer in nuclear, as a hetero-dimer with MEK1 in cytosol, and as a super-molecular-assembly including MEK1 and MP1 around the cell membrane. Crystal structures of these states would allow us to understand the 3-step molecular switches controlling the ERK1 localization.

First, the structure of the ERK1 monomer has been analyzed (Biochem. Biophys. Res. Commun. 377 (2008), 1123-1127). Next, we tried to prepare the hetero-dimer of ERK1 and MEK1. The combination of the inactive ERK1 and the active MEK1 is likely to be most suitable for the stable complex formation. However, the hetero-dimer formation was unidentified because our preparation procedure did not render the suitable phosphorylation state of MEK1. Therefore, we are now constructing the gene system, being able to controlling the phosphorylation state of MEK1.