

気道炎症における細胞質型ホスホリパーゼA2の役割とそのリン酸化部位の決定

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-11-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Myou, Shigeharu メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00063104

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



気道炎症における細胞質型ホスホリパーゼA2の役割とそのリン酸化部位の決定

Research Project

All▼

Project/Area Number

16590742

Research Category

Grant-in-Aid for Scientific Research (C)

Allocation Type

Single-year Grants

Section

一般

Research Field

Respiratory organ internal medicine

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

明 茂治 金沢大, 医学(系)研究科(研究院), 助手 (20313645)

Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)

藤村 政樹 金沢大学, 医学系研究科, 助教授 (90190066)

Project Period (FY)

2004 – 2005

Project Status

Completed (Fiscal Year 2005)

Budget Amount *help

¥3,600,000 (Direct Cost: ¥3,600,000)
Fiscal Year 2005: ¥1,500,000 (Direct Cost: ¥1,500,000)
Fiscal Year 2004: ¥2,100,000 (Direct Cost: ¥2,100,000)

Keywords

細胞質型ホスホリパーゼA_2 / 気管支喘息 / TAT融合蛋白 / マウス

Research Abstract

細胞質型ホスホリパーゼA₂(cPLA₂)の522番目のアミノ酸までの蛋白は優位抑制型cPLA₂(dn-cPLA₂)として作用することが報告されていることから,dn-cPLA₂のcDNAをcPLA₂のcDNAを含むpCRII-cPLA₂からPCRにて増幅した後,TAT発現プラスミッドであるpTATのマルチクローニングサイトに挿入し,pTAT-dn-cPLA₂を作製した.また,同様にcPLA₂のcDNAをPCRによって増幅した後にpTATに挿入し,pTAT-cPLA₂を作製した.さらに,site-directed mutagenesisによって,cPLA₂のSer⁵⁰⁵,Ser⁵¹⁵およびSer⁷²⁷をアラニンに置換させたプラスミッド(それぞれ,pTAT-S505A-cPLA₂,pTAT-S515A-cPLA₂およびpTAT-S727A-cPLA₂)を作製した.プラスミッドをBL21大腸菌に導入し培養した後に,buffer Z(8 M urea,20mM HEPES,pH8.0,100mM NaCl)を溶媒としてソニケーションを行い,遠心の後に上清を回収しNi-NTAカラムに通した.イミダゾールにて抽出を行い,ポアサイズが10kDaの透析膜(10,000MWCO Slide-A-Lyzer[®]【○!R】>)を用いて,ureaとイミダゾールの除去を行った.また,コントロール蛋白として,特別な機能を有しないとされる蛍光色素であるgreen fluorescent protein(GFP)とTATの融合蛋白(TAT-GFP)を作製した.

Report (1 results)

2004 Annual Research Report

Research Products (3 results)

All 2004

All Journal Article

[Journal Article] Importance of the angiotensin type 1 receptor in angiotensin II-induced bronchoconstriction and bronchial hyperresponsiveness in the guinea pig 2004 ▼

[Journal Article] Additive blockade of beta 2-integrin adhesion of eosinophils by salmeterol and fluticasone propionate 2004 ▼

[Journal Article] β₂-integrin adhesion caused by eotaxin but not IL-5 is blocked by PDE-4 inhibition and β₂-adrenoceptor activation in human eosinophils 2004 ▼

URL:

Published: 2004-03-31 Modified: 2016-04-21