

バイオターゲティング素子合成に適した活性制御型 ホスホリパーゼDの創製

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-11-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Ogino, Chiaki メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00064439

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



バイオターゲティング素子合成に適した活性制御型ホスホリパーゼDの創製

Research Project

All▼

Project/Area Number

12750699

Research Category

Grant-in-Aid for Encouragement of Young Scientists (A)

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

生物・生体工学

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

荻野 千秋 金沢大学, 自然科学研究科, 助手 (00313693)

Project Period (FY)

2000 – 2001

Project Status

Completed (Fiscal Year 2001)

Budget Amount *help

¥2,400,000 (Direct Cost: ¥2,400,000)

Fiscal Year 2001: ¥900,000 (Direct Cost: ¥900,000)

Fiscal Year 2000: ¥1,500,000 (Direct Cost: ¥1,500,000)

Keywords

変異体解析 / リン酸基転移反応 / ホスホリパーゼD / リン脂質

Research Abstract

昨年の研究報告により、ヒスチジン(H)、リジン(K)、アスパラギン酸(D)から構成されるその保存領域はHKDモチーフ(HxKxxxD)と呼ばれ、PLD酵素活性には必須であることが明らかとなっている。またそれぞれのHKDモチーフの下流にはグリシン・グリシン(GG)モチーフとグリシン・セリン(GS)モチーフが存在することも明らかとなっている。本年度はHKDモチーフとGG-GSモチーフに関して部位特異的アミノ酸置換を行い、触媒機能変換に関して解析を行う。最後にタンパク質立体構造予測ソフトを用い、野生型PLD酵素と変異導入PLD酵素の立体構造変化について予測を行い、触媒作用の変化と立体構造変化の相関関係について解析および考察を行う。

点変異導入による部位特異的アミノ酸導入の影響の解析から、触媒活性においてHKDモチーフ内のヒスチジン、リジン、アスパラギン酸残基は必須であることが明らかとなった。また、GG-GSモチーフに変異を導入したところ、いくつかの変異体に関してリン酸基転移反応活性が野生型と比較して10倍以上に向上した。これらの変異体については今後立体構造を実際に結晶解析を行って検討しなければならないが、現段階ではGG-GSモチーフに変異を導入することで何らかの触媒作用変化がおきたものと考えられる。さらに、486番目のチロシンに変異を導入したところ、HKDモチーフ同様活性が1/3以下に減少したことから、このチロシン残基もリン酸基転移反応活性に重要な影響を及ぼしているということがあきらかになった。また触媒活性が向上したGG-GSモチーフ変異体について、タンパク質立体構造予測ソフトを使用して立体構造を解析したところ、GG-GSモチーフに変異を導入することによりある特定の構造変化を示す1つのループ構造が確認された。このことから変異導入によるループ構造の変化が、触媒活性に影響を及ぼしているものだと考えられる。

Report (2 results)

2001 Annual Research Report

2000 Annual Research Report

Research Products (3 results)

All Other

All Publications

[Publications] C.Ogino et al.: "Identification of novel membrane-bound phospholipase D from Streptovercillium cinnamoneum"Biochimica et Biophysica Acta. 1530. 23-31 (2001) ▼

[Publications] C.Ogino et al.: "Improvement of transphosphatidylation reaction model of phospholipase D from Streptovercillum cinnamoneum"Biochemical Engineering Journal. (In press). ▼

[Publications] Chiaki Ogino et al.: "Identification of novel membrane-bound phospholipase D from Streptovercillium cinnamoneum, possessing only hydrolytic activity"Biochimica et Biophysica Acta. 1530. 23-31 (2001) ▼

URL:

https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-12750699/

Published: 2000-03-31 Modified: 2016-04-21