

提出日：2019年 4月 25日

平成 30 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	昆虫の農薬代謝酵素の構造解析		
研究代表者	氏名	山本幸治	
	所属機関名・部局名	九州大学・大学院農学研究院	
	職名	助教	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	中川敦史教授		
<p>農薬の解毒代謝に関与する代表的な酵素としてグルタチオン転移酵素 (GST) が知られている。GST は、生体外異物にグルタチオンを抱合し、異物の体外への排出を促進する農薬代謝酵素である。これまでに申請者は、カイコより 7 種 GST をクローニングし、酵素発現系ならびに精製系、そして GST アッセイ系をすでに確立している。さらに、4 種の GST の X 線結晶構造解析に成功している。また、カイコ unclassified GST2 (bmGSTu2) については、頻用農薬である有機リン剤・ダイアジンを基質としてグルタチオン抱合反応を触媒することを明らかにしている。平成 28~29 年度において、bmGSTu2 の X 線結晶構造を実施した。平成 30 年度においては、当該農薬代謝酵素である bmGSTu2 の活性触媒部位を X 線結晶構造、部位特異的アミノ酸置換法そして酵素反応速度論的解析法を用いて調査することを目的としている。平成 30 年度の研究成果の概要は以下の通りである。</p> <p>(bmGSTu2 の electron-sharing network)</p> <p>平成 29 年度に解析した bmGSTu2 結晶構造をもとに、活性に重要な部分である electron-sharing network の位置を推定した。すでに明らかになっている GST 構造を鋳型として比較したところ、bmGSTu2 分子中の Glu66、Ser67、Asn68、Asn102、Pro162、Ser166 の各アミノ酸残基により electron-sharing network は構成されていると推定された。</p> <p>次にこれらのアミノ酸残基を部位特異的アミノ酸置換法により Ala へ変換した。その後、野生型 bmGSTu2 と同様の手法により大腸菌による組換えタンパク質の発現、そして精製を行なった。GST 頻用基質である 1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼンに対する活性を測定したところ、いずれの変異体においても活性の低下が観察された。以上、これらのアミノ酸残基は bmGSTu2 活性に重要であることがわかった。</p> <p>(bmGSTu2 の結晶化)</p> <p>アポ-bmGSTu2 の結晶化はすでに終了している。グルタチオン-bmGSTu2、基質-bmGSTu2 そしてグルタチオン-基質-bmGSTu2 の複合体結晶については、引き続き作製中である。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：令和元年 5 月 17 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp