

论文

W544F定点突变提高苏云金杆菌Cry1Ac蛋白的稳定性

王发祥¹, 夏立秋^{1,2}, 丁学知¹, 赵新民¹, 单世平¹, 莫湘涛¹, 张友明¹, 喻子牛²

1. 湖南师范大学生命科学学院, 微生物分子生物学湖南省重点实验室, 长沙 410081;
2. 华中农业大学生命科学与技术学院, 农业微生物国家重点实验室, 武汉 430070

摘要:

W544是Cry1Ac蛋白上独特于其它Cry类蛋白的一个氨基酸, 它与F578和F604一起组成一个“螺旋桨状”的疏水簇, 通过疏水相互作用维持蛋白的三维结构稳定. 本研究通过定点突变将W544保守地替换为苯丙氨酸, SDS-PAGE分析结果表明其纯化的原毒素对紫外照射、胰蛋白酶处理和室温存贮的稳定性相对于野生Cry1Ac都有一定程度的提高; 经原子力显微镜观察, 发现W544F产生的晶体两个顶点间的垂直距离比野生型Cry1Ac约长0.6 μm, 且晶体表面不及野生型光滑; 此外, W544F与野生Cry1Ac的杀虫活性相似, 但经过紫外光照射9 h后, 其保留的杀虫活性比野生型高4倍以上. W544F突变较好地解决了Cry1Ac毒素蛋白田间应用不持久的问题, 具有重要的应用价值.

关键词: Cry1Ac蛋白 定点突变 色氨酸 苯丙氨酸 稳定性

Stability Improvement of the Cry1Ac Protein by Site-directed Mutagenesis of W544F

WANG Fa-Xiang¹, XIA Li-Qiu^{1,2*}, DING Xue-Zhi¹, ZHAO Xin-Min¹, SHAN Shi-Ping¹, MO Xiang-Tao¹, ZHANG You-Ming¹, YU Zi-Niu²

1. Key Laboratory for Molecular Biology of Microorganism of Hunan Province, College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081, China;
2. National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract:

One major problem in the field applications of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins is that their exposure to sunlight can bring about reduced bioactivity, mainly because of the most vulnerable indole ring of tryptophan(W) residue. W544 is the unique tryptophan in the domain III of Cry1Ac toxin, which forms part of a buried hydrophobic cluster involving the conserved F578 and F604, and are organized in a “propeller-like” pattern, playing a clear structural role in protein stability. In this study, W544 was conservatively substituted with phenylalanine(F) to determine whether its stability was affected in the resulting mutant. Comparative analysis results by SDS-PAGE show that the protoxin of W544F was more stable than the wild-type Cry1Ac, when treated with ultraviolet irradiation, trypsin and preserved at room temperature. The distance between two vertex of crystals of W544F were 0.6 μm longer and unsmooth when compared with that of the wild-type Cry1Ac under an atomic force microscope. Additionally the mutation W544F had similar insecticidal activity to wild-type Cry1Ac, but when treated with ultraviolet irradiation for 9 h, it still maintained more than 4 times higher toxicity against *Helicoverpa armigera* than the wild-type Cry1Ac. In conclusion, the W544F mutation can enhance the stability of the Cry1Ac protein and may contribute to solving the major problem of the field applications of Cry1Ac toxin.

扩展功能

本文信息

Supporting info

PDF(499KB)

[HTML全文](OKB)

参考文献[PDF]

参考文献

服务与反馈

把本文推荐给朋友

加入我的书架

加入引用管理器

引用本文

Email Alert

文章反馈

浏览反馈信息

本文关键词相关文章

▶ Cry1Ac蛋白

▶ 定点突变

▶ 色氨酸

▶ 苯丙氨酸

▶ 稳定性

本文作者相关文章

▶ 王发祥

▶ 夏立秋

▶ 丁学知

▶ 赵新民

▶ 单世平

▶ 莫湘涛

▶ 张友明

▶ 喻子牛

▶ 王发祥

▶ 夏立秋

▶ 丁学知

▶ 赵新民

▶ 单世平

▶ 莫湘涛

▶ 张友明

▶ 喻子牛

PubMed

Article by

Article by

Article by

Article by

Article by

Article by

Article by

Keywords:

Cry1Ac protein Site-directed mutagenesis Tryptophan Phenylalanine Stability

收稿日期 2008-02-28 修回日期 1900-01-01 网络版发布日期

DOI:

基金项目:

通讯作者: 夏立秋

作者简介:

参考文献:

1. Schnepf E., Crickmore N., Van Rie J., *et al.*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. [J], 1998, 62: 775—806
2. WU Zhi-Ping(吴志平), XU Bu-Jin(徐步进), SHU Qing-Yao(舒庆尧), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2002, 23(6): 1081—1085
3. Puzstai M., Fast P., Gringorten L., *et al.*. Biochem. J. [J], 1991, 273: 43—47
4. Padilla C., Pardo-Lopez L., de la Riva G., *et al.*. Appl. Environ. Microbiol. [J], 2006, 72(1): 901—907
5. Nishimoto T., Yoshisue H., Ihara K., *et al.*. FEBS Lett. [J], 1994, 348(3): 249—254
6. Arantes O., Lereclus D. Gene [J], 1991, 108(1): 115—119
7. Sun Y., Wei W., Ding X., *et al.*. Arch. Microbiol. [J], 2007, 188(4): 327—332
8. Liao C., Heckel D. G., Akhurst R. J. Invertebr. Pathol. [J], 2002, 80(1): 55—63
9. Bradford M. M. Anal. Biochem. [J], 1976, 72: 248—254
10. Liu X. S., Dean D. H. Protein Eng. Des. Sel. [J], 2006, 19(3): 107—111

本刊中的类似文章

1. 陈洁, 李惟, 喻凌, 王丽萍. 合成Exendin-4的体外人血浆稳定性研究[J]. 高等学校化学学报, 2007,28(4): 683-685
2. 郑燕玉, 胡炳环, 林金火. 用混合乳化剂UE20/PVA制备的水包油型生漆乳液的性能[J]. 高等学校化学学报, 2008,29(7): 1466-1472
3. 刘钰, 路福绥, 陈甜甜, 高翠丽, 朱恒营, 赵辉. 不同金属反离子对含高效氯氟氰菊酯微乳液形成规律及其稳定性的研究[J]. 高等学校化学学报, 2007,28(5): 909-912
4. 梁远军, 何军林, 徐亮, 张迪, 刘克良. 烷基修饰寡聚脱氧核苷酸磷酸残基的化学合成及稳定性研究[J]. 高等学校化学学报, 2007,28(3): 467-471
5. 张贻亮, 杨志忠. 异构现象与最大硬度原理[J]. 高等学校化学学报, 2006,27(10): 1941-1944
6. 刘仙, 高国粉, 杨丽, 何潇潇, 孟哲, 滕利荣. 菊粉酶中色氨酸残基的化学修饰及其荧光光谱[J]. 高等学校化学学报, 2007,28(1): 103-105
7. 高波, 朱广山, 付学奇, 滕利荣, 陈静, 王春艳, 裘式纶. 介孔材料的修饰及固定青霉素酰化酶的稳定性研究[J]. 高等学校化学学报, 2006,27(10): 1823-1826
8. 毕云枫, 解桂秋, 高仁钧, 鲁静, 曹淑桂. 超嗜热酯酶APE1547中特殊位置氢键对酶活力和热稳定性的影响[J]. 高等学校化学学报, 2007,28(10): 1914-1916
9. 王佩, 张艳, 杨振军, 张亮仁, 张礼和. 环腺苷二磷酸核糖类似物的合成、表征及性质[J]. 高等学校化学学报, 2008,29(2): 314-318
10. 宋相伟, 王雪丽, 熊新辉, 牛建丽, 王仕擎, 王丽萍, 李惟. Exendin-4类似物的生物活性及结构[J]. 高等学校化学学报, 2008,29(6): 1163-1165
11. 燕永利, 何飞, 张家明, 屈撑囤, 张宁生. 单一非离子表面活性剂制备胶质气体泡沫的稳定性[J]. 高等学校化学学报, 2008,29(10): 2044-2048
12. 许秀芳, 尚贞锋, 李瑞芳, 赵学庄. 富勒烯衍生物C50X(X=SiH2, PH, S)的结构及稳定性的理论研究[J]. 高等学校化学学报, 2008,29(12): 2413-2419
13. 田素燕, 李连之, 李海丽, 薛泽春, 杜为红. 重组人细胞红蛋白的表达纯化及谱学表征[J]. 高等学校化学学报, 2009,30(3): 483-488

序号	时间	反馈人	邮箱	标题	内容
1	2009-11-16	frsahfkjsdagjk	hsjkafh@sdk.com	ugg boots	Ugg Boots Sale Online Ugg Boots Discount Uggs Di Ugg Ugg Shoes S: Sale Cheap Ugg Cheap Uggs ugg