

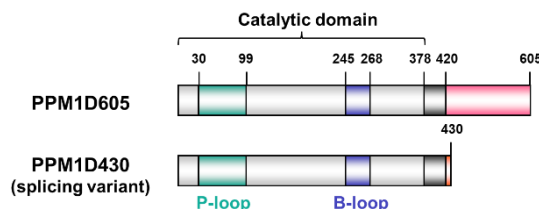
## 発がん関連タンパク質 PPM1D における特異的 loop の機能解析

(新大理<sup>1</sup>・阪大<sup>2</sup>) ○原 侑希<sup>1</sup>・齊藤 輝<sup>1</sup>・古賀 信康<sup>2</sup>・古川 和広<sup>1</sup>・中馬 吉郎<sup>1</sup>  
 Functional analysis of characteristic loops in oncogenic protein phosphatase PPM1D (<sup>1</sup>*Faculty of Science, Niigata University*, <sup>2</sup>*Institute for Protein Research (IPR), Osaka University*)  
 ○Yuki Hara,<sup>1</sup> Hikaru Saito,<sup>1</sup> Nobuyasu Koga,<sup>2</sup> Kazuhiro Furukawa,<sup>1</sup> Yoshiro Chuman<sup>1</sup>

Ser/Thr protein phosphatase PPM1D has been attracted as a target for anticancer drug due to its carcinogenesis through the gene amplification and overexpression. However, it is difficult to develop the specific inhibitors based on the structure of PPM1D because the crystal structure has not yet been resolved. PPM1D contains two characteristic loops, B-loop and P-loop in the catalytic domain. The B-loop is known to play important roles in substrate recognition and cellular localization of PPM1D while the P-loop is correlated with the phosphatase activity and structural stability. However, these flexible loops are thought to have negative effects on crystallization of PPM1D. Previously, P-loop deletion mutant, in which P-loop in PPM1D was substituted to the corresponding sequence in PPM1A, was reported to reduce the protein expression and phosphatase activity significantly. Therefore, we designed 5 types of P-loop mutants by using the methods developed for de novo protein designs. Analyses of their structural stabilities and phosphatase activities revealed that PENG mutant (subP/PENG) among these P-loop mutants showed similar stability and enzymatic properties with Wild Type.

**Keywords :** PPM1D; specific loops; cancer; protein phosphatase; inhibitor

脱リン酸化酵素 PPM1D は、遺伝子増幅や過剰発現により発がんに関与することから、抗がん剤開発の標的として注目されている。しかしながら、PPM1D の結晶構造は未解明であるため、薬剤開発は難航している。その要因の 1 つとして、PPM1D の触媒ドメインに存在する 2 つの特徴的 loop 構造 B-loop と P-loop の存在が考えられる。B-loop は PPM1D の基質認識、ならびに核局在において重要であり、P-loop は構造や活性の維持に重要であることが知られている。その一方で、これらの loop は柔軟であり、結晶化において負の影響を与えられていると考えられている。既に結晶化されている PPM1A との配列アライメントからデザインされた PPM1D の P-loop 欠損体では、発現量や酵素活性の顕著な減少が報告されている<sup>1)</sup>。そこで本研究では、タンパク質人工設計の手法を用いて PPM1D の構造・機能を維持した P-loop 置換体の構築を試み、新たに 5 種類の P-loop 置換体をデザインした。これら置換体において、subP/PENG 変異体は Wild Type (WT) と同程度の発現量を有するとともに、速度論的解析により WT と同程度の酵素特性を維持していることが明らかとなった。



1) Characterization of the Active Site and a Unique Uncompetitive Inhibitor of the PPM1-Type Protein Phosphatase PPM1D, *Protein Pept. Lett.*, **15**, 938-948, (2008)