

平成22年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 若手研究(A) 4. 研究期間 平成21年度～平成23年度
5. 課題番号

2	1	6	8	8	0	2	4
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 光合成CO2固定酵素ルビスコの高機能化による植物光合成促進

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
50362851	アシダ ヒロキ 蘆田 弘樹	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

植物のCO₂固定酵素ルビスコは、O₂をCO₂と誤認識するため触媒効率が低く、光合成を律速している。このため、O₂反応性抑制によるルビスコ高機能化が、植物光合成能を増大させると期待される。本年度は、ルビスコ機能進化解析による高機能化部位の同定(1)と同定した部位の植物ルビスコへの導入効果解析(2)を行った。(1)ルビスコ触媒残基のいくつかを欠きCO₂固定能を持たないルビスコ祖先タンパク質にルビスコ触媒残基を導入した結果、枯草菌、紅色非硫黄細菌の導入型祖先タンパク質からはルビスコ触媒活性を検出できなかったが、気管支肺血症菌祖先タンパク質では活性が検出された。この結果から、導入した残基中にルビスコ触媒反応に関わる残基が存在すると期待された。また、枯草菌祖先タンパク質の構造活性相関解析から、この酵素の触媒能を活性化する残基を同定した。(2)O₂反応性が低い紅藻ルビスコの高機能化残基H386の導入は、ラン藻ルビスコのO₂反応性を17%抑制する。この高機能化残基をルビスコに導入した葉緑体形質転換タバコのラインを確立し、解析を行った結果、高機能化残基導入タバコはコントロール株と比較してルビスコ量が約70%に減少しているものの、葉のCO₂固定速度はほとんど変わらなかった。このことは、ルビスコの高機能化に成功していることを示唆していたが、高機能化効果を最大限引き出すにはルビスコの量的増加が望まれた。ルビスコ量増加を可能とするルビスコ生合成遺伝子を同定するため、ルビスコ量が低下したシロイヌナズナ変異株を単離し、その原因遺伝子の解析を行った。15変異株を単離し、ルビスコ生合成に関与する転写活性化因子や翻訳装置合成因子遺伝子を同定した。この研究により、ルビスコ生合成の律速段階遺伝子が同定できれば、これらを発現強化することにより、高機能化ルビスコ量を増加させることができるかと期待される。

10. キーワード

- | | | |
|-----------------|------------------------|----------|
| (1) 光合成 | (2) CO ₂ 固定 | (3) ルビスコ |
| (4) ルビスコ祖先タンパク質 | (5) 葉緑体形質転換 | (6) |
| (7) | (8) | (裏面に続く) |

11.研究発表（平成22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 1 ）件 うち査読付論文 計（ 1 ）件

著者名	論文標題			
Nishimura K, Ashida H , Ogawa T and Yokota A	A DEAD-box protein is required for the formation of a hidden break in Arabidopsis chloroplast 23S rRNA.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
The Plant Journal	有	63	2021	766-777

著者名	論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁

著者名	論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁

〔学会発表〕 計（ 11 ）件 うち招待講演 計（ 1 ）件

発表者名	発表標題		
蘆田弘樹 、齋藤洋太郎、中野寿宏、田村はるか、松村浩由、横田明穂	RuBisCO-like proteinを用いた光合成CO ₂ 固定酵素RuBisCOの分子進化研究		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第57回日本生化学会近畿支部例会	平成22年5月22日	奈良先端科学技術大学院大学	

発表者名	発表標題		
中野寿宏、 蘆田弘樹 、横田明穂	RuBisCO-like protein のhistidine294は活性化に関与する		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第57回日本生化学会近畿支部例会	平成22年5月22日	奈良先端科学技術大学院大学	

発表者名	発表標題		
西村健司、 蘆田弘樹 、小川太郎、横田明穂	DEAD-box タンパク質を介した葉緑体リボソーム RNA への hidden break の導入		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第57回日本生化学会近畿支部例会	平成22年5月22日	奈良先端科学技術大学院大学	

発表者名	発表標題		
Ogawa T, Ashida H , Nishimura K and Yokota A	A chloroplast RNase HI, NARA4, is essential for the massive accumulation of plastid-encoded proteins.		
学会等名	発表年月日	発表場所	
2nd International Symposium on Chloroplast Genomics and Genetic Engineering	平成22年6月21日	National University of Ireland, Maynooth, Co. Kildare, Ireland	

発表者名	発表標題		
Nishimura K, Ashida H , Ogawa T, Yokota A	A DEAD-box protein mediates the formation of a hidden break into chloroplast 23S rRNA in Arabidopsis.		
学会等名	発表年月日	発表場所	
2nd International Symposium on Chloroplast Genomics and Genetic Engineering	平成22年6月21日	National University of Ireland, Maynooth, Co. Kildare, Ireland	

発表者名	発表標 題		
中野寿宏、 <u>蘆田弘樹</u> 、横田明徳	2酵素融合による新たな触媒能の獲得 ～テトラヒメナ メチオニン代謝系で働くMtnBDの機能解析～		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本農芸化学会関西支部大会	平成22年10月3日	近畿大学農学部	

発表者名	発表標 題		
河野卓成、Mehrotra Sandhya、横田明徳、 <u>蘆田弘樹</u>	phosphoribulokinaseの分子進化から見た光合成カルビンサイクルの起源		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本植物生理学会2011年度大会	平成23年3月20日	東北大学で開催予定が中止となり、要旨集で発表	

発表者名	発表標 題		
中野寿宏、横田明徳、 <u>蘆田弘樹</u>	枯草菌RuBisCO-like protein His294の機能から予想される植物RuBisCOの活性化機構		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本植物生理学会2011年度大会	平成23年3月22日	東北大学で開催予定が中止となり、要旨集で発表	

発表者名	発表標 題		
西村健司、 <u>蘆田弘樹</u> 、小川太郎、横田明徳	シロイヌナズナDEAD-box RNA helicase 39により23SリボソームRNAに導入されるhidden breakを介した葉緑体翻訳制御機構		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本植物生理学会2011年度大会	平成23年3月20日	東北大学で開催予定が中止となり、要旨集で発表	

発表者名	発表標 題		
河野卓成、Mehrotra Sandhya、横田明徳、 <u>蘆田弘樹</u>	アーキアにおける光合成カルビン回路の進化的完成の証拠		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本農芸化学会2011年度大会	平成23年3月26日	京都女子大学で開催予定が中止となり、要旨集で発表	

発表者名	発表標 題		
<u>蘆田弘樹</u> 、横田明徳	Prospects for increasing plant photosynthesis by overcoming the limitations of CO ₂ -fixing enzyme, RuBisCO.		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本農芸化学会2011年度大会 シンポジウム	平成23年3月28日	京都女子大学で開催予定が中止となり、要旨集で発表	

【図 書】 計 (1) 件

著者名	出版社		
<u>Ashida H</u> and Yokota A	Elsevier		
書名	発行年	総ページ数	
Comprehensive Biotechnology, 2 nd edition, Increasing photosynthesis/RuBisCO and CO ₂ concentrating mechanism.	2 0 1 1	in Press	

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出 願】 計 (0) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

【取得】 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--