

平成 19 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 基盤研究(A)      4. 研究期間 平成17年度～平成20年度
5. 課題番号 1 7 2 0 8 0 3 1
6. 研究課題名 光合成炭素固定酵素ルビスコ機能発現の分子機構

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
4 0 1 1 8 0 0 5	カガナ ヨコタ, アキホ 横田, 明穂	バイオサイエンス研究科	教授

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
2 0 3 1 4 5 4 4	カガナ アカシ, キンヤ 明石, 欣也	バイオサイエンス研究科	助教
5 0 3 6 2 8 5 1	カガナ アシダ, ヒロキ 蘆田, 弘樹	バイオサイエンス研究科	助教
3 0 4 2 3 2 4 7	カガナ ムネカゲ, コリ 宗景, ゆり	バイオサイエンス研究科	助教
	カガナ		
	カガナ		

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

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。

古細菌や枯草菌に広く分布するルビスコ様蛋白質 (RLP) の一次構造中に、光合成ルビスコの炭酸ガス固定に必須の残基を導入した。しかし炭酸ガス固定活性が導入されず、今後さらに他の残基を導入することとなった。紅藻ガルドイエリアのルビスコが持つ優良ルビスコ部位であるループ6 ラッチ構造をラン藻ルビスコに導入した結果、ラン藻ルビスコの炭酸ガス固定能力に改善が認められた。そこでさらに、タバコルビスコにもこのラッチ構造を導入しつつある。すでに、ラッチ構造導入ルビスコを持つタバコの作出には成功し平成20年度にその機能解析と行う予定である。

枯草菌に存在するメチオニンサルベージ経路の進化的役割として、太古自然環境下でのリポースからのリジン等のアミノ酸合成が考えられる。そこで枯草菌メチオニンサルベージ経路に関与する酵素群のリコンビナント蛋白質を作成し活性測定したところ予想どおりの活性が検出された。今後この反応の動力学的な解析を手がける予定である。

カルビン回路の進化についても身を見張る発見があった。地球上生物の進化の過程で、ラン藻が最初に光合成を始めたのは、現在から35億年ほど前であると推定されている。それ以前にすでにルビスコを含めてカルビン回路の原型となる代謝経路あるいはそのための遺伝子セットが存在していたはずである。光合成カルビン回路が実現するには、古細菌などの糖代謝経路にルビスコとルビスコの基質であるリブローズビスリン酸合成酵素 (PRK) が導入される必要があった。我々は最近、これら両酵素が遺伝子が光合成生物の進化以前にすでに一部の古細菌で機能していた可能性を示す結果を得つつある。今後のこの研究についても強力に推進していく。

これまで分子遺伝学的に同定してきた機能未知の葉緑体蛋白質合成系関連遺伝子の機能を同定しようとしている。これまで、ルビスコを正常の合成できないシロイヌナズナ変異株 12 株から、その影響が特に強力である *nara4, 5, 12* 遺伝子と蛋白質の機能を確定しつつあり、今後も引き続き行う。

最近ある種のラン藻で機能が明らかにされた RbcX の機能を、植物葉緑体でのラン藻ルビスコ生合成においても重要な役割を担っていることを見出した。また、ラン藻光合成において重要な役割を果たしている CO<sub>2</sub> 濃縮系に関与する *ccmM* 遺伝子内に含まれる *rbcS* ホモログのルビスコの機能発現における役割について解析している。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 判縦長横書 1 枚)を添付すること。

10. キーワード

- |            |          |            |
|------------|----------|------------|
| (1) 光合成    | (2) 炭素固定 | (3) ルビスコ   |
| (4) 機能分子進化 | (5) 機能改良 | (6) カルビン回路 |
| (7) 古細菌    | (8)      | (裏面に続く)    |

11. 研究発表(平成18年度の研究成果)  
 【雑誌論文】 計(5)件

著者名	論文標題			
Hiroki Ashida	RuBisCO-like proteins as the enolase enzyme in the methionine salvage pathway: Functional and evolutionary relationships between RuBisCO-like proteins and photosynthetic RuBisCO.			
雑誌名	巻・号	発行年	ページ	
Journal of Experimental Botany	59	2008	in press	

著者名	論文標題			
Kenji Nishimura	Molecular mechanisms of RuBisCO biosynthesis in higher plants.			
雑誌名	巻・号	発行年	ページ	
Plant Biotechnology	25	2008	in press	

著者名	論文標題			
Hiroki Ashida	Enzymatic characterization of 5-methylthioribulose-1-phosphate dehydratase of the methionine salvage pathway from <i>Bacillus subtilis</i> .			
雑誌名	巻・号	発行年	ページ	
Bioscience Biotechnology Biochemistry	72	2008	in press	

著者名	論文標題			
Haruka Tamura	Crystal structure of 5-methylthioribose 1-phosphate isomerase product complex from <i>Bacillus subtilis</i> : Implications for catalytic mechanism.			
雑誌名	巻・号	発行年	ページ	
Protein Science	17	2007	126-135	

著者名	論文標題			
Yohtaro Saito	Enzymatic Characterization of 5-Methylthioribose 1-Phosphate Isomerase from <i>Bacillus subtilis</i> .			
雑誌名	巻・号	発行年	ページ	
Bioscience Biotechnology Biochemistry	71	2007	2021-2028	

〔学会発表〕計（ 17 ）件

発表者名	発表標 題	
山下 宣容	ラン藻カルボキシソーム構成タンパク質CcmMが有するRuBisCO small subunit-like domainとRuBisCO small subunitの機能的関連性	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本農芸化学会年会	2008年3月27日	名城大学天白キャンパス

発表者名	発表標 題	
中野寿宏	メチオニン再生経路の酵素群によるリボース新規代謝経路	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本農芸化学会年会	2008年3月27日	名城大学天白キャンパス

発表者名	発表標 題	
SANDHYA MEHROTRA	Analysis of the molecular evolution of Phosphoribulokinase, a key Calvin cycle enzyme, in primitive cyanobacterium <i>Gloeobacter violaceus</i> .	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本植物生理学会年会	2008年3月21日	札幌コンベンションセンター

発表者名	発表標 題	
西村健司	シロイヌナズナ葉緑体rRNAの成熟化に異常があるnara12変異株の解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本植物生理学会年会	2008年3月20日	札幌コンベンションセンター

発表者名	発表標 題	
齋藤洋太郎	枯草菌RuBisCO-like proteinと光合成RuBisCOに共通する構造と機能	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本植物生理学会年会	2008年3月20日	札幌コンベンションセンター

発表者名	発表標 題	
蘆田弘樹	RuBisCO-like proteinの解析から見てきたRuBisCO誕生の分子機構	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本植物生理学会第49回年会シンポジウム	2008年3月22日	札幌コンベンションセンター

発表者名	発表標 題	
蘆田弘樹	RuBisCO-like proteinの研究から光合成CO <sub>2</sub> 固定酵素RuBisCOの分子進化の謎にせまる	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
分子研研究会「分子の視点から見る光合成」招待講演	2008年、3月11日	岡崎コンファレンスセンター

発表者名	発表標 題	
小村泰浩	イネ由来RuBisCOと紅藻由来RuBisCOの硫酸イオン複合体に見られた立体構造の違い	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本結晶学会2007年度年会	2007年12月1-2日	東京

発表者名	発表標 題	
田村はるか	メチオニン回収経路で機能する枯草菌由来RLPのX線結晶構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本結晶学会 2007年度年会	2007年12月1-2日	東京

発表者名	発表標 題	
Yasuhiro Komura	STRUCTURAL DIFFERENCE BETWEEN RICE AND RED ALGA RUBISCO COMPLEXED WITH SULFATE.	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 8th Conference of the Asian Crystallographic Association, AsCA'07	2007.11.4-7	台北

発表者名	発表標 題	
Haruka Tamura	Crystal structure of 5-methylthioribose 1-phosphate isomerase product complex from <i>Bacillus subtilis</i> : Implications for catalytic mechanism.	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 8th Conference of the Asian Crystallographic Association, AsCA'07	2007.11.4-7	台北

発表者名	発表標 題	
蘆田弘樹	植物葉緑体形質転換とその応用性	
学会等名	発表年月日	発表場所
ファイトテクノロジー交流会	2007年10月20日	大阪

発表者名	発表標 題	
Kenji NISHIMURA	Isolation and characterization of genes necessary for achievement of RuBisCO accumulation in <i>Arabidopsis thaliana</i> .	
学会等名	発表年月日	発表場所
JSPS Colloquium "Frontiers in Plant Biotechnology"	4 <sup>th</sup> Oct. 2007	Stockholm University, Sweden

発表者名	発表標 題	
Taro Ogawa	Isolation and characterization of genes necessary for achievement of RuBisCO accumulation in <i>Arabidopsis thaliana</i> .	
学会等名	発表年月日	発表場所
14 <sup>th</sup> International congress of photosynthesis	22 <sup>nd</sup> -27 <sup>th</sup> , Jul. 2007	Glasgow, UK

発表者名	発表標 題	
Nana NINOMIYA	Improvement of cyanobacterial RuBisCO by introducing the latch structure involved in high affinity for CO <sub>2</sub> in red algal RuBisCO.	
学会等名	発表年月日	発表場所
14 <sup>th</sup> International congress of photosynthesis	22 <sup>nd</sup> -27 <sup>th</sup> , Jul. 2007	Glasgow, UK

発表者名	発表標 題	
Yohtaro SAITO	Evolutionary potential of RuBisCO-like protein in <i>Bacillus subtilis</i> : Interaction with transition-state analogue of RuBisCO.	
学会等名	発表年月日	発表場所
14 <sup>th</sup> International congress of photosynthesis	22 <sup>nd</sup> -27 <sup>th</sup> , Jul. 2007	Glasgow, UK

発表者名	発表標 題	
Hiroki ASHIDA	RuBisCO-like proteins, guest speaker	
学会等名	発表年月日	発表場所
Research Frontiers with Rubisco - the "Elixir of Life" in the Biosphere. 14 <sup>th</sup> International Congress of Photosynthesis Satellite Meeting	20, 21 July 2007	Harpندن, UK

〔図 書〕 計（ 1 ）件

著 者 名	出 版 社		
Akiho Yokota	Elsevier		
書 名	発 行 年	総ページ数	
Engineering photosynthetic pathways, <i>In</i> Bioengineering and Molecular Biology of Plant Pathways, Volume 1 (Eds., H.J. Bohnert and H.T. Nguyen) in <i>Advances in Plant Biochemistry and Molecular Biology</i> (Elsevier, Executive Editor, N.G. Lewis)	2 0 0 8	25	

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 w e b ページがある場合は、URLを記載すること。

--