

新規炭酸固定系を構成する酵素群の構造機能解析と機能改良

代表機関：京都大学大学院理学研究科

代表研究者：三木邦夫

背景

- 植物や一部の細菌による炭素固定の効率が向上すれば、地球環境問題や農業に貢献する可能性がある
- 古細菌から、炭素固定の鍵酵素「ルビスコ」の変わり種が発見されていた
- この Tk- ルビスコがかわる新たな炭素固定経路が見いだされた

成果

- 新たな炭素固定経路にかかる 2 種類の酵素の構造・機能情報から、この経路の反応機構の詳細が明らかになった
- 構造情報をもとに、活性の高い Tk- ルビスコを設計できるようになった

大気中の二酸化炭素は、植物や一部の細菌によって体内に取り込まれ、グルコースなどの有機炭素に変えられます。このような「炭素固定」の反応の効率を上げられれば、地球温暖化の原因とされる二酸化炭素濃度の抑制や農業の生産効率向上に貢献する可能性があります。

炭素固定のパターンはいくつかあります。が、主要なのは、緑色植物などがルビスコ (Rubisco) という酵素を用いて行うCBBサイクルです。私たちはルビスコ (Rubisco) の中でも、古細菌にのみ存在するTk-ルビ

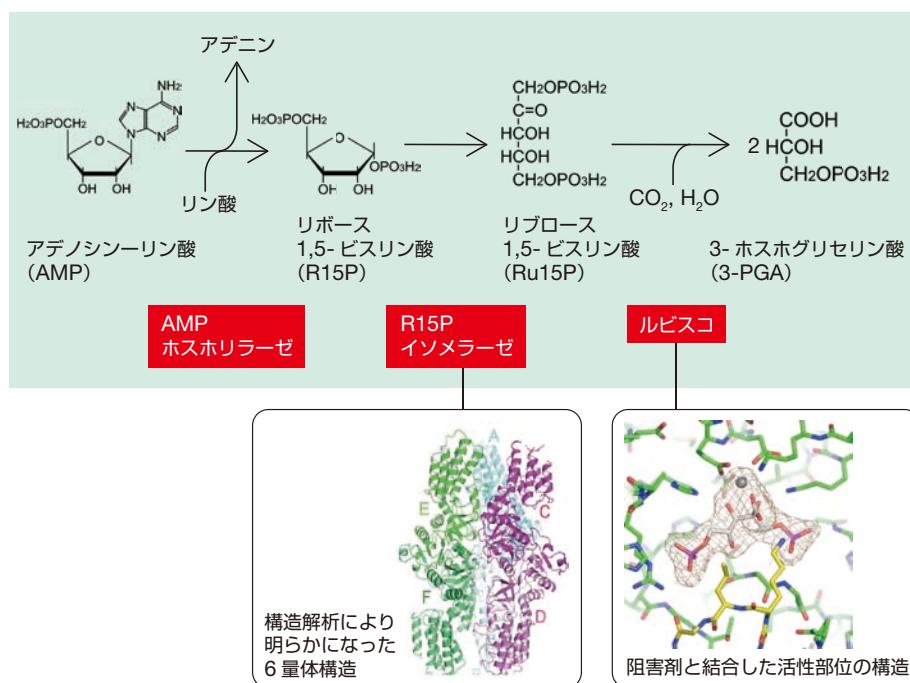
スコを発見しています。Tk-ルビスコは、他のルビスコとは立体構造がかなり異なる上、高温環境で高い炭素固定能力を示します。さらに、Tk-ルビスコは、これまで知られていなかった2種類の酵素 (AMPホスホリラーゼ、R15Pイソメラーゼ) とともに、古細菌の中で新しい炭素固定経路をつくっていることもわかりました。

そこで私たちは、この新しい経路の生理的機能を明らかにするため、この2種類の酵素の構造と機能を調べています。AMPホスホリラーゼの構造解析は苦戦していま

すが、生化学的な解析から、50量体を超える巨大複合体を形成していることが明らかになりました。一方、R15Pイソメラーゼは構造解析に成功しています。類似のタンパク質が2量体で存在しているのに対し、6量体を形成していました。さらに、リガンドと結合した状態の構造解析にも成功し、これらの構造から、新規経路の前段階にある、AMPホスホリラーゼが触媒する反応についても、新たな知見が得られました。

一方、Tk-ルビスコの炭素固定能力を向上させることを目指し、変異体の改良や機能評価も行っています。常温ですぐれた活性を示す2種類の変異体 (Tk-ルビスコの一部をホウレンソウ由来ルビスコのアミノ酸と置換したもの) の構造解析を行いました。また、野生型のTk-ルビスコの反応中の構造を捉えるため、基質と似たかたちではあるが反応はしない阻害剤 (2-CABP) との複合体を結晶化し、構造解析に成功しました。これらの結果、Tk-ルビスコのどの部分の変化が活性に影響するかが明らかとなり、この情報をもとに設計した変異体で高い活性を得ています。

変異体を改良してTk-ルビスコのさらなる高活性化を目指すとともに、新規経路にかかる酵素類の構造と機能の解析をさらに進め、触媒機構についての知見を深めたいと考えています。



Tk-ルビスコが関与する新規炭素固定経路と、本課題での構造解析成果の一部。図版提供：三木邦夫