(様式 1-1)

提出日: 2022 年 4月 26日

### 2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

# 研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。) 共同研究員

## (2) 研究代表者

氏名:松村 浩由

所属機関名・部局名・職名:立命館大学・生命科学部・教授

- (3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同じ課題名を記入して下さい。)
  - 二酸化炭素固定酵素の触媒速度上昇の構造的要因の解明

### (4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名: 中川 敦史 (研究室名:超分子構造解析学研究室)

### (5) 研究成果の概要(公開)

光合成カルビンベンソン回路の初発反応である二酸化炭素固定反応を触媒するリブロース 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシナーゼ (Rubisco) は、触媒速度が極端に低い。そのため光合成の主な律速因子であることが知られている。トウモロコシやソルガムといった C4 植物では、Rubisco の活性が比較的高いため、Rubisco 含量を減らすことで窒素利用効率を高めている。このような C4 型 Rubisco の特性を C3 植物であるイネの Rubisco にもたせることができればイネの光合成が改良できることが期待できる。そこで私達は最近、C4 植物ソルガムの Rubisco 小サブユニット (RbcS) を C3 植物のイネに導入し、ソルガム RbcS とイネ Rubisco の大サブユニット (RbcL) が組み合わさったハイブリッド Rubisco をイネ内で形成することにより、イネの光合成を改良させることに成功した (Mol. Plant, 13, 1570, 2020)。ハイブリッド Rubisco はその触媒速度が野生型イネ Rubisco の約 2 倍程度上昇させていることが分かった。そこでハイブリッド Rubisco を 1.7Å 分解能での構造解析し、ソルガム RbcS の導入によって触媒速度が上がった要因を推察した。野生型イネ Rubisco との構造比較の結果、ソルガム RbcS に特異的なアミノ酸がイネ Rubisco の活性部位を開閉するループの運動性を上昇させ、それによりハイブリッド Rubisco の触媒速度が上がっている可能性が示唆された。しかし、その立体構造の違いはわずかであり、これらの仮説を証明するためにさらなる構造研究が必要である。

最近、主に根で発現している RbcS とイネ RbcL のハイブリッド Rubisco(iKS Rubisco)がハイブリッド Rubisco 同様に触媒速度を上昇させることが分かった。そこで本研究では、iKS Rubisco の X 線構造解析を 行った。硫酸イオン存在下で iKS Rubisco の結晶化に成功し、その結晶を用いて X 線回折実験を実施した ところ、2.5 Å 分解能で結晶構造を解析することができた。これによって、Rubisco の触媒速度上昇の構造 的要因がスモールサブユニットの  $\beta$  ヘアピン付近の立体構造の違いにある可能性を考察している。