

酸素発生型光合成生物に共通のホスホリブロキナーゼの溶液構造解析 Solution structure of oxygenic photosynthetic phosphoribulokinase

松村浩由¹、清水伸隆²、井上豪¹

¹大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻

²高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所

Hiroyoshi Matsumura^{1*}, Nobutaka Shimizu², Tsuyoshi Inoue¹

¹Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka University

²Institute of Materials Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization (KEK)

1 はじめに

植物は、カルビン回路と呼ばれる二酸化炭素固定経路の酵素群によって、大気中から二酸化炭素を吸収し、糖に変換して成長する。本研究で対象としているホスホリブロキナーゼ(PRK)は、カルビン回路で二酸化炭素固定酵素 RuBisCO に基質を供給している酵素である。このように PRK はその生理的重要性にも関わらず、これまで立体構造が判っているのはプロテオバクテリア由来のもののみであり、植物・緑藻・藍藻などの主要な光合成生物(酸素発生型光合成生物)の PRK の立体構造は不明であった。そのため、申請者らは酸素発生型 PRK に着目し、培養・精製、結晶化し、続けてX線構造解析を行い、PRK 単量体の立体構造解析に成功した(図1)。しかし、想定外にも、二量体 PRK の構造を結晶構造から決定することができなかった(二量体であることはゲルろ過クロマトグラフィーなどから既に確認)。というのは、結晶中には PRK 二量体の候補が3種類存在し、それぞれダイマー界面の面積に優位な差が見られなかったからである。

そこで、本研究では、X線溶液散乱法によって、PRK 二量体の溶液構造を解明することを目指した。

2 実験

ラン藻由来 PRK を大腸菌発現系で発現させ、アフィニティークロマトグラフィーとゲル濾過クロマトグラフィーで精製した。80 mM HEPES-KOH (pH 7.5), 150 mM NaCl, 10% (w/v) sucrose の緩衝液中に溶解した PRK の 4.7 mg mL^{-1} から 1.0 mg mL^{-1} まで濃度バリエーションを作成し、SAXS 測定を BL-10C で行った。カメラ長は 2013 mm, 波長 1.488 の X 線を用い、検出器は R-AXIS VII、20°C で測定した。

3 結果および考察

図1にラン藻由来 PRK の全散乱曲線を示した。このデータから、濃度依存によって散乱曲線が変化しないことが確認できた。また、散乱強度をゼロ濃度外挿した値からも PRK が溶液中二量体で存在していることが示された。さらにこの全散乱曲線を用いてダミーアトムモデルを計算したところ、PRK 二

量体の候補のうち一種類のみが一致することが確認できた。この特徴的な構造は PRK の機能や調節機構を詳細に説明できるものであった。

図1

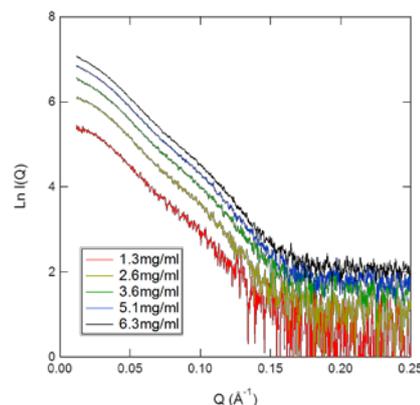
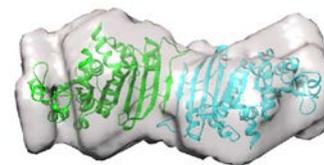


図2



4 まとめ

本研究によって酸素発生型光合成生物に共通の PRK の溶液構造が解明できた。

謝辞

本研究は科研費新学術領域「構造細胞生物学」の助成を受けて実施いたしました。

参考文献

[1] 松村浩由、第1回タンパク質 X 線溶液散乱講習会、つくば、2013年5月22日

* matsumura@chem.eng.osaka-u.ac.jp