



Press Release

プレスリリース

報道解禁： 8月31日 PM 3時（新聞： 9月1日付朝刊）

この資料は、兵庫県教育委員会記者クラブ、神戸民放記者クラブ、大阪科学・大学記者クラブ、京都大学記者クラブに配信しています。

2020年 8月 28日

国立大学法人 神戸大学
立命館大学

光合成における CO₂ 固定酵素 Rubisco の触媒活性の改良に成功

神戸大学大学院農学研究科の深山浩准教授、立命館大学の松村浩由教授らの研究グループは、植物の光合成CO₂固定反応を担う酵素Rubisco^{*1}の触媒活性を大幅に増加させることに成功しました。また、タンパク質の構造解析からRubiscoの触媒活性を決定するメカニズムを提案しました。

今後、農作物の光合成能力の改良による収量増加につながることを期待されます。

この研究成果は、8月31日（現地時間）に、国際学術誌Molecular Plantに掲載される予定です。

ポイント

- ✓ 植物の成長速度を決める光合成は、CO₂を有機物に変換する反応を触媒する酵素 Rubisco の活性が低いことが制限要因となっている。
- ✓ Rubisco は大サブユニット（RbcL）と小サブユニット（RbcS）の2種類のタンパク質でできおり、RbcS が触媒速度の重要な決定因子である。
- ✓ イネ RbcL とソルガム（モロコシ）RbcS のハイブリッド Rubisco はイネの Rubisco の約2倍の触媒活性を示した。これだけ大幅に Rubisco の活性を増加させることに成功したのは世界初である。
- ✓ RbcS に存在する102番目のアミノ酸がイネではイソロイシン、ソルガムではロイシンである。タンパク質の構造解析から、それらのアミノ酸の違いが触媒活性を決定している可能性を示した。
- ✓ 本研究で示した光合成能力の改良法は、イネと同様に Rubisco 活性が低いコムギ、ダイズ、ジャガイモなど多くの作物への応用が期待できる。

研究の背景

植物の成長速度は主に光合成能力によって決まっています。よって、光合成能力の改良は農作物の収量増加につながります。Rubisco は光合成において最初に CO₂を有機物に変換する反応を触媒する酵素です。Rubisco は触媒活性が非常に低いこと、競争的に O₂によって阻害されることから、光合成の主要

な律速因子となっています。

Rubisco の触媒活性には種間差があります。一般的な光合成を行う C_3 植物には、イネ、コムギ、ダイズなど主要な農作物のほとんどが含まれ、 C_4 光合成回路と呼ばれる CO_2 濃縮機構を獲得した C_4 植物には、トウモロコシやサトウキビなどが含まれます。 C_3 植物では触媒活性が低く、 C_4 植物では高い傾向があります。触媒活性の高い Rubisco は O_2 に阻害されやすい性質を持っているため、 CO_2 濃度の低い大気条件で、 CO_2 濃縮機構を持たない場合は必ずしも有利とはなりません。しかし、現在の大気 CO_2 濃度は増加を続けており、 C_3 植物も C_4 植物のような高活性型 Rubisco を持つことが、光合成能力の改良に有効と考えられます。

研究の内容

Rubisco は大サブユニット (RbcL) と小サブユニット (RbcS) の 2 種類のタンパク質により構成されています (図 1)。我々はアミノ酸配列の種間差が大きい RbcS に着目して研究を進め、 C_4 植物であるソルガムの RbcS を C_3 植物のイネに遺伝子組換えにより導入することで、イネ Rubisco の触媒活性を 1.5 倍に増加させることに成功しました。このソルガム RbcS 導入イネ (SS 系統) では、ソルガム RbcS とイネ RbcS の両方がキメラな状態で Rubisco に組み込まれています。そこで次に、ソルガム RbcS 導入イネのイネ RbcS をゲノム編集技術である CRISPR/Cas9 法でノックアウトしました。

このソルガム RbcS 導入・イネ RbcS ノックアウト系統 (CSS 系統) の Rubisco は RbcS が完全にソルガム RbcS に置き換わったハイブリッド Rubisco となっており、触媒活性が C_4 植物と同等レベル (約 2 倍) にまで高くなりました (図 2)。多くの研究者が Rubisco の触媒特性の改良に取り組んできましたが、触媒活性をこれだけ大幅に増加させた例はありませんでした。さらに、CSS 系統は葉における Rubisco の量が 30%以上少なかったのですが、 CO_2 濃度の高い条件では非組換えイネよりも高い光合成能力を示しました。

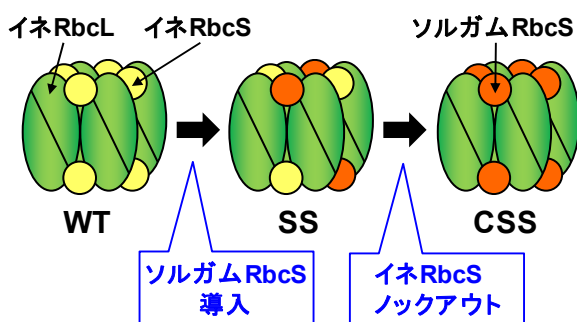


図1. イネRubisco触媒活性の改変戦略.
WT, 非組換えイネ; SS, ソルガムRbcS導入イネ;
CSS, ソルガムRbcS導入・イネRbcSノックアウトイネ

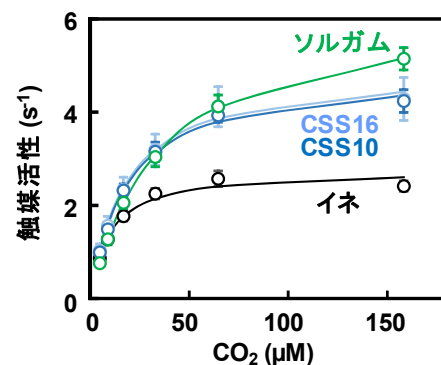


図2. Rubiscoの触媒活性.
Rubisco触媒部位当たりの触媒活性と CO_2 濃度との関係を示す. CSS10とCSS16はソルガムRbcS導入・イネRbcSノックアウトイネ系統.

次に、ソルガム RbcS が Rubisco の触媒活性を増加させるメカニズムを明らかにする目的で、Rubisco の X 線結晶構造解析*2 を行いました。Rubisco の触媒部位は RbcL に存在しています。その触媒部位の近くに RbcS の βC という構造があります (図 3)。その βC に含まれる 102 番目のアミノ酸がイネではイソロイシン、ソルガムではロイシンでした。イソロイシンよりもロイシンの方が分子が小さいために、ソルガム RbcS が組み込まれた場合には、アミノ酸の分子間の隙間が大きくなり、触媒部位が柔軟になることで触媒活性が高くなったのではないかと考えられました。この説を証明するには、さらなる研究が必要ですが、Rubisco の研究においてこれまで提唱されてこなかった画期的なアイデアであると考えています。

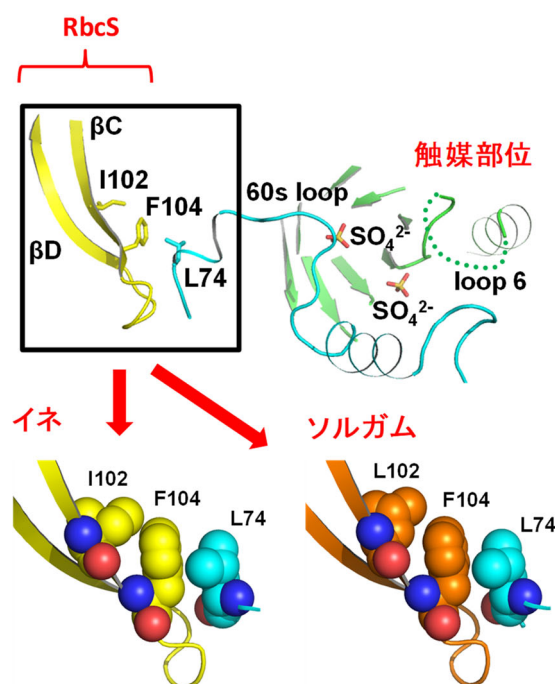


図3. Rubiscoの触媒部位の構造。
RbcSの βC の102番目のアミノ酸がイネではイソロイシン(I102)、ソルガムではロイシン(L102)である。L102の場合は隣のフェニルアラニン(F104)との隙間が大きくなる。

今後の展開

作出した CSS 系統は高い光合成能力を示しましたが、収量を増加するまでには至っていません。Rubisco の量を適切にコントロールすれば成長速度や収量を大幅に増加させることが出来るのではないかと期待しています。また、今回は C_3 植物のイネを研究材料としましたが、同様の方法でコムギ、ダイズ、ジャガイモなど他の主要な作物の Rubisco の触媒活性を高めることができるかを明らかにすることも、応用面を考えた上で重要です。学術的には、触媒活性の決定に関係すると考えられる 102 番目のアミノ酸の働きについて、その部位のアミノ酸だけを別のアミノ酸に置換した Rubisco を作出するなど、さらなる解析を進めています。

用語解説

*1 Rubisco

正式名はリブローズビスリン酸カルボキシラーゼ・オキシゲナーゼであり、光合成 CO_2 固定における最初の反応を触媒する酵素です。光合成反応 (カルボキシラーゼ反応) だけでなく、 O_2 を基質としたオキシゲナーゼ反応も触媒します。触媒速度が非常に遅いため植物は多量の Rubisco を葉に蓄積しています。イネでは葉の可溶性タンパク質の半分近くが Rubisco であり、地球上で最も多量に存在するタンパク質として知られています。

*2 X 線結晶構造解析

単結晶に対して X 線を照射することで得られる回折を分析することで、結晶を構成する原子の空間的な座標を決定する手法。タンパク質の立体構造の決定法として有効な手段の一つ。タンパク質の結晶を作製する必要がある。

謝辞

本研究は以下の研究助成を受けて行われました。

- ・ JSPS 科研費 (17H05732, 18K06094, 19H04735, 19K07582, 24580021, 15H04443)
- ・ 立命館大学 (R-GIRO)
- ・ 大阪大学 (CR-18-05 and CR-19-05)
- ・ 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 (JP19am0101070)

論文情報

“Hybrid Rubisco with complete replacement of rice Rubisco small subunits by sorghum counterparts confers C₄-plant-like high catalytic activity”

著者

Hiroyoshi Matsumura,^{1,*} Keita Shiomi,² Akito Yamamoto,² Yuri Taketani,³ Noriyuki Kobayashi,² Takuya Yoshizawa,¹ Shun-ichi Tanaka,¹ Hiroki Yoshikawa,¹ Masaki Endo,⁴ Hiroshi Fukayama,^{2,*}

- 1 立命館大学生命科学部
 - 2 神戸大学大学院農学研究科
 - 3 神戸大学農学部
 - 4 農研機構
- * Corresponding author

掲載誌

Molecular Plant