

提出日：平成 30 年 5 月 17 日

平成 29 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	天然変性タンパク質が形成する光合成巨大複合体の構造解析		
研究代表者	氏名	松村 浩由	
	所属機関名・部局名	立命館大学・生命科学部	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	中川 敦史		
<p>固着生物である植物は、光量変動に対応する機構を有しており、光合成二酸化炭素固定回路（カルビン回路）では、分子量 9 千の天然変性タンパク質 CP12 がその役割の一端を担っている。CP12 は暗条件で、カルビン回路の二種の酵素 GAPDH と PRK に結合して CP12/GAPDH/PRK 複合体を形成し、両酵素の活性を同時に阻害する。逆に明条件では、還元され複合体が解離して両酵素の活性が戻る。このようにして、カルビン回路全体の調節を行っていると考えられているが、この分子機構は不明な点が多い。そこで本研究では、(1) CP12/GAPDH/PRK 複合体の構造解析を行うことでこの分子機構を解明することを第一の目的とした。さらに、最近、CP12 のホモログである CP12-3 が、光合成活性が高い C4 光合成において重要な因子であることが分かった。そこで、(2) CP12-3/標的タンパク質の相互作用解析ならびに構造解析を行い、CP12-3 による C4 光合成調節機構の分子基盤を解明することを第二の目的とした。</p> <p>(1) については、CP12/GAPDH/PRK 複合体の安定化および結晶構造解析に取り組んだが、現在のところは、構造解析可能な X 線回折強度データの収集には至っていない。そこで PRK の結晶構造と CP12/GAPDH/PRK 複合体の小角 X 線散乱から得られた情報をもとに変異体および相互作用解析を行った結果、CP12/PRK 相互作用においては静電相互作用が重要であることが分かった。さらに、高速 AFM 観測による CP12/GAPDH/PRK 複合体の形成を確認できた。この観測系の確立は、今後、CP12-3 とその結合パートナーが決定できた際に役立てることができると考えている。</p> <p>(2) については、CP12-3 とその標的候補タンパク質の生産・精製系の確立を目指した。C4 植物フラベリアの CP12-3 の発現・精製、ならびに標的候補の酵素として同様にフラベリア MDH, NADP-ME, PRK, GAPDH の遺伝子を探索し、その遺伝子の発現・精製を大腸菌を用いて試みた。CP12-3, MDH, NADP-ME については大腸菌での発現系を構築でき、高純度で精製することができた。精製できたものについては、どのような条件で相互作用するかを考慮しながら、相互作用解析を行っている。現在、<i>in vivo</i> の相互作用の結果と照らし合わせて妥当であるかを考慮しながら進めており、CP12-3 は、CP12 とある程度の共通の機能を有しながらも、同じではない機能を持ち合わせていることが示唆された。</p>			