

二酸化炭素固定酵素 Rubisco 改良に向けた分子シミュレーション

(神戸大院自然科学\*, JST-CREST\*\*, 神戸大発達科学\*\*\*)

渡邊 博文\*\*, 田中 成典\*\*,\*\*\*, 杉村 乾次\*\*, 武石 祥史\*\*, 榎本 平\*\*

地球温暖化問題は、現在の生活を支える化石燃料の消費が原因と疑われるため、生活水準を著しく下げることなくそれに対応するには、新たな技術開発が求められる。植物中の光合成による二酸化炭素固定反応の効率を高め、大気中の二酸化炭素を回収することは、その対応策の一つとして期待できる。植物中の炭素固定を担うカルビン-ベンソン回路

の中で、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 (Rubisco) は、二酸化炭素と水とリブローズ 1,5 ビスリン酸から 2 分子の 3-ホスホグリセリン酸を得る過程を触媒している。

Rubisco の触媒するこの反応は (図 1) 炭素固定の律速段階となっており、その高効率化は炭素固定反応全体の効率の向上に大きく寄与すると考えられる。

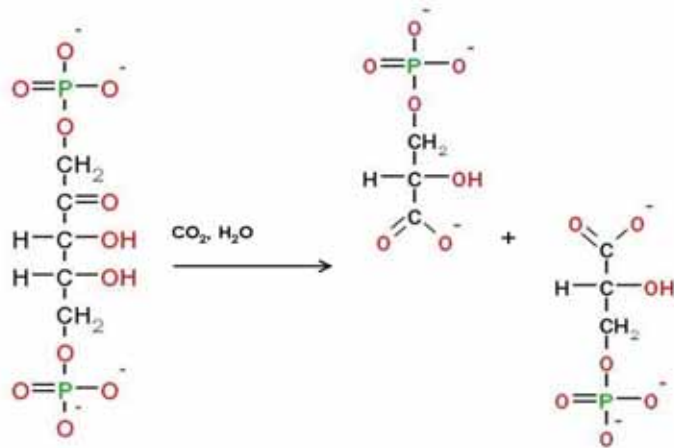


図 1 Rubisco の触媒する反応

Rubisco はその名前の示すとおり、オキシゲナーゼ反応も行っており、炭素固定の効率を高めるには、カルボキシラーゼ反応をオキシゲナーゼ反応に比べて速くする事が必要である。その尺度

には Specificity factor と呼ばれる量が使われ、その値が高いことはカルボキシラーゼ反応が相対的に速いことを意味する。Rubisco は種間でのアミノ酸配列がよく保存されており、ホウレンソウやタバコなどの陸上の高等植物ではその Specificity factor に違いはほとんどない。しかし、紅藻の一種である *Galdieria partita* の Rubisco はホウレンソウの Rubisco の 2 倍以上大きい Specificity factor を持っている。その違いのメカニズムが解明できれば、Rubisco の改良のための有益な情報を得ることが期待できる。多くの Rubisco は非活性化状態で loop6 が開いており、リン酸の結合位置が活性化状態と異なることが知られているが、

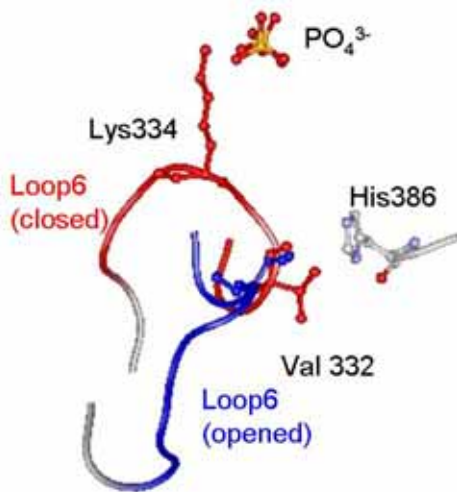


図 2 *Galdieria partita* の閉じた loop6 (赤) とタバコの開いた loop6 (青)

*Galdieria partita* の Rubisco は非活性化状態でも loop6 が閉じており、リン酸の結合位置は活性化状態と変わらない[1]。このような違いが *Galdieria partita* の Rubisco の高い Specificity factor の由来と関わっている可能性がある。本研究では loop6 の位置やリン酸の結合位置の違いなどに着目し、計算機シミュレーションの技法を用いて、ホウレンソウと *Galdieria partita* それぞれの Rubisco の相違点を調べ、高い Specificity factor の由来について考える。一般的に Rubisco のアミノ酸配列はよく保存されているが、活性中心では特によく保存されている。基質と接するアミノ残基の種類はホウレンソウと *Galdieria partita* では完全に保存されている。Rubisco の反応機構について、量子化学の方法論を用いた計算は既に存在するが[2,3]、活性中心の周りの数十原子を抜き出したもので、その計算の延長で活性中心から離れた位置でのアミノ酸

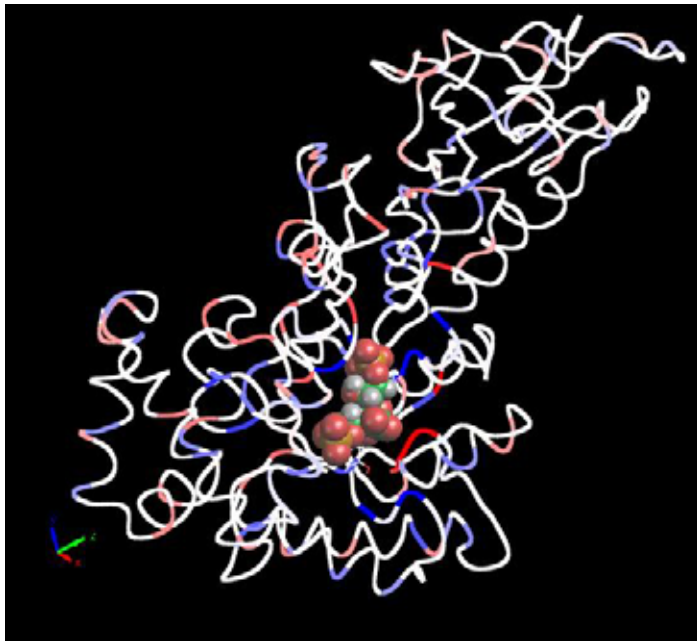


図3 フラグメント分子軌道法を用いた相互作用解析  
赤はリガンドとの斥力、青は引力を表す。

残基変異の影響を取り込むことは難しい。そこで、本研究ではタンパク質全体を量子力学的に扱うことができるフラグメント分子軌道法を用いてアミノ酸残基変異の影響を取り込んだ計算を行う。フラグメント分子軌道法はタンパク質や核酸をフラグメントに切り分け、そのフラグメントとフラグメントペアに対して量子化学計算を行うことで、系全体のエネルギーや電荷密度、フラグメント間の相互作用エネルギーなどが評価できる。特にフラグメント間相互作用エネルギー解析は、基質とアミノ酸残基または、アミノ酸残基間の相互作用エネルギーを評価することが出来る。この方法を用いて、リン酸の結合位置や loop6 の開閉の原因について考察する。

- [1] Y. Okano, E. Mizohata, Y. Xie, H. Matsumura, H. Sugawara, T. Inoue A. Yokota and Y. Kai FEBS Letters **2002**, 527, 33-36
- [2] W. A. King, J. E. Gready and T. J. Andrews, Biochemistry **1998**, 27, 15414-15422.
- [3] H. Mauser, W. A. King, J. E. Gready and T. J. Andrews, J. Am. Chem. Soc. **2001**, 123,10821-10829.