

Title	Research on Structure and Function of Chloroplast Proteins with the Aim of Plant Improvement
Author(s)	溝端, 栄一
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44254">https://hdl.handle.net/11094/44254</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	溝端栄一
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 17804 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科物質化学専攻
学位論文名	Research on Structure and Function of Chloroplast Proteins with the Aim of Plant Improvement (植物の改良を目指した葉緑体蛋白質の構造と機能の研究)
論文審査委員	(主査) 教授 甲斐 泰  (副査) 教授 桑畑 進    教授 大島 巧    教授 野島 正朋 教授 小松 満男    教授 新原 皓一    教授 城田 靖彦 教授 平尾 俊一    教授 町田 憲一    教授 田川 精一

#### 論文内容の要旨

植物の成長は、光合成を律速する葉緑体酵素 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) によって制限されている。Rubisco が光合成の律速因子になる原因は、本酵素が酵素としては劣悪な欠点を多数有していることにある。そのため、これらの欠点を改善した高機能 Rubisco を設計し、農作物に導入することができれば、農作物の生産効率を向上させることが可能となる。

Rubisco 改良の重要なターゲットの一つに、oxygenation 反応の抑制がある。しかし、これは、乾燥ストレス下において、葉緑体内で大量の活性酸素の発生を引き起こす可能性がある。活性酸素は植物細胞を破壊してしまうので、Rubisco の改良を行う際は、同時に葉緑体の活性酸素消去系を強化する必要がある。glutathione-dependent dehydroascorbate reductase (GSH-DHAR) は、還元型 glutathione を電子供与体として dehydroascorbate を ascorbate に還元する葉緑体酵素であり、活性酸素消去系で重要な役割を担っている。

本研究は、Rubisco と GSH-DHAR の改良による植物機能の向上を目指し、その実現のために必要な、これらの酵素の基礎的な構造機能相関の理解を得ることを目的として行った。

本論文は、緒言、本論三章、および総括から構成されている。緒言では、本研究の背景と目的を述べた。第 1 章では、Rubisco の fallover 現象に着目し、fallover に関与する arginine 残基を化学修飾法によって探索した。その結果、arginine 特異的の化学修飾試薬 phenylglyoxal は、ホウレンソウ Rubisco のラージサブユニットの Arg258、Arg431、Arg187 を化学修飾することを明らかにした。また、これらのアミノ酸残基が fallover のキネティクスに影響を与えることを示した。第 2 章では、緑藻 *Chlamydomonas* 由来の Rubisco の X 線結晶構造解析を行った。その結果、緑藻 Rubisco は、スモールサブユニットに特徴的な構造を持つことを明らかにした。また、緑藻 Rubisco が複数の翻訳後修飾による調節を受けている可能性を示した。第 3 章では、GSH-DHAR の X 線結晶構造解析を試みた。その結果、本酵素の結晶化条件を明らかにするとともに、回折強度データの収集に成功した。最後に総括では、本論三章を要約して本研究の結論を述べた。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、Rubisco と GSH-DHAR の改良による植物機能の向上を目指し、その実現のために必要な、これらの酵素の基礎的な構造機能相関を明らかにすることを目的としている。主な結果を要約すると以下のとおりである。

- (1) Rubisco の fallover 現象に関与するアミノ酸残基を化学修飾法により予測し、それに基づいて *Chlamydomonas* Rubisco のアミノ酸残基の改変を試みている。その結果、ラージサブユニットの 21 番、258 番、305 番のアミノ酸残基の fallover への関与を証明するとともに、fallover を殆ど示さない Rubisco を創ることに成功している。
- (2) *Chlamydomonas* Rubisco の結晶構造を決定し、緑藻 Rubisco に特徴的なスモールサブユニットの構造を明らかにしている。また、緑藻 Rubisco が複数の翻訳後修飾による調節を受けていることを見出している。
- (3) 変異型 *Chlamydomonas* Rubisco の立体構造を決定して野生型の構造と比較し、fallover 現象の原因は、触媒部位の熱振動レベルの安定性と関連していることを明らかにしている。
- (4) GSH-DHAR の結晶化条件を明らかにし、構造解析に必要な回折強度データの収集に成功している。

以上の結果を示した本論文は、二つの葉緑体酵素 Rubisco と GSH-DHAR の構造化学的理解に多大な貢献をするものである。また、本研究で得られた知見は、将来、遺伝子工学的手法により植物機能の改良を図る際の重要な知識基盤となるものである。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。