

747 超好熱始原菌由来新型 Rubisco の温度と構造の関係

(京大院工・合成生化、CREST 今中プロジェクト、*京大院理・化学)

○前田倫広、北野健*、福居俊昭、跡見晴幸、三木邦夫*、今中忠行

【目的】リブロースビスリン酸カルボキシラーゼ(Rubisco) は、リブロースビスリン酸に CO_2 を付加する反応を触媒し、炭酸固定(カルビン回路)の鍵酵素として知られている。

我々は、超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 由来の Rubisco (*Tk*-Rubisco) が、新規な十量体(五角形)構造を有することを明らかにした。しかし、KOD1 株の生育温度を含めた高温下での *Tk*-Rubisco の構造情報は得られていなかった。そのため、本研究では *Tk*-Rubisco の立体構造が温度によりどのように変化するかを明らかにすることとした。

【方法及び結果】精製した *Tk*-Rubisco に対し、温度を変化させて、ゲルろ過クロマトグラフィー、Circular Dichroism、Differential Scanning Calorimetry 解析を行った。その結果、本酵素は、高温下でも十量体構造を維持し、また、温度に依らず安定した立体構造を保持することが明らかになった。このことは、現在進めている X 線立体構造解析の結果が、*Tk*-Rubisco の高温下での立体構造をも反映し得ることを強く示唆している。

Relationship between temperature and structure of a novel Rubisco from a hyperthermophilic archaeon

○Norihito Maeda, Ken Kitano*, Toshiaki Fukui, Haruyuki Atomi, Kunio Miki*, Tadayuki Imanaka

(Dept. of Synth. Chem. & Biol. Chem., Grad. School Eng., Kyoto Univ., CREST Imanaka Project

*Dept. of Chemistry, Grad. School Science., Kyoto Univ.)

【Key Words】 Rubisco, Archaea, Hyperthermophile, *Thermococcus*, decamer, pentagon

748 構造的に新規な biotin 依存型 carboxylase の解析

(京大院工・合成生化、CREST 今中プロジェクト)

○跡見晴幸、角谷亮人、Naeem Rashid、今中忠行

【目的】HD-1 株は油田土壌由来の細菌であり、 H_2 をエネルギー源とした独立栄養条件で、 CO_2 を固定し脂肪酸及びアルデヒドを経てアルカンを生合成する可能性が示唆されている。本研究ではアルカン生合成に関与すると考えられる脂肪酸生合成系の律速酵素である acetyl-CoA carboxylase の生化学的機能解析を目的とした。

【方法及び結果】HD-1 株の無細胞抽出液に対して、Streptavidin/biotin の特異的な親和性を利用した変則的な Western blot 解析を行った結果、HD-1 株には少なくとも 3 種類の biotin 化タンパク質が存在することがわかった。その内の 2 種は 130kDa、120kDa と非常に分子量の大きいものであった。それぞれの N 末端アミノ酸配列を決定し、120kDa の酵素をコードする遺伝子 (*hd-acc*) を単離した。*hd-acc* の塩基配列を決定した結果、単一の ORF (3,462bp) に大腸菌の *accC* (biotin carboxylase), *accB* (biotin carboxyl carrier protein), *accAD* (carboxyltransferase) と相同的な 3 つの領域が存在することがわかった。単一の ORF に上記の 3 つの機能がコードされている例は真核生物にしか知られておらず、原核生物では初めての例となる。*hd-acc* を大腸菌内で過剰発現し、発現産物の生化学的機能解析を行った。

Characterization of a structurally novel biotin-dependent carboxylase.

○Haruyuki Atomi, Akito Kadotani, Naeem Rashid, Tadayuki Imanaka (Dept. of Synth. Chem. & Biol. Chem., Grad. School Eng., Kyoto Univ., CREST Imanaka Project)

【Key words】 biotin-dependent carboxylase, acetyl-CoA carboxylase