

平成 21 年 6 月 8 日現在

研究種目：若手研究 (A)

研究期間：2006～2008

課題番号：18688021

研究課題名 (和文) 分子進化に基づいた光合成炭素固定酵素ルビスコの機能改良とその発現植物体の創成

研究課題名 (英文) Improvement of CO₂-fixing enzyme, RuBisCO, based on molecular evolution to enhance photosynthesis of plant.

研究代表者

蘆田 弘樹 (Ashida Hiroki)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教

研究者番号：50362851

研究成果の概要：ルビスコ祖先タンパク質とルビスコの比較解析から、両酵素で共通な触媒残基を明らかにした。これを基に、祖先タンパク質にルビスコ触媒必須残基を導入し、試験管内でルビスコへの分子進化に成功した。紅藻ルビスコが持つ高 CO₂ 識別残基をラン藻ルビスコに導入し、CO₂ 識別能を 20% 高めることに成功した。さらに、この残基をタバコルビスコに導入したタバコ形質転換体を作成した。紅藻ルビスコ遺伝子導入タバコの解析から、高機能外来性ルビスコの葉緑体機能発現の問題点を明らかにし、その解決策を導き出した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
18 年度	7,000,000	2,100,000	9,100,000
19 年度	5,800,000	1,740,000	7,540,000
20 年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	15,800,000	4,740,000	20,540,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：植物、光合成、CO₂ 固定、ルビスコ、分子進化、紅藻

1. 研究開始当初の背景

光合成炭素固定酵素ルビスコは、カルビンサイクルにおいてリブローズビスリン酸に CO₂ を固定するカルボキシラーゼ反応を触媒する、ラージサブユニット 8 個とスモールサブユニット 8 個から構成される光合成の鍵酵素である。しかしながら、CO₂ と O₂ の間での誤認識に起因して触媒してしまう O₂ 固定反応 (オキシゲナーゼ反応) が原因となる低 CO₂ 識別能力や極端に低いカルボキシラーゼ反応速度といった劣悪な性質から、植物光合成を律速している。これらのことから、植物光合成 CO₂ 固定効率の向上のためのターゲ

ットとしてルビスコの機能改良が行われてきたが、成功した例は報告されていなかった。これは、ルビスコの CO₂ 識別残基や CO₂ 固定能獲得に至った分子進化過程が明らかでないために、機能改良が無作為な変異導入によって行われてきたことが原因であった。本研究者は、研究開始前にルビスコが CO₂ 固定能を獲得する前のメチオニン回収経路でエノラーゼとして機能するルビスコ祖先タンパク質を、枯草菌などの細菌に発見していた。祖先タンパク質は、触媒部位が存在するルビスコラージサブユニットと相同性を示し、活性中心を構成するルビスコ触媒必須残基の

一部を保存している。また、ルビスコの進化上で最も高い CO₂ 識別能を示す紅藻ルビスコに注目していた。これらのタンパク質は、ルビスコの劣悪な性質の分子機構を明らかにし、分子進化に基づいて機能改良を行うための好材料であると考えられた。

また、植物光合成効率向上のために、既に地球上に現存する紅藻などが有する高い CO₂ 識別能を示す外来性ルビスコの植物葉緑体での機能発現も試みられてきたが、成功しなかった。ルビスコによる光合成改良を考える上で、改良型ルビスコおよび外来性ルビスコの葉緑体機能発現は重要なステップとなる。このため、外来性ルビスコの植物葉緑体における機能発現の問題点を明らかにし、解決することが必要であると考えられた。

2. 研究の目的

(1)ルビスコの劣悪な性質の分子機構の解明研究では、なぜルビスコが O₂ 反応性を示すのか、その原因は、祖先タンパク質からルビスコへの分子進化過程に隠されていると予想した。このような経緯から、ルビスコがなぜ劣悪な酵素特性を獲得するに至ったかを、祖先タンパク質とルビスコの構造活性相関比較研究と祖先タンパク質からルビスコへの試験管内進化研究を行い、分子進化過程を解析することで明らかにすることを目的とした。また、紅藻ルビスコが有する高い CO₂ 識別能に関与すると予想された触媒ループ配位最適化構造に注目し、この構造を植物ルビスコに導入することによる機能改良の可能性を解析することとした。

(2)外来性ルビスコの葉緑体機能発現研究においては、高い CO₂ 識別能を示す紅藻ルビスコを植物葉緑体で機能発現させる場合の問題点を明らかにし、その解決方法の可能性を検討することを目的とし、研究を行った。

3. 研究の方法

(1)ルビスコの劣悪な性質の分子機構の解明研究

様々なルビスコ祖先タンパク質が、メチオン回収経路のエノラーゼとしての活性を有しているかを明らかにするために、系統樹上に分布する7細菌由来のルビスコ祖先大腸菌リコンビナントタンパク質発現系を構築し、発現・精製を行い、エノラーゼ活性測定を行った。活性測定は、カップリング酵素を用いた分光法により行った。

祖先タンパク質とルビスコで保存されている残基にアミノ酸置換を導入し、活性に対する影響を分光法によるエノラーゼ活性測定を行うことにより解析した。

祖先タンパク質の中で、編性嫌気細菌の祖先タンパク質は、ルビスコの触媒必須 19 残基と触媒ループにおいて、19 残基中 Lys177

がアスパラギンに置換され、触媒ループのヒンジ部分 Gly336、Gly337 がトリプトファン、グルタミン酸に置換されている以外は全て保存されていた。この事実から、祖先タンパク質からルビスコへの試験管内進化を行うために、保存されていない2残基をルビスコ型に置換した変異祖先タンパク質を作製し、ルビスコ CO₂ 固定能の獲得の有無を、分光法によるルビスコ CO₂ 固定活性測定法に従い、解析した。

高い CO₂ 識別能を示す紅藻ルビスコと植物・ラン藻ルビスコのアミノ酸配列と立体構造比較から、紅藻ルビスコにおいて CO₂ 識別に関与すると考えられる構造を見出した。この構造は、紅藻ルビスコにおいて CO₂ 識別に関与する触媒ループを最適な位置に配置するための分子内相互作用で、332 番目のバリンと 386 番目のグルタミンの間の水素結合であった。植物・ラン藻ルビスコでは、386 番目がヒスチジンに置換されているために、この触媒ループ最適化構造を形成することができない。このことから、この残基を紅藻ルビスコ型に置換したラン藻ルビスコを大腸菌リコンビナントタンパク質として作製し、野生型のもの CO₂ 識別能力を比較した。CO₂ 識別能力の測定は、カルボキシラーゼ反応とオキシゲナーゼ反応の生成物比を HPLC により分離・定量することで測定した。また、タバコルビスコにも触媒ループ配位最適化構造を導入するために、同様のアミノ酸置換が生じるように、タバコ葉緑体ゲノム上のルビスコ遺伝子に変異を導入した。

(2)外来性ルビスコの葉緑体機能発現研究

高い CO₂ 識別能を示す紅藻ルビスコのラージとスモールサブユニット遺伝子をオペロンとして、タバコ葉緑体ゲノム上の *rbcL* と *accD* 間に葉緑体形質転換により導入した形質転換タバコを作製した。

4. 研究成果

(1)ルビスコの劣悪な性質の分子機構の解明研究

多数の細菌がルビスコ祖先タンパク質遺伝子を有しているが、枯草菌でのみメチオン代謝におけるエノラーゼであることが解析されていた。そこで、様々な生物種の祖先タンパク質の大腸菌リコンビナントタンパク質を用いて、エノラーゼ活性の有無を解析した。その結果、系統樹で枯草菌と同じクレードに属する他の *Bacillus* 属、ラン藻の祖先タンパク質ではエノラーゼ活性が検出されたが、他のクレードの祖先タンパク質は活性を示さなかった。このことから、ルビスコ祖先タンパク質は、エノラーゼ、ルビスコだけではなく、他の機能を持つように多様に分子進化していることを明らかにした (表 1)。次に祖先タンパク質からルビスコへの分子

表1 ルビスコ祖先タンパク質のエノラーゼ活性

生物種	crade	Relative activity (%)
<i>B. subtilis</i>	α1	100
<i>B. licheniformis</i>	α1	0.5
<i>M. aeruginosa</i>	α1	39.1
<i>R. rubrum</i>	α2	not detected
<i>C. tepidum</i>	γ	not detected
<i>R. palustris</i>	γ	not detected
<i>B. bronchiseptica</i>	β	not detected

進化過程を解明するために、両酵素で保存されている残基の機能解析を行った。アミノ酸置換導入実験から、祖先タンパク質において保存されているルビスコカルボキシラーゼ触媒必須残基 Lys175、Lys201、Asp203、Glu204 が、祖先タンパク質のエノラーゼ活性にも必須であることが明らかになった。また、ルビスコにおいても機能同定されていなかった Lys134 が両酵素の機能発揮のための触媒中心を最適にフォールディングするために必須な残基であることが明らかになった。これらのことから、祖先タンパク質とルビスコは多くの共通残基を用いて、各々の反応を触媒していることが示された。また、これは祖先タンパク質のX線結晶構造解析結果における、全体的な構造類似性と解析を行った残基の配置類似性からも示唆された。このように祖先タンパク質はルビスコと多くの共通点を持つが、カルボキシラーゼ反応を触媒することができないことから、保存されていないルビスコ触媒必須残基を祖先タンパク質に導入することで、ルビスコへ人工進化させることができると予想した。そこで、祖先タンパク質で最もルビスコ触媒必須残基を保存している編性嫌気細菌の祖先タンパク質で唯一置換されていた Asn177 と Trp336、Glu337 をルビスコ型に置換した変異祖先タンパク質を大腸菌で発現させ、精製し、ルビスコカルボキシラーゼ活性測定を行った。その結果、Asn177 への単独置換では

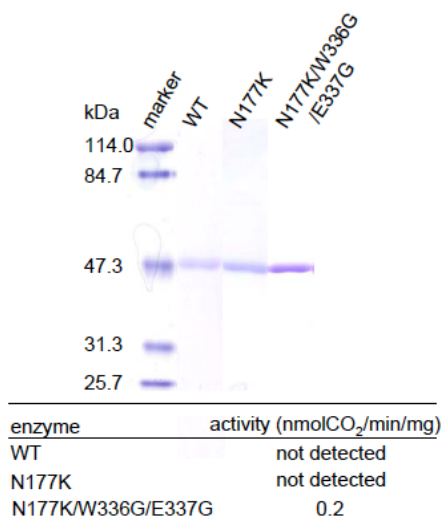


図1 アミノ酸置換による祖先タンパク質のルビスコCO₂固定活性獲得

ルビスコ活性を獲得できなかったが、Asn177/Trp336/Glu337 の三重置換により、非常に低いレベルであるが、カルボキシラーゼ活性を獲得させることができた (図1)。この結果は、祖先タンパク質からルビスコへの試験管内進化に成功したことを示唆しており、得られた変異祖先タンパク質は、ルビスコの原型であると期待される。このように、本研究により、ルビスコが劣悪な特性を獲得してしまった経緯を解析するための基盤ができあがった。今後、変異祖先タンパク質のルビスコ活性獲得の詳細な解析と酵素特性を決定し、ルビスコ原型の O₂ 反応性を明らかにする。また、これを開始材料とし、さらに試験管内でルビスコ活性を高めた場合の CO₂ 識別能、O₂ 反応と置換残基の関係を明らかにし、ルビスコに劣悪な特性を課している残基特定を行っていく。

紅藻ルビスコにおいて高い CO₂ 識別能を発揮するための触媒ループ最適配位構造に関与すると予想されたラージサブユニット上の386番目のグルタミンは植物やラン藻ルビスコではヒスチジンに置換されていた。そこで、ラン藻ルビスコのこの残基を紅藻型に置換した。変異ラン藻ルビスコでは野生型と比較して CO₂ 識別能力が 16%増加し、CO₂ に対する K_m 値が 35%低下した (表2)。

表2 ラン藻ルビスコへの紅藻ルビスコ高CO₂識別残基導入効果

enzyme	K _m (CO ₂) μM	CO ₂ 識別能(%)
WT	119	100
H386Q	77	116

このように、ラン藻ルビスコにおいてこの残基を紅藻型に置換することで、カルボキシラーゼ反応効率を高めることに成功した。この結果は、この残基が紅藻ルビスコにおける高CO₂識別能に関与していることを示唆するとともに、同様のアミノ酸置換による植物ルビスコ改良の可能性を示した。そこで、タバコ葉緑体ゲノムにコードされるラージサブユニット遺伝子に386番目のヒスチジンを紅藻型のグルタミンに置換する変異導入を葉緑体形質転換法により導入した。形質転換後、変異導入タバコのルビスコラージサブユニット遺伝子配列を解読した結果、正しく変異が導入されていることがわかった。現在、選抜培地において、全ての葉緑体ゲノムを変異型へ置換する処理を行っている最中であり、ホモプラズミック形質転換体が得られ次第、変異ルビスコの酵素特性、形質転換タバコの光合成特性を解析する予定である。

(2) 外来性ルビスコの葉緑体機能発現研究

地球上で最も高い CO₂ 識別能力を示す紅藻ルビスコのラージとスモールサブユニット遺伝子をオペロンとしてタバコ葉緑体上の *rbcL* と *accD* 遺伝子間に葉緑体形質転換法により導入し、紅藻ルビスコタバコを作製し

た。選抜培地上で3回再分化処理を行い、遺伝子導入型葉緑体ゲノムがほぼホモプラズミックの状態であることをサザンブロッティングにより確認した。紅藻ルビスコ-タバコは土で通常大気条件下では生育することができず、高CO₂濃度下で生育が可能であった(図2)。

紅藻ルビスコ-タバコの内在性のタバコルビスコ量を解析した結果、野生型と比較して著しく低

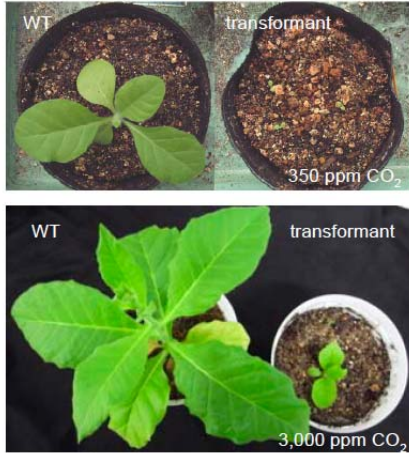


図2 紅藻ルビスコ遺伝子導入タバコの生育特性

下しており、これが高CO₂を生育に要求する原因であった。紅藻ルビスコ-タバコにおける紅藻ルビスコのラージサブユニットとスモールサブユニットの葉可溶性タンパク質画分における発現をウエスタンにより解析した結果、スモールサブユニットは検出できたが、ラージサブユニットは検出することができなかった。ラージサブユニットは不溶性画分では検出することができたことから、紅藻ルビスコは転写・翻訳は行われるものの、翻訳後の会合過程に問題があると予想された。さらに、可溶性画分に存在するスモールサブユニットの存在形態を解析した結果、内在性タバコルビスコのラージサブユニットとキメラルビスコを形成していることが明らかになった(図3)。これらのことから、内在性タバコラージサブユニットに紅藻スモールサブ

ユニットが奪われることが、紅藻ルビスコ機能発現の問題点であると考えられた。

また、植物葉緑体に外来性である紅藻ルビスコ会合のためのシャペロンが存在しない可能性が考えられた。これらの可能性を検証すべく、現在、内在性タバコルビスコ発現を抑制した状態での紅藻ルビスコ発現が可能な形質転換タバコの作製を行っている。また、

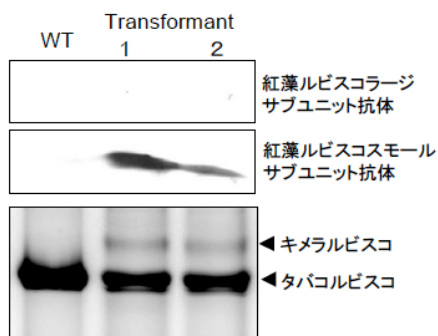


図3 紅藻ルビスコ遺伝子導入タバコにおける紅藻ルビスコの発現様式

ラン藻においてルビスコ会合に特化したシャペロンが報告されたことから、外来性ルビスコのモデルとして、ラン藻ルビスコ遺伝子とシャペロン遺伝子を共発現させることによる、外来性ルビスコ機能発現研究にも着手した。今後、これらの研究により植物葉緑体における外来性ルビスコ機能発現が可能となると期待される。さらに、今回、タバコルビスコラージと紅藻ルビスコスモールサブユニットのキメラルビスコ形成が確認された。これまでに、植物ルビスコにおけるキメラ酵素形成に関する報告はないが、ラン藻ルビスコにおいてCO₂識別能が高いルビスコスモールサブユニットへの置換によりCO₂識別能が向上することが報告されている。このことから、本キメラルビスコもCO₂識別能が向上している可能性が考えられ、今後の解析に期待が持たれる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

- ① Yohtaro Saito, Hiroki Ashida, Tomoko Sakiyama, Nicole Tandeau de Marsac, Antoine Danchin, Agnieszka Sekowska, and Akiho Yokota, Structural and functional similarities between a RuBisCO-like protein from *Bacillus subtilis* and photosynthetic RuBisCO. *J. Biol. Chem.* 284, 13256–13264 (2009) 査読有り
- ② Haruka Tamura, Hiroki Ashida, Shogo Koga, Yohtaro Saito, Tomonori Yadani, Yasushi Kai, Tsuyoshi Inoue, Akiho Yokota and Hiroyoshi Matsumura, Crystallization and preliminary X-ray analysis of 2,3-diketo-5-methylthiopentyl-1-phosphate enolase from *Bacillus subtilis*. *Acta Crystallographica Section F* 65, 147–50 (2009) 査読有り
- ③ Hiroki Ashida, Yohtaro Saito, Toshihiro Nakano, Nicole Tandeau de Marsac, Agnieszka Sekowska, Antoine Danchin and Akiho Yokota, RuBisCO-like proteins as the enolase enzyme in the methionine salvage pathway: Functional and evolutionary relationships between RuBisCO-like proteins and photosynthetic RuBisCO. *J. Exp. Bot.* 59, 1543–54 (2008) 査読有り
- ④ Kenji Nishimura, Taro Ogawa, Hiroki Ashida, and Akiho Yokota. Molecular mechanisms of RuBisCO biosynthesis in higher plants. *Plant biotech.* 25, 285–290 (2008) 査読無し
- ⑤ Hiroki Ashida, Yohtaro Saito, Chojiro Kojima and Akiho Yokota. Enzymatic

- characterization of
5-methylthioribulose-1-phosphate
dehydratase of the methionine salvage
pathway from *Bacillus subtilis*. *Biosci
Biotechnol Biochem.* **72**, 959-967 (2008) 査
読有り
- ⑥ Haruka Tamura, Yohtaro Saito, **Hiroki
Ashida**, Tsuyoshi Inoue, Yasushi Kai, Akiho
Yokota, and Hiroyoshi Matsumura. Crystal
structure of 5-methylthioribose 1-phosphate
isomerase product complex from *Bacillus
subtilis*: Implications for catalytic mechanism.
Protein Sci. **17**, 126-35 (2007) 査読有り
- ⑦ Yohtaro Saito, **Hiroki Ashida**, Chojiro
Kojima, Haruka Tamura, Hiroyoshi
Matsumura, Yasushi Kai, Akiho Yokota.
Enzymatic Characterization of
5-Methylthioribose 1-Phosphate Isomerase
from *Bacillus subtilis*. *Biosci Biotechnol
Biochem.* **71**, 2021-8 (2007) 査読有り
- ⑧ Alyssa Carré-Mlouka, Annick Méjean,
Philippe Quillardet, **Hiroki Ashida**, Yohtaro
Saito, Akiho Yokota, Isabelle Callebaut,
Agnieszka Sekowska, Elke Dittmann,
Christiane Bouchier, and Nicole Tandeau de
Marsac. A New Rubisco-like Protein Coexists
with a Photosynthetic Rubisco in the
Planktonic Cyanobacteria *Microcystis*. *J. Biol.
Chem.* **281**, 24462-24471 (2006) 査読有り
[学会発表] (計 20 件)
- ① Yohtaro Saito, Nana Ninomiya, **Hiroki
Ashida**, and Akiho Yokota (*Nara Institute of
Science and Technology (NAIST), Graduate
School of Biological Sciences, 8916-5
Takayama, Ikoma, Nara 630-0101, Japan*)
Improvement of Cyanobacterial Ribulose
1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase by
Introducing the Latch Structure Involved in
CO₂/O₂ Specificity in red algal RuBisCO. The
4th INDONESIA BIOTECHNOLOGY
CONFERENCE, 5th-7th Aug. 2008.
- ② Toshihiro Nakano, Yohtaro Saito, **Hiroki
Ashida** and Akiho Yokota (*Nara Institute of
Science and Technology (NAIST), Graduate
School of Biological Sciences, 8916-5
Takayama, Ikoma, Nara 630-0101, Japan*)
Analysis of common conserved residues
between *Bacillus* RuBisCO-like protein and
photosynthetic RuBisCO. The 4th
INDONESIA BIOTECHNOLOGY
CONFERENCE, 5th-7th Aug. 2008
- ③ 中野寿宏、**蘆田弘樹**、齋藤洋太郎、横田
明穂 メチオニン再生経路の酵素群による
リボース新規代謝経路 日本農芸化学
会 2008 年度大会 名城大学天白キャン
パス 2008 年 3 月 27 日
- ④ 齋藤洋太郎¹、**蘆田弘樹**¹、Agnieszka
Sekowska²、Antoine Danchin²、横田明穂¹
(¹奈良先端大・バイオ、²パスツール研)
枯草菌 RuBisCO-like protein と光合成
RuBisCO に共通する構造と機能 第 49 回
日本植物生理学会年会 札幌 2008 年 3
月 20 日
- ⑤ **蘆田弘樹**、横田明穂 RuBisCO-like protein
の解析から見えてきた RuBisCO 誕生の分
子機構 日本植物生理学会第 49 回年会シ
ンポジウム 植物の生産性とカルビン回
路「カルビンサイクル研究の新展開」2008
年 3 月 22 日 ゲストスピーカー
- ⑥ **蘆田弘樹** RuBisCO-like protein の研究か
ら光合成 CO₂ 固定酵素 RuBisCO の分子進
化の謎にせまる 2008 年、3 月 10 日-11
日 岡崎コンファレンスセンター 分子
研研究会「分子の視点から見る光合成」招
待講演
- ⑦ 田村はるか、**蘆田弘樹**、齊藤洋太郎、井
上豪、横田明穂、甲斐泰、松村浩由 (阪大
院工、奈良先端大バイオ、福井工大) メチ
オニン回収経路で機能する枯草菌由来
RLP の X 線結晶構造解析 日本結晶学会
2007 年度年会および総会、東京、2007 年
12 月 1-2 日
- ⑧ 小村泰浩、松村浩由、**蘆田弘樹**、石田宏
幸、上野剛、溝端栄一、井上豪、牧野周、
横田明穂、前忠彦、甲斐泰 (阪大院工・奈
良先端大院分子生物学専攻・東北大院農)
イネ由来 RuBisCO と紅藻由来 RuBisCO の
硫酸イオン複合体に見られた立体構造の
違い 日本結晶学会 2007 年度年会および
総会、東京、2007 年 12 月 1-2 日
- ⑨ Haruka Tamura, Yohtaro Saito, **Hiroki
Ashida**, Tsuyoshi Inoue, Yasushi Kai, Akiho
Yokota, and Hiroyoshi Matsumura
(Department of Applied Chemistry, Osaka
University; Department of Molecular biology,
Nara Institute of Science and Technology
(NAIST); CREST (Sosho Project), JST)
Crystal structure of 5-methylthioribose
1-phosphate isomerase product complex from
Bacillus subtilis: Implications for catalytic
mechanism. The 8th Conference of the Asian
Crystallographic Association, AsCA'07 第
8 回アジア結晶学会連合会議、台北、4th-7th
Nov.2007
- ⑩ Yasuhiro Komura, Hiroyoshi Matsumura,
Hiroyuki Ishida, **Hiroki Ashida**, Eiichi
Mizohata, Tsuyoshi Inoue, Amane Makino,
Tadahiko Mae, Akiho Yokota, Yasushi Kai
(Department of Applied Chemistry, Osaka
University; Department of Molecular biology,
Nara Institute of Science and Technology
(NAIST); Department of Applied Plant
Science; Tohoku University, CREST (Sosho
Project), JST) STRUCTURAL DIFFERENCE

BETWEEN RICE AND RED ALGA RUBISCO COMPLEXED WITH SULFATE. The 8th Conference of the Asian Crystallographic Association, AsCA'07 第8回アジア結晶学会連合会議、台北、4th-7th Nov. 2007

- ⑪ Yohtaro SAITO, **Hiroki ASHIDA**, Agnieszka SEKOWSKA, DANCHIN, and Akiho YOKOTA Evolutionary potential of RuBisCO-like protein in *Bacillus subtilis*: Interaction with transition-state analogue of RuBisCO. 14th International congress of photosynthesis, Glasgow, UK, 22nd-27th, Jul. 2007 (poster)
- ⑫ Nana NINOMIYA, **Hiroki ASHIDA**, and Akiho YOKOTA Improvement of cyanobacterial RuBisCO by introducing the latch structure involved in high affinity for CO₂ in red algal RuBisCO. 14th International congress of photosynthesis, Glasgow, UK, 22nd-27th, Jul. 2007 (poster)
- ⑬ **Hiroki ASHIDA** and Akiho YOKOTA, RuBisCO-like proteins, 20, 21 July 2007, Rothamsted Research, Harpenden, Herts, UK *Research Frontiers with Rubisco - the "Elixir of Life" in the Biosphere*. 14th International Congress of Photosynthesis satellite Meeting, guest speaker
- ⑭ 二宮奈々、**蘆田弘樹**、横田明穂 (奈良先端大・バイオ) 高 CO₂ 親和性を示す紅藻 RuBisCO が有するラッチ構造のラン藻 RuBisCO への導入 2007 年度松山年会、愛媛大学城北キャンパス 2007 年 3 月 28 日
- ⑮ 中野 寿宏、齋藤 洋太郎、**蘆田 弘樹**、横田 明穂、枯草菌 RuBisCO-like protein と RuBisCO の相互構造活性相関 日本農芸化学会 2007 年度大会、東京農業大学世田谷キャンパス、2007 年 3 月 26 日
- ⑯ **蘆田弘樹**、横田明穂 (奈良先端大、バイオサイエンス) 光合成カルビン回路完成の分子の基盤、日本光合成研究会第 6 回ワークショップセミナー New perspective of photosynthesis research 光合成研究の新たな潮流 構造とゲノム そして未来、2006 年 10 月 12、13 日、大阪大学 ゲストスピーカー
- ⑰ **蘆田弘樹**、横田明穂 (奈良先端大、バイオサイエンス) ゲノムから見たカルビン回路完成の分子機構、日本植物学会第 70 回大会、シンポジウムゲノムから見た光合成機能の再発見、2006 年 9 月 13~16 日、熊本 ゲストスピーカー
- ⑱ Haruka TAMURA, Hiroyoshi Matsumura, Yohtaro SAITO, Tsuyoshi INOUE, **Hiroki ASHIDA**, Akiho YOKOTA, and Yasushi KAI, X-ray structure of

methylthioribose-1-phosphate isomerase from *Bacillus subtilis* reveals a hydride transfer mechanism of catalysis and a structure function relationship with other homologues. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan, Jun. 22 , 2006 (poster)

- ⑲ Yohtaro SAITO, Agnieszka SEKOWSKA, **Hiroki ASHIDA**, Antoine DANCHIN, and Akiho YOKOTA, Structure-function relationship between RuBisCO-like protein of *Bacillus subtilis* and photosynthetic RuBisCO. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress , Kyoto, Japan, Jun. 19, 2006 (poster)
- ⑳ **Hiroki Ashida**, Tomoko Sakiyama, Yohtaro Saito, Nicole Tandeau de Marsac and Akiho Yokota, Molecular evolution of RuBisCO-like proteins, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan, Jun. 19, 2006 (poster)

〔図書〕 (計 2 件)

- ① **蘆田弘樹** Rubisco satellite meeting Reaserch Frontiers with Rubisco, the "Elixir of Life" in the Biospher に参加して 光合成研究会 第 1 7 巻 第 3 号 2007 年 1 2 月 p 84-86
- ② **蘆田弘樹**、横田明穂 プラントミメティックスー植物に学ぶー 第 2 章 エネルギーと代謝 第 4 節 光合成 CO₂ 固定酵素 RuBisCO pp. 240~247 (2006)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: 変異型のリブローズ-1, 5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼおよびその利用

発明者: 蘆田弘樹、横田明穂

権利者: 安田國雄

種類: 特許

番号: 特願 2007-028608

出願年月日: 平成 19 年 2 月 7 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

蘆田 弘樹 (Ashida Hiroki)

奈良先端科学気出大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教

研究者番号: 50362851