

非光合成細菌の枯草菌が持つリブローズ 1,5 ビスリン酸カルボキシラーゼオキシゲナーゼ (RuBisCO)**様タンパク質と光合成生物の RuBisCO との構造活性相関**

光合成で CO₂ を固定する酵素リブローズ 1,5 ビスリン酸 (RuBP) カルボキシラーゼオキシゲナーゼ (RuBisCO) とアミノ酸配列において相同性を持つ RuBisCO 用タンパク質 (RLPs) は細菌、古細菌、真核生物に広く存在する。系統解析において RuBisCO と RLPs は form I、II、III (RuBisCO) と form IV (RLPs) のように 4 つのクレードに分かれ、form IV の RLPs では CO₂ 固定に必須な 19 アミノ酸残基の内 1~11 残基が別なアミノ酸残基に置換されている。唯一測定されている RLPs の活性は 2,3-ダイケト 5-メチルチオペンチル 1-リン酸 (DK-MTP-1-P) エノラーゼ反応で枯草菌 *Bacillus subtilis* と *Microcystis aeruginosa*、*Geobacillus kaustophilus* の RLP で確認できた。一方で *Rhodospirillum rubrum* と *Rhodopseudomonas palustris*、*Chlorobium tepidum*、*Bordetella bronchiseptica* の RLP では DK-MTP-1-P エノラーゼが検出できなかった。*B. subtilis* RLP の DK-MTP-1-P エノラーゼは RuBisCO と同様に Mg²⁺ イオンを必要とし、CO₂ で活性化された。RuBisCO のエノラーゼ反応に必須である 4 つのアミノ酸残基 Lys¹⁷⁵ と Lys²⁰¹、Asp²⁰³、Glu²⁰⁴ は *B. subtilis* RLP でも保存されていて、DK-MTP-1-P エノラーゼ反応にも必須であった。DK-MTP-1-P エノラーゼで保存されている Lys¹²³ も DK-MTP-1-P エノラーゼ反応に必須であった。RuBisCO の基質である RuBP のアナログが DK-MTP-1-P エノラーゼ活性に及ぼす影響から、RuBisCO と *B. subtilis* RLP の活性部位の構造を比較した。RuBP カルボキシレーション反応の遷移状態アナログは DK-MTP-1-P エノラーゼ活性を競合的に阻害し、K_i は 103 μM であった。RuBisCO の基質 RuBP と生成物ホスホグリセリン酸は弱く DK-MTP-1-P エノラーゼ活性を競合的に阻害した。これらの結果から *B. subtilis* RLP の DK-MTP-1-P エノラーゼ反応においては RuBisCO の RuBP エノラーゼ反応と共通のアミノ酸を同様に使っていることが示唆された。

Structural and Functional Similarities between a Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase/ Oxygenase (RuBisCO)-like Protein from *Bacillus subtilis* and Photosynthetic RuBisCO

The sequences classified as genes for various ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP) carboxylase/oxygenase (RuBisCO)-like proteins (RLPs) are widely distributed among bacteria, archaea, and eukaryota. In the phylogenetic tree constructed with these sequences, RuBisCOs and RLPs are grouped into four separate clades, forms I–IV. In RuBisCO enzymes encoded by form I, II, and III sequences, 19 conserved amino acid residues are essential for CO₂ fixation; however, 1–11 of these 19 residues are substituted with other amino acids in form IV RLPs. Among form IV RLPs, the only enzymatic activity detected to date is a 2,3-diketo-5-methylthiopentyl 1-phosphate (DK-MTP-1-P) enolase reaction catalyzed by *Bacillus subtilis*, *Microcystis aeruginosa*, and *Geobacillus kaustophilus* form IV RLPs. RLPs from *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Chlorobium tepidum*, and *Bordetella bronchiseptica* were inactive in the enolase reaction. DK-MTP-1-P enolase activity of *B. subtilis* RLP required Mg²⁺ for catalysis and, like RuBisCO, was stimulated by CO₂. Four residues that are essential for the enolization reaction of RuBisCO, Lys¹⁷⁵, Lys²⁰¹, Asp²⁰³, and Glu²⁰⁴, were conserved in RLPs and were essential for DK-MTP-1-P enolase catalysis. Lys¹²³, the residue conserved in DK-MTP-1-P enolases, was also essential for *B. subtilis* RLP enolase activity. Similarities between the active site structures of RuBisCO and *B. subtilis* RLP were examined by analyzing the effects of structural analogs of RuBP on DK-MTP-1-P enolase activity. A transition state analog for the RuBP carboxylation of RuBisCO was a competitive inhibitor in the DK-MTP-1-P enolase reaction with a K_i value of 103 μM. RuBP and D-phosphoglyceric acid, the substrate and product, respectively, of RuBisCO, were weaker competitive inhibitors. These results suggest that the amino acid residues utilized in the *B. subtilis* RLP enolase reaction are the same as those utilized in the RuBisCO RuBP enolization reaction.

参考論文

Saito et al., *J. Biol. Chem.*, **284**, 13256-13264 (2009)