

## 2014年度 博士研究員研究成果報告書

氏名 (所属研究室) 菊谷 早絵 (理工学研究科松田研究室)  
研究 課 題 海洋性珪藻ピレノイドの生化学的構造と機能  
研究 期 間 2015年4月1日～2016年3月31日  
研究 成 果 概 要

珪藻類をはじめとする多くの微細藻類は、海水中で効率よく無機炭素を取り込むためにCO<sub>2</sub>濃縮機構 (CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism: CCM)を有している。ピレノイドは、葉緑体内に存在するribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO)を多量に含むタンパク質顆粒であり、CCMにおいて重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、これまでに珪藻類のピレノイドが単離されたことはなく、RubisCO, 2つのβ型carbonic anhydrase (PtCA1 及びPtCA2) 及びfructose-1,6-bisphosphate aldolaseがピレノイドに局在することがわかっているのみで、ピレノイドの生化学的構造及び機能についてはほとんどわかっていなかった。そこで、本研究では海洋性珪藻*Phaeodactylum tricornutum*のピレノイドの機能解明を目的とし、新規ピレノイドタンパク質の探索及び機能同定を目的として研究を行った。

緑藻*Chlamydomonas reinhardtii*のピレノイド近傍に局在するタンパク質の1つにLCIBがあり、CCMにおいて重要な役割を担っていることがわかっている。そのホモログが珪藻にも存在することがわかっていた。そこで、*P. tricornutum*の4つのLCIBホモログの機能解析を行った。これまでに、LCIBホモログのうちの一つPt43233はピレノイド貫通型チラコイドに局在し、*P. tricornutum*における高親和性光合成に関与することが示唆されていたものの、そのタンパク質の機能は未解明であった。このLCIBのホモログの配列の解析により、システイン、グリシン及びヒスチジンを多く保存した領域が存在することから、これらをCGH-rich familyと名付けた。大腸菌による組換えタンパク質の発現及び精製を行い、CA活性の測定を行った。その結果、Pt43233はCA活性が見られた。また、CAにはエステルの加水分解活性 (エステラーゼ活性) もあることが知られており、エステラーゼ活性の測定を行った結果、活性が確認できた。しかし、CA活性が低かったため、Pt43233:GFP発現珪藻より免疫沈降によりPt43233:GFPを取得し、その活性を測定した。その結果、他の既に報告されているCAと同様のCA活性が見られた。また、ほとんどのCAでは活性部位に亜鉛イオンを配位していることが知られているため、組換えPt43233の亜鉛含有量を調べた。その結果、Pt43233も亜鉛を含有していることがわかり、これらの結果より、CGHR familyは新規の亜鉛配位CAであることが示され、これらのCAをθ型CAとした。

## 博士研究員在職期間中の研究業績

学会発表 (○印が発表者)

1. ○Kikutani S, Miyatake A, Nagasato C and Matsuda Y “The novel protein localized in pyrenoid-penetrating thylakoid in a marine diatom, *Phaeodactylum tricorutum*” Molecular Life of Diatoms, Washington US, 2015 July (Oral presentation)
2. ○菊谷早絵, 宮武愛, 長里千香子, 松田祐介「藻類の高効率光合成に関わる新規チラコイド因子」日本植物学会第79回大会, 新潟, 2015年9月 (口頭発表・査読なし)

その他

1. 私学財団・学術研究振興資金 (若手研究者奨励金) 課題名: 新規葉緑体タンパク質の探索と機能同定(珪藻類の高効率光合成を担う分子機構の解明に向けて)
2. 科研費・若手研究(B) 課題名: 海洋性珪藻新規ピレノイド因子の機能同定~海洋一次生産を担う葉緑体機能のモデル化~
3. 日本植物学会第79回大会にて一般発表の座長