

研究成果報告書

(国立情報学研究所民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		乾燥地域での資源植物の栽培に向けた APX 酵素の機能向上に関する基礎・応用研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Basic and applied study of improvement of APX enzyme to cultivate useful plants in dessert.			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓) キタジマ	名) サキヒト	研究期間 B	2007 ~ 2008 年
	漢字 CB	北島	佐紀人	報告年度 Y	2009
	ローマ字 CZ	Kitajima	Sakihito	研究機関名	京都工芸繊維大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科 准教授			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください) 植物の葉緑体では、光合成過程で光化学系から大量の過酸化水素が発生する。このため、葉緑体の過酸化水素消去酵素アスコルビン酸パーオキシダーゼ (APX) は、葉緑体機能を維持するために必須である。しかし、植物が砂漠のような過度の乾燥・強光ストレスに曝されると、消去能力を超える大量の過酸化水素が葉緑体で発生し、そのため葉緑体の APX が過酸化水素によって損傷を受けて触媒活性を失う。このため、ますます過酸化水素が過剰に蓄積して葉緑体が致命的な損傷を受ける。砂漠のような乾燥地域で植物が生育できないのはこのためである。循環型社会の実現には、陸上の 1/3 を占める砂漠等の乾燥地帯を新規耕作地としてもちい、バイオエタノール・バイオプラスチック等の原料となる資源植物を栽培することが不可欠である。この実現のために葉緑体 APX の過酸化水素による失活機構を解明し、その過酸化水素耐性を向上することが本研究の目標である。 2007-2008 年には、スピントラップ剤と質量分析技術を駆使して、過酸化水素と反応した葉緑体 APX では、触媒部位から離れた2つのシステイン残基がラジカル化することを明らかにした。次に、これら2つのシステイン残基と、以前に見出したラジカル化残基トリプトファン合計3残基を全て他のアミノ酸残基に置換したところ、その3重変異 APX は、10 分間の過酸化水素処理後もなお 50%の活性を保持していた。野生型 APX は 30 秒以内、我々が以前に報告したトリプトファン変異 APX でも 3 分以内にほぼ全ての活性を失ったことと比較すると、飛躍的な耐性向上を実現したことになる。また、単独もしくは2つの残基の変異 APX の解析結果も合わせて、アミノ酸残基と触媒部位ヘムの間におけるラジカル転移機構に関する新たなアイデアも提案した。今後は、葉緑体 APX のさらなる耐性向上を目指すとともに、変異体 APX をモデル植物に遺伝子導入してその効果を検証したい。					
キーワード FA	植物	循環型社会	APX	過酸化水素	

(以下は記入しないでください)

助成財団コード TA						研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC						シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入して下さい）									
雑誌	論文標題 GB	Triple mutation of Cys26, Trp35, and Cys126 in stromal ascorbate peroxidase confers H ₂ O ₂ tolerance comparable to that of the cytosolic isoform.							
	著者名GA	Sakihito Kitajima, Masahito Kitamura, Namiko Kojima		雑誌名GC	Biochemical and Biophysical Research Communications				
	ページGF	918~923		発行年GE	2	0	0	8	巻号GD
雑誌	論文標題 GB								
	著者名GA			雑誌名GC					
	ページGF	~		発行年GE					巻号GD
雑誌	論文標題 GB								
	著者名GA			雑誌名GC					
	ページGF	~		発行年GE					巻号GD
図書	著者名HA								
	書名HC								
	出版者HB			発行年HD					総ページHE
図書	著者名HA								
	書名HC								
	出版者HB			発行年HD					総ページHE

欧文概要EZ

Ascorbate peroxidase (APX) isoforms localized in the stroma and thylakoid of the chloroplast play a principle role in detoxifying hydrogen peroxide (H₂O₂) generated in photosystem I; however, once the ascorbate is depleted, the enzyme is attacked by H₂O₂ and rapidly loses its activity. Here, we report that radical transfer across the porphyrin moiety and amino acid residues in the reaction intermediate and H₂O₂-mediated enzyme inactivation involve cooperative interactions of the Cys26, Trp35, and Cys126 residues of stromal APX. The wild-type enzyme had a half-time of inactivation of <10 s, while the triple mutant of the three residues retained 50% of the initial activity after H₂O₂ treatment for 3 min.

The created APX mutant is useful gene tool for creation of desert-related stress-tolerant plants. If we would become possible to cultivate crop plants such as maize, we could produce bio-alcohol and bio-plastic without decreasing crop plants supplied for food.