

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 7 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名		藍色細菌時計タンパク質複合体の経時的構造変化の解析
研究代表者	氏名	武藤 梨沙
	所属機関名・部局名	福岡大学・理学部
	職名	助教
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		共同研究員
	○	超高磁場NMR 共同利用研究課題
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		宮ノ入 洋平
<p>地球上に生息する多くの生物は、地球の自転にあわせて約 24 時間周期で体内の様々な生理活性を調節している。これまでに、原核生物から真核生物まで幅広い生物種で生物時計因子が発見されており、その機能も明らかになりつつある。藍色細菌は、生物時計を持った唯一の原核生物で、その時計装置は時計タンパク質 KaiA、KaiB、KaiC の 3 つから構成されており、これまでに発見されている生物種の中で一番単純な構成因子である。これら 3 つのタンパク質と ATP を試験管内で反応させると、KaiC のリン酸化レベルや ATPase 活性が約 24 時間周期で自律的に振動することがわかっている。その際に、Kai 複合体も結合・解離を繰り返すことで、時間情報を時計本体から下流へと伝達すると考えられる。それぞれの Kai タンパク質の立体構造は明らかにされており、複合体の構造解析も進んでいるが、それらは 24 時間のうちの一部でしかなく、生物時計の作動原理の解明には至っていない。そこで、私たちは時計タンパク質 KaiC から時計関連タンパク質 SasA へどのように時間情報を伝達するのかを明らかにするために、まず相互作用部位の同定を試みた。</p> <p>KaiC はアミノ酸配列の相同性の高い N 末端ドメインと C 末端ドメインに分かれており、各ドメインに Walker's motif をもっており、ATP が 1 つずつ結合する。KaiC の N 末端ドメインで KaiB や SasA と相互作用する。KaiB と SasA は競合し合って KaiC と結合するが、その結合様式や詳細な結合部位は不明である。SasA の N 末端ドメインには、KaiB-like ドメインがあり、アミノ酸配列の相同性が高い。今回は、KaiC の N 末端ドメイン (KaiC<sub>N</sub>) を [<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N] 標識し、TROSY-HMQC を測定し、KaiB や SasA 存在下での NMR スペクトルの変化を観察した。その結果、KaiB、SasA 双方でシフトしたピーク、KaiB のみでシフトしたピーク、SasA のみでシフトしたピークがあり、それぞれの割合を計算した結果、KaiC 上の KaiB または SasA 相互作用部位は、KaiC のほぼ同じアミノ酸残基と相互作用していることが示唆された。しかし、KaiB や SasA の添加により KaiC の NMR ピークが消失してしまう箇所が多くあったので、今後は添加する KaiB や SasA の適切な濃度を検討する必要がある。</p>		