

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 10 日

2020 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 准教授	
<p>藍色細菌は最も単純な生物時計を持った生物で、その時計タンパク質は KaiA, KaiB, KaiC の 3 つから構成されている。これらのタンパク質と ATP を混ぜ合わせると、<i>in vitro</i> で生物時計を再構成することが可能である。これまでに KaiABC 複合体がクライオ電子顕微鏡解析により明らかになったが、その構造は 24 時間のうちの瞬間の状態であり、生物時計の全貌が明らかになったとは言えない。生化学実験や構造生物学的手法によって、24 時間で複合体構造が変化することが明らかになりつつあるが、3 つの Kai タンパク質がどのようにお互いに情報伝達をしているのかは不明である。また、時間情報をアウトプットするために KaiC は SasA と複合体を形成し、リン酸基の受け渡しをしているが、その伝達様式も未解明である。そこで、我々は、KaiC, SasA, KaiB を安定同位体標識し、リズム発振中のそれぞれの相互作用部位の同定を試みた。</p> <p>本年度は、新型コロナウイルスの影響で蛋白研の訪問に十分時間が取れなかったため、NMR 測定に必要な予備実験を中心に行った。また、昨年度に引き続き、¹⁵N 標識した SasA と KaiB の HSQC スペクトルを測定し、測定の最適条件を探索した。その結果、KaiB の測定条件を決定することはできた。しかし、SasA はアミノ酸残基数に対して、検出される NMR ピーク数が少ないため、コンストラクトの見直しを含め、さらなる条件検討が必要であった。次年度以降は、標識 KaiC の NMR 測定条件を決定し、リズム発振中の KaiC の構造変化について解析を行う。</p>		