

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## 研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

超高磁場 NMR

(2) 研究代表者

氏名：武藤 梨沙

所属機関名・部局名・職名：福岡大学・理学部・助教

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

時計タンパク質複合体の複合体解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入 洋平 准教授 (研究室名：高磁場 NMR 分光光学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

\*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。

藍色細菌は、生物時計を持った唯一の原核生物である。その生物時計分子装置は、時計タンパク質 KaiA、KaiB、KaiC の 3 つから構成される。これらのタンパク質と ATP を試験管内で混合すると、KaiC のリン酸化レベルや ATPase 活性が約 24 時間の周期で変動する。この 24 時間周期は、KaiA、KaiB、KaiC が経時的に様々な複合体を形成することで生み出される。これまでに、クライオ電子顕微鏡解析、X 線結晶構造解析や中性子解析により様々な Kai 複合体構造が明らかになりつつあり、未生化学的手法や構造生物学的手法により、相互作用部位や機能アミノ酸残基が特定されてきた。しかし、3 つのタンパク質がどのようにしてお互いに情報伝達をしているのか、そして、KaiABC 時計分子装置から外部への時間情報の出力を行っているのかは不明である。そこで、私たちは、1) KaiC を NMR 標識し、KaiB-KaiC 間、KaiC-SasA 間の相互作用部位を同定する、2) KaiB 上または SasA 上の KaiC 相互作用部位を同定することで、KaiB-KaiC 複合体から KaiC-SasA 複合体への複合体形成の転換を明らかにしようと試みた。

本年度は、昨年度に引き続き、SasA-KaiC 複合体の解析を行った。昨年度、SasA の帰属測定を行ったが、一部帰属ができていない箇所がある。アミノ酸残基数と NMR ピークの数から、複数のピークが重なっているために本来観測すべき NMR ピークが観測されていない、またはループなど不安定な構造をとっている箇所があると考えられる。そこで、まずは帰属を完成させるために、SasA 測定時の温度、バッファの pH、塩濃度の検討を行ったが、すべてのアミノ酸残基を帰属するには至っていない。