

2022 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：東邦大学・理学部・講師

(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。)

藍色細菌生物時計発振機構の解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入 洋平

(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。

2022 年度は、申請者の異動による研究室立ち上げのため、実際に大阪大学にて実験を行うまでには至らなかった。現在は、タンパク質発現、精製を一通り行えるようにセットアップが完了したところである。

シアノバクテリアは、生物時計を持つことが知られている唯一の原核生物である。シアノバクテリアの生物時計分子装置は、KaiA、KaiB、KaiC の 3 つから構成されており、それらを ATP 存在下で混合すると約 24 時間周期で KaiC のリン酸化レベルや ATPase 活性が変動することがわかっている。KaiA、KaiB、KaiC は結合・解離を繰り返すことで 24 時間周期を生み出し、その時間情報は、時計関連タンパク質 SasA へと伝達される。申請者は、KaiC-SasA、SasA-RpaA の複合体を解析することにより、時間情報を発振する機構について明らかにすることを試みている。

これまでに SasA の N 末端ドメインタンパク質 (SasA_N) と KaiC の相互作用について高磁場 NMR を用いて解析を行ってきた。SasA_N の NMR スペクトルの帰属を進めてきたが、NMR ピークがアミノ酸残基に比べて少ないこと、すべてのピークを同定することができないことなどから、SasA_N のコンストラクトを改変する必要があることがあった。そこで、AlphaFolds2 を用いて、SasA の構造予測を行い、N 末端に長いループがあることが示唆された。このループ部分が NMR ピークに表れていないのではないかと考え、このループを欠損させた SasA 変異体 (SasA_{dN}) を作製した。SasA_{dN} の発現、精製を行ったところ、ほとんどが不溶性画分に発現しており、可溶性に回収することはできなかった。今後は、欠損させるループの長さを検討し、可溶化タンパク質として精製できる最適なコンストラクトを探索する。