

2023 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。

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。そ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。KaiA、KaiB、KaiC の立体構造は既に明らかになっており、それらの複合体構造も明らかになりつつある。しかし、生物時計そのものの作動機序は未解明な部分が多い。

生物時計の特性の 1 つに温度補償性がある。これは、ある一定の温度範囲内であれば、温度によらず反応速度は一定である、というものである。これまでに、申請者らは、KaiB の構造が温度によって変化すること、その構造変化が KaiA や KaiC との相互作用を制御していることを示唆するデータを発表してきた (Mutoh et al., 2010; Mutoh et al., 2013)。今年度は、この KaiB の構造変化を捉えるために、293 K から 308 K までの温度範囲で <sup>15</sup>N 標識した KaiB の HSQC スペクトルを測定した。今回測定に使用した KaiB は、精製段階では 2 量体を形成する変異体である。HSQC スペクトルの結果から、293 K、298 K と 303 K、308 K を比較すると、低温での測定のほうがピークの数が多く検出された。これは、低温ではサブユニット間の影響を受けたヘテロ 2 量体を形成し、一部のピークが重ならなかったためではないかと考えられる。いっぽう、303 K 以上では、サブユニット間の影響は受けにくい構造に変化したため、その分がピーク数の変化に現れたのではないかと考えられる。この結果は、KaiB は 303 K を境界に構造変化を起こすと示唆するこれまでのデータと一致する。