

## 研究課題別 中間評価結果

1. **研究課題名:** KaiC リン酸化サイクルによる生物時計の計時機構

2. **研究代表者:** 近藤 孝男 (名古屋大学 大学院理学研究科 教授)

### 3. 研究概要:

本研究は、生物時計のペースメーカーである KaiC のリン酸化サイクルにおいて、いかにして 3 つの Kai タンパク質が安定した 24 時間の振動を発生し、時間を刻むかを分子レベルで解明し、生命が時間を計るメカニズムを明らかにすることを旨とした。

*in vitro* の再構成系を利用し、KaiC のリン酸化サイクルの解析を集中的に行い、以下の 4 つの重要な知見を得た。

1) KaiA と KaiB はそれぞれ独自の様式で KaiC と相互作用し、リン酸化サイクルを進行させていること、KaiC の 6 量体間でのモノマーの入れ替えが特定の位相で起こることを示し、これがリズムの安定性に大きく貢献していることを明らかにした。

2) KaiA と KaiB によってリン酸化される 2 つの隣り合ったセリンとスレオニンについて、リン酸化部位毎に解析し、片方のリン酸化部位が他方のリン酸化部位を制御することでリン酸化サイクルが進行することを明らかにした。これは KaiC 分子内に自発リズム的な性質が潜んでいることを意味する。

3) ATP の消費を詳細に解析し、1日に 16 個という極めて遅く、かつ温度の影響を受けない安定した ATP 分解活性を見出した。この活性はリン酸化サイクルが進行する条件でリズムを示す。さらに、周期の変異体による解析からこの活性は周期の逆数(すなわち時間)と正比例関係を示し、この ATPase 活性が概日時計の周期を決定する最も根源的なものであることを明らかにした。概日時計は 24 時間周期を持つことに生理的意義があるが、その周期が ATP の分解により直接規定されているということは全く新しい知見であり、他の生物時計研究に大きな影響を与えると思われる。

4) *in vitro* での KaiC のリン酸化サイクルの安定性の解析から、異なったサイクル状態の KaiC 間で速やかに同調が起こることを発見した。これは全く予期しなかった現象であるが、細胞内で KaiC のリン酸化サイクルが機能するために不可欠であり、KaiC6 量体間でモノマーの交換が行なわれることが基礎となっていることが示された。

さらに、KaiC は細胞内ではゲノムの状態もしくは基本転写装置を制御し、包括的な遺伝子発現のリズミックな制御を実現していることを示した。概日時計システムは細胞が環境に適応していくために不可欠な時間コーディネーターであり、細胞活動全般に広範な影響を持つ。これまでに細胞内での KaiC の遺伝子発現制機能を仲介する因子を探索し、2 つの重要な遺伝子(*rpaA* と *labA*) を明らかにした。

## 4. 中間評価結果

### 4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

研究は当初計画通り順調に進捗しており、シアノバクテリア概日時計の3種 Kai タンパク質の相互作用中、KaiC タンパク質の重要性等の重要な知見を得ている。

中でも、KaiC のリン酸化による分子内リズムの発生や、KaiC の温度依存性が少ない ATPase 活性の新発見、6 量体 KaiC の単量体交換の知見、さらに KaiC 遺伝子発現を制御する2つの遺伝子の発見とそれらによる転写制御モデルの提唱が特筆される。

また、*in vitro*解析からのリン酸化サイクル研究の過程で、異なったサイクル状態の KaiC 間で同調が起こることを発見しており、これが大きな研究の進展につながった。

今後は、遅い化学反応の機構解明のため構造生物学的な知見が必要となる。研究代表者は、この点を重要視しており、今後の研究の方向性として極めて適切である。

### 4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

Kai タンパク質複合体におけるリン酸化反応とその速度に関する詳細な解明が進み、隣り合った2つのアミノ酸のリン酸化が重要である点が指摘された。また、Kai タンパク質複合体の解離・再構成の発見は、細胞内におけるリズムの平衡化を分子レベルで説明可能とした点で極めて優れた成果である。

概日機構が最終的に KaiC の ATP 活性によると結論付けられる段階まで研究は進んでおり、非常に大きな成果が得られていると言える。概日時計分子である KaiC の振動機構を解明したことは他に類を見ないものであり、歴史的な研究成果として評価されるであろう。論文は全ての成果がインパクトの高い国際誌に掲載されており、評価出来る。

細胞内でのリズムの統一機構が、今後多細胞生物におけるリズム調節機構へと発展すれば、さらに画期的な成果が期待出来る。

### 4-3. 総合的評価

独自の発見による概日時計分子 KaiC の振動機構を解析し、その機構を概ね明らかにしたことは、生物時計の基本概念を確立したものとして極めて高く評価される。本研究は、生物時計の機構を分子レベルで解明することを目指すものであり、世界に比肩し得るもののない独創的研究である。

原核生物であるシアノバクテリアでの研究成果が、どのような形で他の生物の概日時計の解明につながっていくか、大きな期待と共に見守りたい。