

時分割 X 線小角散乱による シアノバクテリア時計タンパク質の離合集散ダイナミクス計測

秋山 修志

科学技術振興機構・さががけ、理研播磨・放射光科学総合研究センター

Real-time SAXS Observation of Assembly and Disassembly Dynamics of Cyanobacterial Circadian Clock Proteins

Shuji Akiyama

PRESTO, Japan Science and Technology Agency; RIKEN SPring-8 Center, Harima Institute

<Synopsis>

Incubation of three clock proteins, KaiA, KaiB, and KaiC, with ATP induces a KaiC phosphorylation cycle that is a potential clock pacemaker in cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942. To take a structural snapshot of the oscillator, we followed the dynamic oscillatory processes of the Kai proteins using real-time small-angle x-ray scattering techniques. The scattering pattern of a ternary mixture robustly oscillated with a period of approximately 24 h, indicating a repeated assembly and disassembly of the Kai complexes. In the presentation, I will discuss the size and shape of these clock complexes.

シアノバクテリアは生物時計を備えた最もシンプルな生命体であり、その時計は時計遺伝子群(*kai*)から発現される3つの時計タンパク質 KaiA、KaiB、KaiC で構成される。時計の振り子に相当するのが KaiC であり、KaiA は KaiC のリン酸化を促進し、KaiB は KaiC (or KaiA) との複合体形成を通じて KaiA の働きを抑制する。3つの時計タンパク質と ATP を混合すると KaiC のリン酸化状態が概日周期で振動し、シアノバクテリアの生物時計を試験管内で再構成することができる (Nakajima *et al*, 2005, *Science* **308**, 414-415)。

「たった3種類のタンパク質とわずかなエネルギーで時を刻む」という驚くべき生命現象を解明するべく、時計タンパク質の構造解析が精力的に進められてきた。既に各々の時計タンパク質について単独結晶構造が報告されており、時計を作る歯車(構成タンパク質)の構造は既知である。しかし、歯車どうしの噛み合い(複合体構造)が理解されていないため、時計が動く機構を理解するには至っていない。複合体の構造解析が切望されるが、時間と共に大きさ・形を変化させる離合集散系を、X線結晶構造解析やNMRといった従来の構造生物学的手法のみで解明することは容易でない。

時計タンパク質の複合体構造と離合集散ダイナミクスを明らかにするべく、我々はX線小角散乱とX線結晶構造解析を相補的に駆使した研究を進めてきた。本発表では、リアルタイムX線小角散乱計測(SPring-8, BL45XU)より得た離合集散ダイナミクスについての興味深い知見を紹介するとともに、次世代ERL光源への期待についても議論したい。