

階層分子システム解析研究部門

秋山 修志 (教授) (2012年4月1日着任)

向山 厚 (助教)
古池 美彦 (助教)
欧陽 東彦 (特任研究員)
SIMON, Damien (大学院生)
鷺尾 みどり (技術支援員)
高家 マリ (技術支援員)
杉坂 かな恵 (技術支援員)
和田 琴恵 (技術支援員)
鈴木 博子 (事務支援員)

A-1) 専門領域：生物物理学, 時間生物学

A-2) 研究課題：

- a) タンパク質時計が奏でる概日リズムの分子科学的解明
- b) X線溶液散乱による生体分子システムの動的構造解析

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) KaiC はシアロバクテリア概日時計システムの中核をなす時計タンパク質である。これまでの研究 (*Science* 2015, *BIOPHYSICS* 2015, *Biophys. Physicobiol.* 2016, *Sci. Rep.* 2018) を通して,

- ① KaiC の ATP 加水分解活性 (ATPase) がシステムの発振周期 (約 24 時間) を規定する重要な因子であること,
- ② KaiC の ATPase が抑制的制御を受けて低活性化 (12 ATP d^{-1}) かつ温度補償 (温度非依存) されていること,
- ③ ATPase の遅い時間スケールを分子システム全体に波及させる巧妙な仕組みが整備されていること,

等を明らかにしてきた。しかしながら、これら①~③を実現している構造基盤が KaiC のどこに位置しているのか依然として不明であった。2020 年度は、2019 年度に独自開発した *in vivo* スクリーニング系 (*Int. J. Mol. Sci.* 2019) と *in vivo* スクリーニング系の相補的利用により数多くの変異体を同定するとともに、それら変異体の機能構造解析を網羅的に実施した。代表的な成果は、超短周期 (0.6 d = 15 h, 60%) から超長周期 (6.6 d = 158 h, 660%) にわたるリズムを表出せしめた同一サイト (Tyr402) 点変異群の発見である (*Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2020)。温度補償された 600% の周期長変化を扱うことができる発振モデルは皆無であり、我々の発見を機に、既存モデルの更新もしくは根本的な書き換えを迫られるであろう。他サイトの変異を相加/相乗的に組み合わせることで、そのリズムを概週から概月、場合によってはその先の概年にまで引き延ばせる可能性がある。本発見は、概日リズムの基本設計を原点に立ち返って議論しなおすきっかけを世界中の研究者に与え得るだけでなく、概月リズム (海洋生物の産卵, 人間の月経周期) や概年リズム (動物の冬眠/繁殖, 植物の花芽形成) の設計原理にも指針を与え得るもので、関連分野でも相当の関心を集めることが予想される。その他の活動として、我々の概日時計研究を含めた岡崎における生物物理学分野の研究を紹介する記事を執筆した (*Biophys. Rev.* 2020)。

- b) 生体分子システム（時計タンパク質、抗酸化酵素、受容体など）のX線溶液散乱を記録し、散乱データと結晶構造の比較や低分解能モデルの構築を通して、分子システムの動的構造解析を行った（*Free Radical Biol. Med.* 2019）。

B-1) 学術論文

K. ITO-MIWA, Y. FURUIKE, S. AKIYAMA and T. KONDO, “Tuning the Circadian Period of Cyanobacteria up to 6.6 Days by the Single Amino Acid Substitutions in KaiC,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **117**, 20926–20931 (2020). doi: 10.1073/pnas.2005496117

I. ANZAI, E. TOKUDA, S. HANDA, H. MISAWA, S. AKIYAMA and Y. FURUKAWA, “Oxidative Misfolding of Cu/Zn-Superoxide Dismutase Triggered by Non-Canonical Intramolecular Disulfide Formation,” *Free Radical Biol. Med.* **147**, 187–199 (2020). doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.12.017

B-3) 総説、著書

S. AKIYAMA, K. AOKI and Y. KUBO, “Biophysical Research in Okazaki, Japan,” *Biophys. Rev.* **12**, 237–243 (2020). doi: 10.1007/s12551-020-00633-4

S. AKIYAMA, “Treasurer’s Comments on the Financial Position of the Biophysical Society of Japan,” *Biophys. Rev.* **12**, 209–211 (2020). doi: 10.1007/s12551-020-00623-6

B-4) 招待講演（* 基調講演）

S. AKIYAMA, “Cyanobacterial circadian clock system through the chemistry of rhythm, structure, and evolutionary diversity,” ELSI 8th International Symposium, Tokyo (Japan), February 2020.* (*Keynote Lecture*)

秋山修志, GTR オンラインリトリート 2020, September 2020.

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本生物物理学会理事 (2019–2020).

学会の組織委員等

X線溶液散乱講習会主催 (2015–).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術会議 連携会員 (2020.10–).

SPring-8長期利用分科会委員 (2019–).

B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(A), 「生物時計システムの周期と温度補償制御ロジックの構造化学的解明」, 秋山修志 (2017年–2019年).

科研費基盤研究(S), 「統合的多階層アプローチによるシアノバクテリア生物時計システムの新展開」, 秋山修志 (2017年–2021年).

C) 研究活動の課題と展望

in vivo スクリーニング系を独自開発して論文化し (*Int. J. Mol. Sci.* 2019), *in vivo* スクリーニング系との相補的利用により数多くの変異体を同定した。これらの研究資産は我々の研究室を含めた研究コミュニティに供されており, 現在, 概日時計システムの機能構造解析が強力に推進されている。他方, KaiC ホモログ群を対象とした研究は, 我々が独自整備した基盤技術 (*Int. J. Biol. Macromol.* 2019) により最大の難所を超え, あと半年以内に論文投稿できる見込みである。Kai タンパク質の構造解析についても著しい進捗が見られた。必要な実験はほぼ完了しており, 現在, 論文執筆中である。

Kai タンパク質時計の普遍性と多様性の解明, および ATPase /リン酸化構造基盤の解明, いずれにおいても当初の目標を上回る新発見があっただけでなく, 更に深い奥行きと広がりを感じさせるものであった。波及効果の大きい論文として公表できるよう, 今の質を堅持しつつも更にペースを上げて研究を進める。