

平成28年度北陸地区国立大学学術研究連携支援報告書

研究グループ名	シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC 六量体間の相互作用解析 (支援期間：平成28年度)			
大学名	所属	氏名		
北陸先端科学技術大学院大学	先端科学技術研究所 マテリアルサイエンス系 助教	○小田和司		
金沢大学	新学術創成研究機構 高速バイオAFM応用研究ユニット 准教授 理工研究域数物科学系 教授	○柴田幹大 内橋貴之		
注1. 各大学の研究グループ責任者の氏名には○印。 注2. 所属（その他の機関については職名も）については、平成29年3月末現在を記入。				
その他の機関の構成員	機 関 名	所 属	職 名	氏 名
	米 Vanderbilt 大学	Dept. Biol. Sci.	Professor	Carl H. Johnson
成果概要	<p>(当初の目的又は達成目標に対する活動実績等)</p> <p>【共同研究活動の目的】 高速 AFM を駆使して時計タンパク質 KaiC の一分子での計時機構の解明を視野に入れた予備的実験条件を調べ、計時機構の核心的研究内容をテーマとした科学研究費補助金の獲得を目指す。</p> <p>【研究の背景】 シアノバクテリア由来の時計タンパク質 KaiA、B、C は試験管内で概日振動リズムを示すリン酸化反応の再構築に成功して以来、多くの研究室で精力的な解析がなされてきた。しかし、どの研究も溶液系の多数の分子を含んだ状態での統計平均的物量の計測から脱却できていなかった。この視点から本研究では高速 AFM を駆使して一分子追跡実験に必要な予備的実験条件を調べた。</p> <p>【各グループの役割分担】 金沢大学グループ；高速 AFM を用いた実際の実験とデータの解析 先端大グループ；長年にわたり温めてきた時間生物学に関するアイデアを元に実際の実験計画やデータ解析方法の提案</p> <p>【研究成果】 現在金沢大学グループで行っている高速 AFM での実験系を変更せずにそのまま一分子追跡実験を行ったところ、1000 秒程度までが連続観察の限界であった。この系でそれぞれの KaiC 一分子に対する KaiA の結合・解離回数は 30~70 回程度であった。これでは一分子の解離定数を算出するには不十分なので、最少で何回くらい結合・解離が観測されれば解離定数を算出可能なのか多分子の観測データを母集団として無作為にデータ抽出し何回結合・解離が観測できれば標準偏差を十分小さくできるのかシミュレートしたところ、140 回程度であることがわかった。現在の実験系での連続観察で結合・解離の最少回数は 30 なので結合時間が平均でおおよそ 1/4.3 に短くなればよいことがわかる。これをもとに、KaiC の C 末側領域を順次短くしたシリーズを構築し都合のよい解離定数を持った改変 KaiC を用いれば高速 AFM で一分子追跡実験可能となる見通しを得た。</p>			
獲得した外部資金	<p>【採択】 1. 科学研究費補助金・新学術領域研究「高速 AFM 計測による Kai タンパク質のロバストな概日周期発生機構の解明」平成 28~29 年度、予算総額：4,900,000 円（公募研究）(代表:内橋貴之)</p>			