

【基盤研究 (S)】

生物系 (総合生物)



研究課題名 哺乳類概日振動体の構成的な理解

東京大学・大学院医学研究科・客員教授

うへだ ひろき
上田 泰己

研究分野： 総合生物
キーワード： 合成生物学

【研究の背景・目的】

我々はこれまでに哺乳類概日振動体を構成する転写あるいはタンパク質ネットワークの解析を行い、転写ネットワークの設計様式が時間遅れをもった負のフィードバックであることを実験的に示してきた[文献 1]。

しかしながら、転写翻訳に基盤をおく機構は、概日時計を特徴づける周期長の温度非依存性（概日時計の 24 時間周期が反応温度によらずほぼ一定の性質）を説明することは難しい。転写、翻訳、タンパク質分解の速度は一般的に反応温度に強く依存する過程だからである。興味深いことに、我々は CKI ϵ/δ によるリン酸化反応が哺乳類概日周期長決定における律速過程であり、かつ温度非依存的な反応速度を示すことを見出した[文献 2]。さらに理論的な側面からは、温度非依存的な振動子が、可逆的なリン酸化過程のみから構築可能であることを示している[文献 3]。

これらの結果に基づき、本研究計画では、CKI ϵ/δ の温度非依存的なリン酸化速度の分子機構の理解に基づいて、温度補償された自律的振動子を設計することを目指す。

【研究の方法】

CKI ϵ/δ 反応速度の温度補償機構を知るために、粗過程の反応速度を異なる温度条件で測定する。つまり、1) 酵素と基質の結合、2) リン酸基の基質への転移、3) リン酸化産物と酵素の解離の各過程である。ほとんどの酵素的な反応は、原理上は逆反応も生じうることを踏まえて、CKI ϵ/δ についても逆反応にも着目

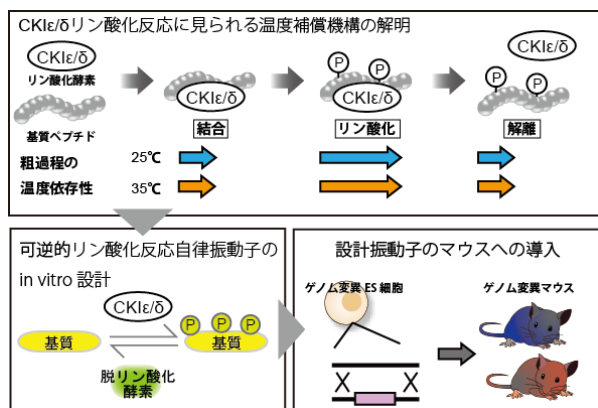


図 1 堅牢な振動子の設計

して解析する。これらの結果に基づき、温度補償性を成立させるために重要な反応ステップを明らかにする。次に、CKI ϵ/δ を用いて、試験管内での可逆的リン酸化反応に基づく自立振動子を設計する。このために、概日振動子において重要な役割を果たすリン酸化基質や脱リン酸化酵素の探索を行い、リン酸化振動子の構成要素に加える。

最後に、温度補償された周期的なリン酸化振動の反応様式をマウス個体内に導入する。これは、近年確立された、遺伝子組換えマウスの高効率作成法を用いて遂行する。

【期待される成果と意義】

CKI ϵ/δ リン酸化反応における温度補償性の分子機構の解明は、概日時計周期長を遺伝的あるいは薬理的に制御するうえで重要な知見をもたらすであろう。また、酵素反応速度の堅牢性を担保するしくみについての新たなコンセプトを提示することに繋がると期待される。

自律的制御された堅牢な酵素反応動態を、それを構成する粗過程の詳細な測定結果をもとにしながら、試験管内および生体内で設計することは、複雑で動的な生命システムを、組み上げながら理解する（構成的アプローチによる理解）一つの成功例となるだろう。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Ukai-Tadenuma et al, Delay in feedback repression by Cryptochrome 1 is required for circadian clock function. *Cell*, 144, 268-281 (2011)
2. Isojima et al, CKI ϵ/δ -dependent phosphorylation is a temperature-insensitive, period-determining process in the mammalian circadian clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 15744-15749 (2009)
3. Jolly et al, A design principle for a post-translational biochemical oscillator. *Cell Reports*, 2, 938-950 (2012)

【研究期間と研究経費】

平成 25 年度 - 平成 29 年度
159,300 千円

【ホームページ等】

<http://sys-pharm.m.u-tokyo.ac.jp/>