

温度サイクルによるシノアバクテリアの蛋白質時計の同調について
—蛋白質時計のリセットボタンの発見—

この度、名古屋大学大学院理学研究科の近藤孝男教授（理学研究科長）を中心とするグループは、別添のとおり、試験管内で再構成された蛋白質時計を用いて、温度が体内時計の中心振動体とみなされている3つの蛋白質KaiA、KaiB、KaiCに作用し、体内時計が外界の周期と同じ周期になることを世界で初めて実証しました。この温度同調メカニズムは、魚類やほ乳類の体内時計にも存在する可能性があり、ヒトの体内時計の同調メカニズム解明に貢献することも期待できます。

本研究成果は、米国科学アカデミー紀要（PNAS）に掲載されました。

論文紹介

PNAS発表 2009年1月21日

温度サイクルによるシアノバクテリア の蛋白質時計の同調

「蛋白質時計のリセットボタンの発見」

吉田拓矢、村山依子、伊藤浩史、近藤孝男
名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻
CREST生命システムの動作原理と基盤技術 JST

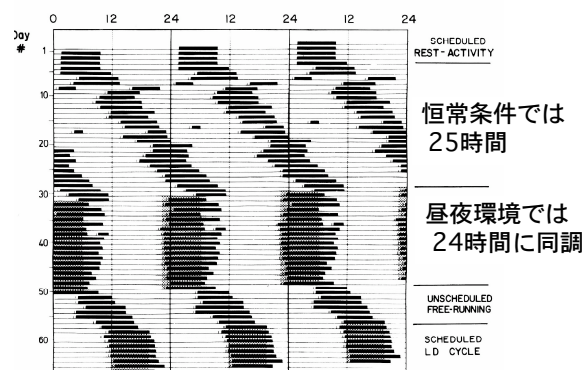
体内時計とは

私たちヒトは昼夜の情報を与えられると24時間周期で睡眠覚醒を規則正しく繰り返す。一方、時刻情報が与えられなくても、約25時間周期で睡眠覚醒を行う。

体内時計の存在は、このような概ね一日周期で生理活性が変動するリズムとして、植物や昆虫、カビ、バクテリアに至るまで多くの生物で確認されている。

ヒトの 睡眠覚醒のリズム

隔離実験（70日）



様々な生物の概日（サーカディアン）リズム

約24時間周期の内因性の生物リズム

（生物時計、体内時計）

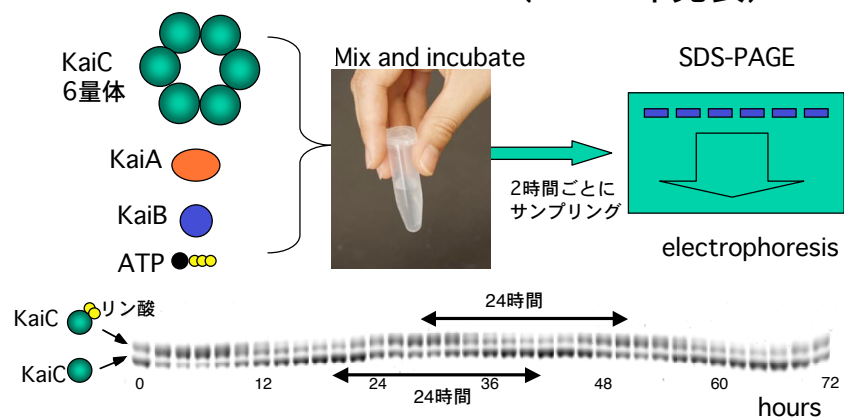
哺乳類（ヒト）	睡眠覚醒・ホルモン分泌・体温
植物：	光合成・葉の就眠運動・気孔開閉
昆虫：	行動活性・羽化
シアノバクテリア：	光合成・窒素固定

生物時計の共通性質

1. 恒常条件下でもリズム継続（周期約24時間）
2. 周期の温度補償性・栄養補償性
3. 温度・光サイクルへの同調機能

必要性 ➡ 24時間の昼夜変化にうまく適応するため

今回の成果の出発点--概日時計の試験管内での再構成 （2005年発表）



温度補償された24時間周期--生物時計の本体
3つの蛋白質とATPのみで24時間を測定できる

---どのような仕組みでこの時計はリセットされるのか？

蛋白時計は本当に体内時計か？

～必要条件～

1. 自律振動性

一定条件の下で約24時間周期のリズム

細胞時計



O.K.

蛋白質時計



O.K.

2. 温度補償性

異なる温度でも周期の長さは変わらない。

O.K.

O.K.

3. 環境への同調

外部の24時間環境に同調する。

O.K.

?

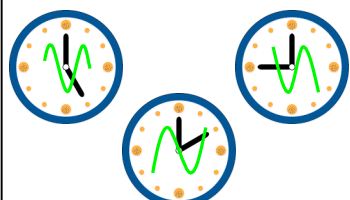
同調とは

シアノバクテリアの体内時計は約25時間周期を示す。
24時間周期の昼夜の光を浴びることで体内時計は24時間周期を示すようになる。このように外界の周期と同じ周期になることを同調と呼ぶ。

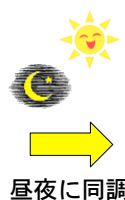


シアノバクテリアでは

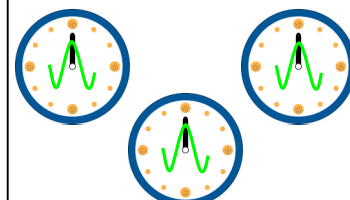
周期が約25時間



異なる位相のリズム



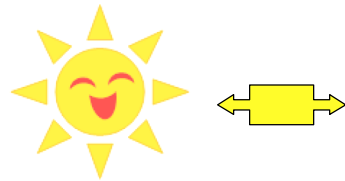
周期が24時間



ある特定の位相のリズム

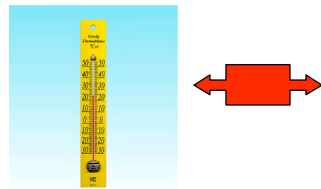
この研究を一言で言うと、

蛋白質時計は明暗サイクルに同調できるか？



だめだった。

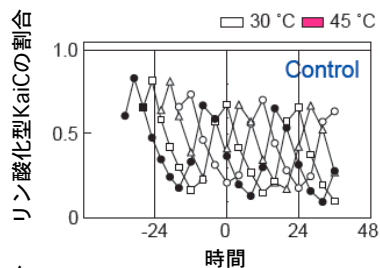
では、高温/低温サイクルに同調できるか？



できた！

以下、実験結果を示す

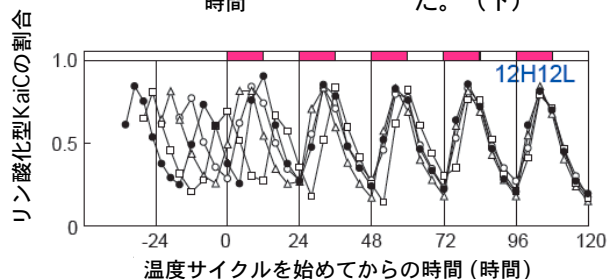
KaiCリン酸化リズムの温度サイクルへの同調 1



3つのKai蛋白質を混ぜて30℃でインキュベーション。6時間おきに4サンプルを用意した。

30℃では、4つのサンプルはそれぞれ23時間周期で振動する。(上)

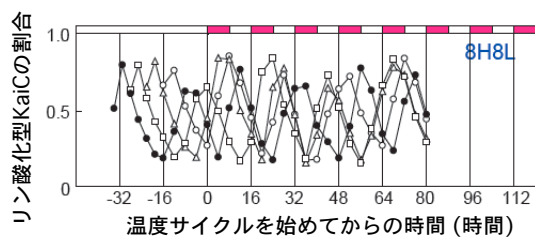
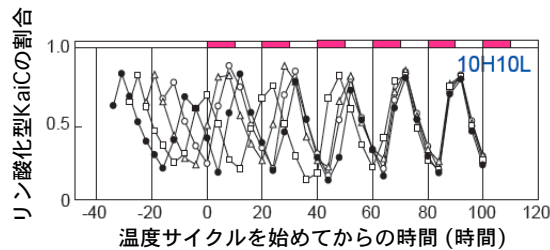
12時間45℃/12時間30℃の24時間周期の温度サイクルを与えると、4つのサンプルは特定の位相になり、リズムの周期が24時間になった。(下)



つまり、

蛋白質時計は、24時間周期の温度サイクルに同調できた！

KaiCリン酸化リズムの温度サイクルへの同調 2 20時間サイクルと16時間サイクル



体内時計の周期に比べて環境のサイクルの周期が短くなりすぎると、同調できなくなることが知られている。

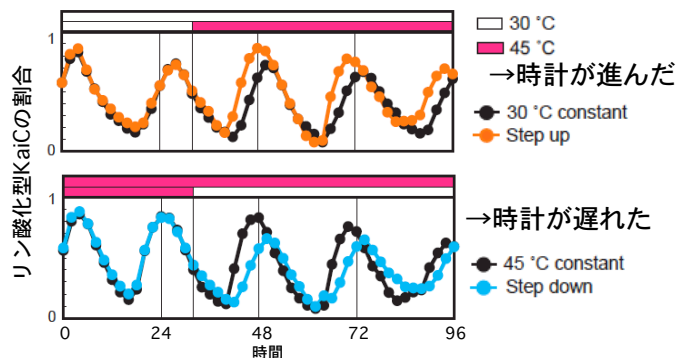
蛋白質時計は様々な生物の体内時計と共通した性質を示した。

温度同調の仕組みは？

もともとの蛋白質時計の周期（23時間）が、どのようにして環境サイクルの周期（24 時間あるいは、20 時間周期）に変わったのか？

仮説：温度サイクルに伴う温度変化（Step-up とStep-down）が体内時計の位相（時刻）を変化させる。

Step-up
30 °C → 45 °C



Step-down
45 °C → 30 °C

→時計が遅れた

45 °C constant
Step down

蛋白時計の温度同調の仕組みは動物の時計と同じだ

蛋白質時計は24時間あるいは20時間周期の温度サイクルに同調したが、16時間周期の温度サイクルに同調しなかった実験結果を、仮説で説明できるか？

→仮説を元にして、同調できる温度サイクルを予測した（図のグレーの範囲）。蛋白質時計が同調できた温度サイクル条件（図の●）は、予測範囲に含まれた。

予測に使用したモデル

$$\text{Pulse} = f(\phi_1) + g(\phi_2)$$

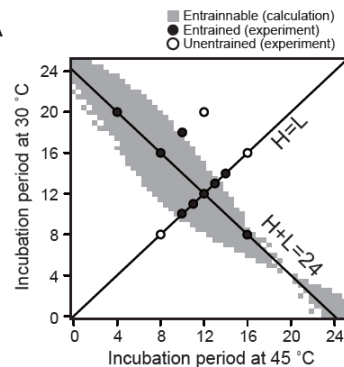
$$\tau - T = f(\phi_1) + g(\phi_2)$$

τ : 蛋白質時計の周期

T: 温度サイクルの周期

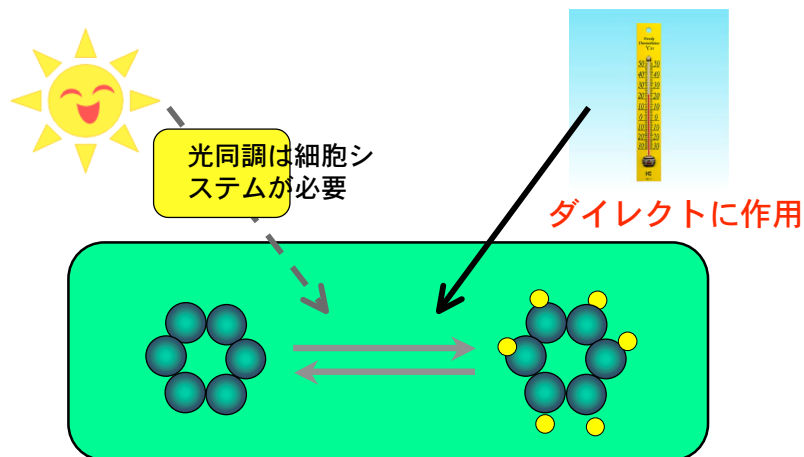
Pittendrigh et al., 1960-66

A



この仕組みはハエの体内時計が温度サイクルに同調する仕組みと全く同じ。

まとめ 温度はダイレクトに体内時計の振動体をコントロールする。



KaiCによる蛋白時計も温度同調機能をもつ

温度同調は体内時計の最も基本的な分子振動に作用する基本的なメカニズム

環境や活動による温度変化が同調メカニズムとして重要

もしシアノバクテリア体内時計の温度同調がヒトと同じだったら



本研究のまとめと意義

- 試験管内で再構成された蛋白時計は温度サイクルに同調できる
 - ➡ 生物時計の同調性の起源という未解決の問題に答えを与えた。体内時計の同調メカニズムを説明するのに他の因子は必要なく、体内時計の中心振動体とみなされている3つのタンパク質KaiA, KaiB, KaiCだけで良いことがわかった。
- 温度同調システムの普遍性
 - ➡ 今回見つかった温度同調メカニズムは、シアノバクテリアだけではなくハエと同等なメカニズムであることがわかった。ハエだけではなく、魚類やほ乳類などの体内時計を持つ生き物にも存在する普遍的なシステムである可能性がある。
- ナノテクノロジーへの応用
 - ➡ 今回研究したKaiCタンパク質時計は生体内でも機能するタイマーとして使えると注目されている。今回温度によって周期や位相をコントロールできることがわかり、応用範囲がさらに広がったと考えられる。