



研究課題名 哺乳類生体リズム振動体の設計

東京大学・大学院医学系研究科・教授

うえだ ひろき
上田 泰己

研究課題番号：18H05270 研究者番号：20373277

キーワード：合成生物学

【研究の背景・目的】

生体リズムは、生命システムの自律制御の基盤を担う。とりわけ概日時計は堅牢な振動体によって駆動される。本研究グループでは、転写翻訳ループが振動体を形成すると信じられていた哺乳類概日振動体について、Casein kinase I (CKI) δ/ϵ の活性が概日時計周期長制御に決定的な役割を果たすこと、さらに驚くべきことに、そのリン酸化活性が温度にほとんど依存しないことを明らかにしてきた。この温度非依存的なリン酸化反応制御機構は、哺乳類概日時計の周期長が温度に依存しないこと、すなわち温度補償性の少なくとも一部を担っている(文献1-2)。従って、哺乳類概日振動体の設計原理の一部は、酵素と基質から構成されるリン酸化反応の制御機構に担われていると考えられる。

タンパク質リン酸化は生体内においては、逆反応を触媒する脱リン酸化反応によって可逆的に制御されている。しかしながら、哺乳類概日振動体において脱リン酸化反応を触媒する分子実体は十分に明らかでない。本研究計画では、哺乳類概日時計制御において CKI δ/ϵ のリン酸化反応に特異的に拮抗する脱リン酸化反応を担う実体を明らかにすることを目的し、可逆的リン酸化サイクルが実現する振動体としての性質を再構成・設計することを目指す。

【研究の方法】

本研究グループは、CKI δ/ϵ と人工的に設計したペプチドを用いて、哺乳類概日時計の周期長制御および温度補償性に対応したリン酸化反応を試験管内で再構成する実験系を有している。これを用いて、CKI δ/ϵ によるリン酸化反応に拮抗する脱リン酸化反応酵素活性を探索する。さらに、この脱リン酸化酵素活性が、概日時計の位相によってどのように制御されるのかを、CKI δ/ϵ やその基質のリン酸化状態に着目して明らかにする(図1)。

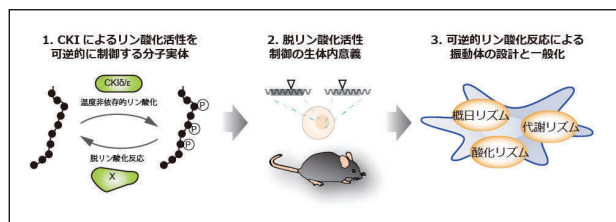


図1 CKI δ/ϵ に拮抗する脱リン酸化反応制御機構の理解と振動体の設計

試験管内実験系で明らかにした脱リン酸化活性やその制御機構に重要なタンパク質および残基の生体内での重要性を、マウス個体における概日時計因子の機能相補系(文献3)を用いて、マウス個体の行動周期長へ与える影響を指標として検証する。

これらの実験から明らかになった脱リン酸化活性制御を CKI δ/ϵ リン酸化反応の試験管内再構成系に加えることで、可逆的リン酸化反応が哺乳類概日時計の振動体としての性質を示すか検討する。さらに、CKI のリン酸化速度温度非依存性が概日時計機能を持たないとされる酵母 CKI にも保存されていることを鑑み、哺乳類以外の CKI ファミリー・グループについても可逆的リン酸化サイクルの設計を行う。

【期待される成果と意義】

本研究は、これまで広く理解されてきた転写翻訳ループによる哺乳類振動体の設計原理から、可逆的リン酸化による哺乳類振動体の設計原理へのパラダイムシフトを目指すものである。

また、概日時計以外の CKI が関与する生理機能制御について、その制御機構のコアに可逆的リン酸化振動体が存在する可能性を検討することで、概日時計分野を超えた意義と波及効果が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. 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)
2. Shinohara *et al.*, Temperature-Sensitive Substrate and Product Binding Underlie Temperature-Compensated Phosphorylation in the Clock. *Mol. Cell*, 67, 783-798 (2017)
3. Ode *et al.*, Knockout-rescue embryonic stem cell-derived mouse reveals circadian-period control by quality and quantity of CRY1. *Mol. Cell*, 65, 176-190 (2017)

【研究期間と研究経費】

平成30年度-34年度
154,100千円

【ホームページ等】

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