

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（派遣））

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) シアノバクテリアをモデル系とした概日時計研究に取り組み，独自性の高い数々の研究（Furuike *et al.*, *bioRxiv* doi: 10.1101/2021.08.30.457330, Furuike *et al.*, *bioRxiv* doi: 10.1101/2021.08.20.457041, Ito-miwa *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **117**, 20926–20931 (2020); Mukaiyama *et al.*, *Sci. Rep.* **8**, 8803 (2018); Abe *et al.*, *Science* **349**, 312–316 (2015); Murayama *et al.*, *EMBO J.* **30**, 68–78 (2011); Akiyama *et al.*, *Mol. Cell* **29**, 703–716 (2008)）や国際基調講演（ELSI Symposium 2020; V-WCC 2019）をとおして，「概日時計システムの周波数特性が，ごく限られた種類の構成因子にエンコードされている」という新概念を提示した（日本学術振興会賞 (2016)；文部科学大臣表彰若手科学者賞 (2008)；日本生物物理学会若手奨励賞 (2007)；2006 SAS Young Scientist Prize from IUCr）。

その間，複数の研究プロジェクト（さががけ研究 [2005～2008 年度]，若手研究 (A) [2010～2012 年度]，基盤研究 (B) [2013～2015 年度]，基盤研究 (S) [2017～2021] 等）で代表者を務め，国内外の研究コミュニティの拡大に尽力するとともに（S. Akiyama, *Circadian Rhythms in Bacteria and Microbiomes*, 137–145 (2021); S. Akiyama, *Biophys. Rev.* **12**, 237–243 (2020); Mukaiyama *et al.*, *Biol. Rhythms* 29–34 (2019); Akiyama *et al.*, *Biol. Clocks*, 73–77 (2017); S. Akiyama, *Cell. Mol. Life. Sci.* **69**, 2147–2160 (2012)），直近では以下に詳述する波及効果の高い成果（4 件）を輩出してきた。

一つ目は，KaiC に隠されたアロステリック制御の解明である（Furuike *et al.*, *bioRxiv* doi: 10.1101/2021.08.30.457330）。複雑多様なアロステリック制御は細胞機能に振動現象をもたらす非線形性の源であるため，時計タンパク質のアロステリック構造転移を解明するための努力が続けられてきた。しかし，これまでに報告されている KaiC の全構造は，リン酸化修飾の有無に依らず構造が同一であり，概日リズムを駆動するアロステリーについては理解が進んでいなかった。我々は，S431 と T432 のリン酸化修飾サイクルを網羅する 4 つの異なる状態の KaiC を結晶化し，検出された複雑多様なアロステリーを詳細に分析することで，KaiC の振動性に必須となる最小単位のアロステリーを特定した。

二つ目は、KaiC の温度補償性に関する成果である (Furuike *et al.*, *bioRxiv* doi: 10.1101/2021.08.20.457041)。時計タンパク質は、酵素活性を生理的な温度範囲で一定に保つ温度補償能を有する。他方、酵素を構成するアミノ酸は高温でより頻繁に揺らぎ、それに伴って酵素活性が上昇する傾向が一般的にみられる。よって、温度補償能を有する概日時計タンパク質のダイナミクスが特殊な制御を受けている可能性があるが、それを実験的に証明した例は皆無である。我々は、温度補償型 ATPase である KaiC のダイナミクスに及ぼす温度の影響を中性子準弾性散乱法で精査した。その結果、KaiC が揺らぎを利用しつつ、高温下で C1-ATPase 活性が上昇しないように自律制御していることが明らかとなった。酵素が自らの活性を高めるためだけでなく、恒常性を実現する自律的手段として揺らぎを積極的に利用していることを示す独自性の高い研究成果である。

三つ目は、超短周期 (0.6 d = 15 h) から超長周期 (6.6 d = 158 h) にわたる多様なリズムを表出せしめる同一サイト (Y402) 点変異群の発見である (Ito-miwa *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **117**, 20926–20931 (2020))。温度補償された 600% に及ぶ周期長変化を説明する発振モデルは皆無であり、本発見を機に、既存モデルの根本的な書き換えを迫られるであろう。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ている。

四つ目は、概日時計の絶対的な遅さの起源解明である (Abe *et al.*, *Science* **349**, 312–316 (2015))。概日時計は、ゆっくりとした秩序ある細胞ダイナミクスを生み出すが、高速で動く生体高分子で構成されているため、全体としての遅さの原因は不明であった。我々は、周期を規定する C1-ATPase の遅さが、加水分解に用いられる水分子の隔離や、高い活性化エネルギーを有するペプチド異性化に起因していることを解明した。本成果は国内外の化学誌 (ChemistryWorld June 2015, 現代化学 2015)、専門家評価コメント (<http://smc-japan.org/?p=4072>)、国内の新聞記事 (毎日新聞、日本経済新聞) 等で取り上げられ、学術的な新規性が世界的に高く評価されている。

それ以外にも、名古屋大学卓越大学院プログラム (トランスフォーマティブ化学生命融合研究大学院プログラム) との連携活動として、同大学農学部吉村崇教授らとの共同研究を実施して成果を取りまとめた (Maruyama *et al.*, *bioRxiv* doi: 10.1101/2021.09.15.460533)。

- 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 (M. Okumura *et al.* *Structure*)。

B-1) 学術論文

M. OKUMURA, S. KANEMURA, M. MATSUSAKI, M. KINOSHITA, T. SAIO, D. ITO, C. HIRAYAMA, H. KUMETA, M. WATABE, Y. AMAGAI, Y.-H. LEE, S. AKIYAMA and K. INABA, “A Unique Leucine-Valine Adhesive Motif Supports Structure and Function of Protein Disulfide Isomerase P5 via Dimerization,” *Structure* **29**(12), 1357–1370.e6 (2021). DOI: 10.1016/j.str.2021.03.016

M. MARUYAMA, Y. FURUKAWA, M. KINOSHITA, A. MUKAIYAMA, S. AKIYAMA and T. YOSHIMURA, “Adenylate Kinase 1 Overexpression Increases Locomotor Activity in Medaka Fish,” *PLoS One* **17**(1), e0257967 (10 pages) (2022). DOI: 10.1371/journal.pone.0257967

B-3) 総説, 著書

S. AKIYAMA and H. KAMIKUBO, “Beyond Multi-Disciplinary and Cross-Scale Analyses of the Cyanobacterial Circadian Clock System,” *Biophysics and Physicobiology* **18**, 267–268 (2021). DOI: 10.2142/biophysico.bppb-v18.031

S. AKIYAMA, “Reasons for Seeking Information on the Molecular Structure and Dynamics of Circadian Clock Components in Cyanobacteria,” in *Circadian Rhythms in Bacteria and Microbiomes*, 137–145 (2021). DOI: 10.1007/978-3-030-72158-9_8

B-4) 招待講演 (* 基調講演)

秋山修志, 「KaiC 反応サイクルの複雑多様性と単純化」, 2021 年度 iBIX-JAXA-KEK 物構研-QST 合同タンパク質研究会, オンライン開催, 2022 年 2 月.

S. AKIYAMA, “Screening and Characterization of Temperature-dependent Circadian Clock Mutants in Cyanobacteria,” 5th Asian Forum on Chronobiology, Kaifeng (China) (online/hybrid), July 2021.*

秋山修志, 「Cyanobacterial circadian clock system through the chemistry of rhythm, structure, and evolutionary diversity」, バイオ単分子研究会, オンライン開催, March 2021.*

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 (2019–2021.6).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学会会議連携会員 (2020.10–).

SPRING-8 長期利用分科会委員 (2019–).

学会誌編集委員

Biophysics and Physicobiology, Editorial Board Members (2021–).

B-10) 競争的資金

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。