

## 体内時計を動かす「不思議な歯車」の仕組み

分子科学研究所・総合研究大学院大学 古池美彦

### 地球の自転周期をナノメートルの世界に取り込んだ分子

体内時計という言葉を知ったことはありますか。私たちがおよそ決まった時間に起きたり眠ったり、あるいはお腹がすいたりするのは、身体の内側に「時間を計る仕組み＝体内時計（専門的には概日時計と呼ぶ）」があるからです。海外旅行に行くと時差ボケを体験すると、たしかに体内に時計があることが実感できます。概日時計はわれわれヒトだけでなく、植物、昆虫、さらにバクテリアにも備わっており、地球自転に伴う環境変化に対応しているあらゆる生命にとって普遍的なメカニズムのようです。

シアノバクテリア（藍藻）は近所の池にもみられる藻の一種で、光合成によってエネルギーを得ているため、太陽光を効率よく受け取るために細胞内で時間を計っています。名古屋大学の近藤孝男先生らの研究によって、シアノバクテリアに概日時計が備わっていることが分かったのは1993年でした。さらにその5年後には、たった3つのタンパク質のはたらきによって概日時計が動いていることが明らかになりました。これらはKaiA、KaiB、KaiC（回転のカイからとられた名前、Kaiタンパク質）と名付けられました。

概日時計を担っている実体（時計遺伝子や時計タンパク質）が初めて発見されたのは、1980年代の初頭です。この最初の研究はショウジョウバエを用いたものでした（2017年のノーベル生理学・医学賞）。その後、哺乳類や植物でも同様の研究が続き、概日時計は多細胞生物に特有のメカニズムかのように思われました。原核生物であるシアノバクテリアという比較的単純な単細胞生物にも概日時計が備わっている、という発見自体が驚きだったのですが、シアノバクテリアのKaiタンパク質には他の生物種の概日時計にはない重大な性質が隠されていました。

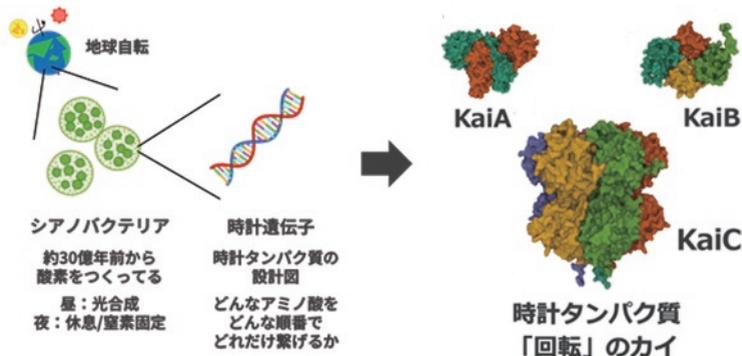


図1：シアノバクテリアの概日時計を駆動する3つの部品

## Kaiタンパク質は試験管内でも時を刻む

シアノバクテリアの概日時計には、他の生物にはない特徴があります。それは細胞を使わずに研究ができるという点です。概日時計は生命がもっているシステムのはずなのに、「細胞は要らない」というのはどういうことでしょうか。

研究で用いるためにあるタンパク質を生産して、その水溶液を作ろうとすると、そのタンパク質を実際に生み出している生物から直接取り出すことはあまりありません。好みのタンパク質の情報をもった遺伝子を大腸菌に組み込んで、必要な栄養を与えつつ、タンパク質を生産してもらおうのです。大腸菌は15分程度で細胞分裂して増殖しますので、研究で用いるタンパク質を大量に生産してくれるのです。KaiAを生産する大腸菌、KaiBを生産する大腸菌、KaiCを生産する大腸菌をそれぞれ別個に培養します。そこから精製というプロセスを通してKaiA、KaiB、KaiCを別々に取り出すのですが、それらは全てシアノバクテリアがもつあらゆる生体物質ともかかわったことがない、純粋な水溶液として得られることになります。

この独立に生産・精製されたKaiA、KaiB、KaiCを、今度は試験管の中で混ぜ合わせます。すると、見た目としてはただの水そのものですが、そのなかでは実はいろいろな化学反応が進行するのです。KaiA、KaiB、KaiCが集合して大きな複合体をつくったり、それが解離したりするサイクルが自発的に起こります。しかもこのサイクルは24時間で一周するのですから(24時間周期)、これはまさに概日時計です。シアノバクテリアの概日時計は、たった3種のタンパク質だけで構成されており、しかも試験管の中で再現できるのです。2005年に発表された驚きの発見が概日時計研究に新たな道を切り開きました。

試験管内で時計タンパク質を調べることで、さまざまなことが分かってきました。例えば、このシアノバクテリアの概日時計が消費するエネルギーは極端に小さく、非常に省エネルギーのシステムであるということです。エネルギーの通貨とよばれるアデノシン三リン酸(ATP)を一日に15分子ほど分解することで駆動しているのですが、その分解速度は筋肉やべん毛などを動かすモータータンパク質に比べると1/1000~1/10000でしかないのです。



図2:概日時計を試験管内に再現するための一連の準備

## 概日時計を動かすKaiCの2つの歯車

Kaiタンパク質の発見から25年、試験管内概日時計の再現の成功から18年の歳月がたちましたが、肝心の謎が残っていました。それは、「Kaiタンパク質はどのように動いて24時間周期のサイクルを生み出しているのか」という本質的な謎です。なかでもATPを分解して、時計システム全体の動きを指揮しているKaiCの複雑なメカニズムを紐解くことが必要でした。

KaiCはKaiA、KaiBより大きく、二重リング構造になっており、唯一ATPを結合するポケットを持っています。上部のリング(C1リング)と下部のリング(C2リング)の両方でATPを利用しています。C1リングは、水分子(H<sub>2</sub>O)を使ってATPをアデノシン二リン酸(ADP)とリン酸(PO<sub>4</sub>)に分解するATP加水分解反応をして、「約24時間」という時計システムの速度を決定しています(ATP加水分解サイクル)。もう一方のC2リングでは、ATPからリン酸を奪って、自身をリン酸化する反応と、奪ったリン酸を外す反応を繰り返しています(リン酸化サイクル)。このリン酸化サイクルは、24時間で一周まわるもので、少なくとも4つの時刻が表示できるようになっています(ST→SpT→pSpT→pST→ST: Sセリン、Tスレオニン、pリン酸化)。

KaiC溶液を試験管に入れて、KaiAとKaiBそしてATPを混合すると、ATP加水分解のペースとリン酸化の度合いの両方が、特定の時間差をもって24時間周期で振動する様子を確認することができます。タンパク質を改変する技術を使って、C1リングのATP加水分解サイクルを速くしたり遅くしたりすると、それにあわせてC2リングのリン酸化サイクルも速くなったり遅くなったりします。C2リングを改変して、特定の時刻だけを固定的に表示するようになると、C1リングの振動も起こりません。このよ

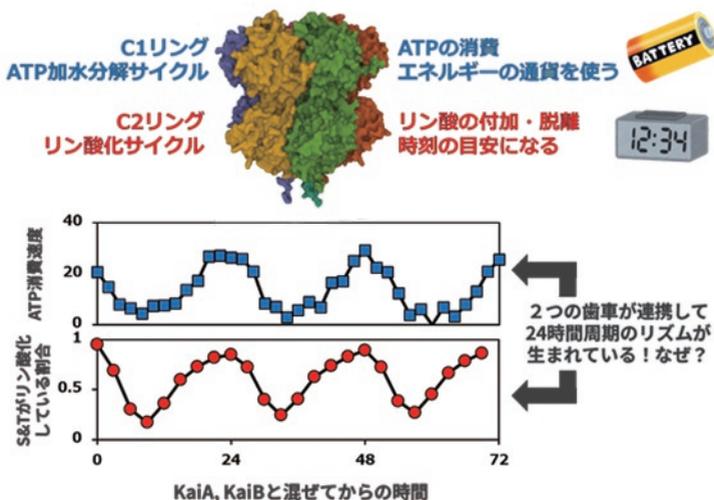


図3: 時計タンパク質KaiCに組み込まれた2つの歯車

うに、バッテリーとしてはたらくATP加水分解サイクルと時刻表示ができるリン酸化サイクルという2つの歯車は密に噛み合っているのです(連携している)。

しかしながら、なぜKaiCがこんなにも複雑なメカニズムを間違えずにスムーズに操縦し、2つの歯車を連携させることができるのか、その秘密をさぐるためには原子レベルでの観察を通して、KaiCの内部をていねいに調べる必要がありました。

### KaiCの内部を覗くためのX線回折実験

KaiCはおよそ $10 \times 10 \times 10$ nm(ナノメートル)のサイズで、4万9千個の原子で構成されています。その内部を覗こうというのですから、nm(ナノメートル)以下の解像度をもつ「眼」を手に入れなければなりません。例えば、2つの炭素原子が共有結合した場合、その結合距離は0.15nmです。こういった微小世界を調べる手立てとして、X線結晶構造解析という手法があります。

結晶は案外なじみがあるかもしれません。ミョウバンの結晶をつくったことがあるひともいるかもしれません。食塩(NaCl)はナトリウムイオンと塩素イオンの結晶です。氷は言うまでもなく、水の結晶です。結晶というのは、原子や分子が規則正しく配列した固体のことを指します。その規則正しい配列に従って、結晶はX線を特定のパターンで散乱(回折)することが知られています。

タンパク質も条件を整えてやれば、結晶になることがあります。タンパク質溶液に、沈殿化を促す試薬などを添加し、適切な温度で静置すれば結晶状態へと移行します。タンパク質結晶化条件を発見するのは非常に難しく、試薬の配合や温度をさまざまに変えて、数千～数万もの条件を試します。

X線は病院のレントゲン撮影で使われている、目には見えない電磁波のことです。タンパク質の結晶にX線を照射し、回折したX線を記録します。コンピュータを用いて回折X線がもつ情報から結晶中の原子の配列を計算する(構造解析)と、タンパク質のかたちを知ることができます。ただし、タンパク質結晶のX線回折実験には超強力なX線が必要となります。

超強力なX線は、SPring-8(兵庫県・播磨)をはじめとする放射光施設で作られています。KaiCの結晶化条件を調べ上げ、結晶らしいものが得られたら放射光施

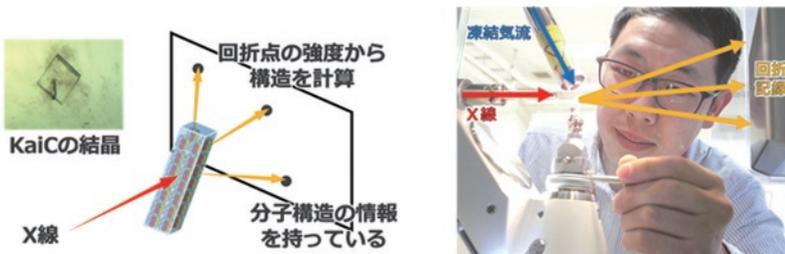


図4: X線結晶構造解析の簡単な説明と実際の回折実験の様子

設へと運搬し、X線を照射して構造解析にチャレンジします。ときにはKaiC結晶の品質が悪く(KaiCの並び方がそれほどきれいではないためX線を回折しない)、全く良いデータが得られないこともあります。7年間かけて何度も結晶化条件を改良して、ついにKaiCのX線結晶構造解析に成功しました。

## KaiCの「1日」を原子レベルで追跡する

ついに明らかになったKaiCの原子レベルでの構造は、2つの歯車(ATP加水分解サイクルとリン酸化サイクル)がまわるようすを捉えていました。

ATP加水分解は、ATPの3つのリン酸が連なった部分(高エネルギーリン酸結合と呼ばれる)に水分子が近づいて反応する(加水)ことで、リン酸がひとつ外れる反応です。KaiC構造データを詳しく見ると、ATPに近づいたり遠ざかったりする水分子、さらに分解した後のADPを見つけることができました。すなわちC1リングのATP加水分解反応を原子レベルで追跡できましたが、この反応がどのように概日時計の速度を決めているのかを明らかにするにはもう一つの歯車であるC2リングを観察する必要があります。

続いてもうひとつの歯車であるリン酸化サイクルでは、セリン(S)とスレオニン(T)という時計の針の動きを追いかけました。まずSもTも未だリン酸化していない状態(ST=「朝」)を確認し、次にTだけがリン酸化された状態(SpT=「昼」)を捉えました。さらに異なる結晶化条件のもとでは、SもTもリン酸化された状態(pSpT=「夕」)、Tからリン酸が外れた状態(pST=「夜」)が捉えられていました。重要なことは、こうしたリン酸化の程度に応じて周辺の構造変化が起こり、ATP加水分解サイクルと連動していたということです。

タンパク質は、20種類のアミノ酸が連なった一本の鎖が折りたたまれて特定の立体的な形状をとっています(SもTもその一部)。ST状態では周辺部分のアミノ酸鎖はヘリ

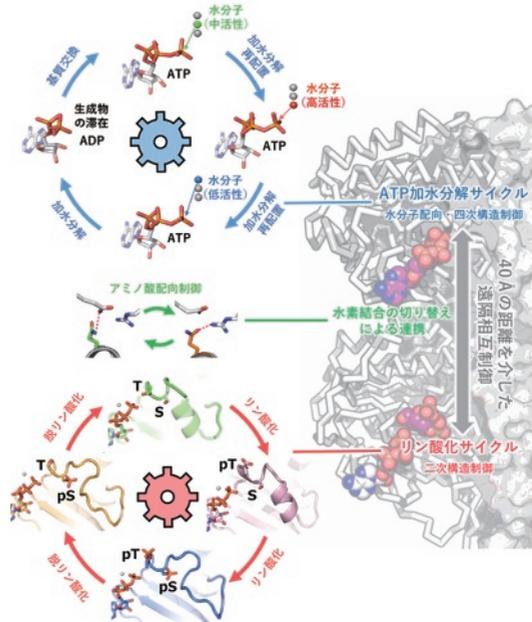


図5: 原子レベルでリズムを刻む時計タンパク質 KaiCの歯車がまわる様子

ックスと呼ばれるらせん状になっていました。驚くことにリン酸化が進んだ(針が進んだ)pSpT状態では、このらせんはするつとほどこかれ、ロープが垂れ下がったような構造になっていました。

さらに驚いたことは、この時刻の切り替えとも言うべきC2リングのらせん型とほどこけ型の変換が、ATP加水分解サイクルに伴うC1リングの動きと連動していたことです。つまり、速度を決める歯車と時刻切り替えをする歯車が、それぞれ化学反応を通してまわりつつもちゃんと噛み合うというような仕組みが、生命がつくるタンパク質に仕組まれていたことが明らかになったのです。

### 原子—生命—天体がシンクロする美しい世界と偉大な科学者たち

このように時計タンパク質KaiCの内部では、2種類の化学反応が組み合わさり、24時間周期で状態が変化する「時計」のシステムが実現されていました。それぞれの歯車とも言うべき化学反応は原子レベルで進行するものですが、それらがKaiCというタンパク質分子のなかで統合され、その情報がKaiAやKaiBに伝わるのです。シアノバクテリア細胞は、Kaiタンパク質の動きや状態を読み取り、昼夜を予測して光合成を効率よく行います。すなわち地球や太陽といった天体の動きにシンクロする原子—分子—細胞連関システムになっているのです。

歴史を通じて、多くの科学者たちが努力し、素晴らしい発見をなしとげたからこそ、こうした現代の研究が可能になっています。近代に原子という考え方をアップデートしたドルトン、原子と原子の組み合わせで分子の化学反応を説明したアボガドロ、X線を発見したレントゲン、結晶構造解析を確立したラウエ、ブラッグ親子、ホジキン、ペルーツ、ケンドルー、植物の体内時計を発見したドゥメラン、日本で初めてX線回折を試みた寺田寅彦…数え上げるとキリがありません。理科の教科書には、数百年にも及ぶこうした偉大な科学者たちの努力が詰まっています。是非とも科学に興味をもつていただき、生物・化学・物理の隔てなく楽しみながら何でも学んでもらい、原子・生命・天体にまたがる不思議な自然の神秘に触れてみてください。

### 著者紹介 古池 美彦(ふるいけ よしひこ)



分子科学研究所 協奏分子システム研究センター・総合研究大学院大学 助教。大阪市立大学大学院理学研究科、日本学術振興会特別研究員DC2を経て2015年より現職。構造生物学、生物物理学、進化学に基づき、多階層時空間にまたがる細胞内現象のメカニズム研究を進める。趣味はオリジナルの本を作ってまわりの人にみせること。