

高速AFMを用いたKaiタンパク質の複合体形成過程のダイナミクス観察

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2020-12-11 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Uchihashi, Takayuki メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00059913

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



高速AFMを用いたKaiタンパク質の複合体形成過程のダイナミクス観察

Publicly Offered Research

All

Project Area

Dynamical ordering of biomolecular systems for creation of integrated functions

Project/Area Number

26102515

Research Category

Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas (Research in a proposed research area)

Allocation Type

Single-year Grants

Review Section

Science and Engineering

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

内橋 貴之 金沢大学, 数物科学系, 教授 (30326300)

Project Period (FY)

2014-04-01 - 2016-03-31

Project Status

Completed (Fiscal Year 2015)

Budget Amount *help

¥7,020,000 (Direct Cost: ¥5,400,000, Indirect Cost: ¥1,620,000)

Fiscal Year 2015: ¥3,510,000 (Direct Cost: ¥2,700,000, Indirect Cost: ¥810,000)

Fiscal Year 2014: ¥3,510,000 (Direct Cost: ¥2,700,000, Indirect Cost: ¥810,000)

Keywords

一分子計測(SMD) / 蛋白質 / 走査プローブ顕微鏡 / ナノバイオ / タンパク質 / 一分子イメージング / 走査型プローブ顕微鏡 / 高速原子間力顕微鏡

Outline of Annual Research Achievements

前年度までにKaiAはKaiCのCIIリング側のみに結合でき、リン酸化KaiCには結合解離を繰り返し、脱リン酸化KaiCには長時間結合することを明らかにした。本年度は、KaiC-KaiA間の相互作用をさらに詳細に調べため、試験管中にKaiA/KaiB/KaiCとATPを混合し、一定時間ごとに試験管から取り出して、KaiCを基板に吸着した状態でKaiAとの相互作用を観察した。その結果、KaiAがKaiCに結合した後に解離するまでの解離速度定数(Koff)がKaiCのリン酸化状態に同期して24時間周期で振動することを見出した。さらに、KaiCの二ヶ所のリン酸化部位(S431, T432)それぞれに対してリン酸化と脱リン酸化状態をミミックした変異体(KaiC-ST, KaiC-SpT, KaiC-pSpT, KaiC-pST)へのKaiAの結合解離を観察し、S431のリン酸化状態がKaiAとの相互作用に最も影響を及ぼしていることもわかった。

一方、KaiBに関してはリン酸化KaiCのCIIリングにも結合することを前年度に明らかにしたが、これについても本年度さらに検討を進めた。リン酸化KaiCが自己脱リン酸化されていく過程で、KaiCに結合するKaiBの分子数を調べたところ、最初は結合分子数は脱リン酸化とともに増加し、約5時間後をピークに減少に転じることがわかった。電気泳動によるKaiCの二ヶ所のリン酸化部位における自己脱リン酸化過程と比較したところ、KaiBのKaiCへの親和性もS431のリン酸化状態に依存していることがわかった。また、KaiCと親和性を高めた変異体KaiBでの測定から、KaiBモノマーはKaiC六量体のサブユニットに協同的に結合することを明らかにした。

これらの成果はKaiタンパク質の分子間相互作用を一分子レベルで解析し、さらに、分子の結合と解離が概日周期と直接的に相関していることを示した初めての例であり、現在、国際共同研究を通じて数値計算による詳細な解析を進めており、高速AFM解析と合わせて概日周期の分子機構に迫れるものと期待される。

Research Progress Status

27年度が最終年度であるため、記入しない。

Strategy for Future Research Activity

27年度が最終年度であるため、記入しない。

Report (2 results)

2015 Annual Research Report

2014 Annual Research Report

Research Products (30 results)

All	2016	2015	2014	Other
-----	------	------	------	-------

All	Int'l Joint Research (1 results)
-----	----------------------------------

Journal Article (9 results) (of which Int'l Joint Research: 1 results, Peer Reviewed: 6 results, Acknowledgement Compliant: 4 results)
--

Presentation (18 results) (of which Int'l Joint Research: 4 results, Invited: 18 results)	Book (2 results)
---	------------------

[Int'l Joint Research] Vanderbilt University/Spring Hill College(米国) ▼

[Journal Article] Functional extension of high-speed AFM for wider biological applications. **2016** ▼

[Journal Article] Potential pre-pore trimer formation by the Bacillus thuringiensis mosquito-specific toxin: Molecular insights into a critical prerequisite of membrane-bound monomers **2015** ▼

[Journal Article] Method of mechanical holding of cantilever chip for tip-scan high-speed atomic force microscope. **2015** ▼

[Journal Article] Long-tip high-speed atomic force microscopy for nanometer-scale imaging in live cells **2015** ▼

[Journal Article] Probing structural dynamics of an artificial protein cage using high-speed atomic force microscopy **2015** ▼

[Journal Article] Two-way traffic of glycoside hydrolase family 18 processive chitinases on crystalline chitin **2014** ▼

[Journal Article] キチナーゼによる結晶性キチンのプロセッシブ（連続的）な分解機構の解明 **2014** ▼

[Journal Article] 高速原子間力顕微鏡による生体試料のダイナミクス観察 **2014** ▼

[Journal Article] 高速原子間力顕微鏡による生体分子のナノ動体撮影 **2014** ▼

[Presentation] 高速原子間力顕微鏡で探る生体分子の機能ダイナミクス	2016	▼
[Presentation] 高速原子間力顕微鏡で可視化する生体分子の構造ダイナミクス	2015	▼
[Presentation] 高速原子間力顕微鏡で可視化するタンパク質の機能動態	2015	▼
[Presentation] Direct Visualization of Single Molecule Dynamics at Work with High-Speed Atomic Force Microscopy	2015	▼
[Presentation] Structural Flexibility and Chaperon Activity of ClpB Observed by High-Speed AFM	2015	▼
[Presentation] Single-molecule manipulation and control of protein conformational dynamics using high-speed AFM	2015	▼
[Presentation] High-speed atomic force microscopy: A new tool for studying protein dynamics at work	2015	▼
[Presentation] 高速原子間力顕微鏡で可視化する分子動態と細胞運動	2015	▼
[Presentation] High-speed atomic force microscope for imaging of biomolecular dynamics at solid surface	2015	▼
[Presentation] Visualization of single molecule dynamics at work with high-speed atomic force microscopy	2015	▼
[Presentation] 高速原子間力顕微鏡によるタンパク質のダイナミクスと物性計測	2015	▼
[Presentation] 高速原子間力顕微鏡の開発とバイオ応用	2015	▼
[Presentation] High-speed atomic force microscope for studying dynamic interactions in biomolecular system	2015	▼
[Presentation] Single-molecule imaging of proteins at work with high-speed atomic force microscopy	2014	▼
[Presentation] Cooperative Conformational Change in Ring-Shaped ATPase Observed by High-Speed AFM	2014	▼
[Presentation] High-speed atomic force microscopy for imaging of protein dynamics	2014	▼
[Presentation] 高速AFMによる生体試料のダイナミクス観察	2014	▼
[Presentation] Visualization of single molecule dynamics at work with high-speed atomic force microscopy	2014	▼
[Book] “光と生命の辞典” 第5章 「光による生命現象の計測」177節 高速原子間力顕微鏡	2015	▼
[Book] “Development of high-speed AFM and its biological applications”, Chapter 8 in Atomic Force Microscopy in Nanobiology	2014	▼

URL:

Published: 2014-04-04 Modified: 2022-01-28