

## リン酸化による生物時計分子分解のメカニズム

### 生物時計による24時間リズム形成機構の制御をさぐる

生物時計は生物が進化の過程において獲得した1日約24時間の時刻を体で推し量る能力であり、睡眠、血圧、体温などのホメオスタシスのリズムを調節している。体内時計機構の解明は、高齢者の不眠、時差ぼけやシフトワークなどによるリズム調節異常など現代の抱える諸問題を解決する糸口になりうる。このような観点から、ヒトの体内における内在性の時計分子の挙動を解明することは臨床的な応用のために不可欠であった。体内時計分子PERには、PER1、PER2、PER3の3つのアイソフォームが存在し、それぞれ1日のリズムに合わせて劇的に増減を示し、その合成から分解までがほぼ24時間で推移することが24時間のリズムを形成する本質と考えられている。そこで当研究部門では体内時計の歯車ともいべきPERの細胞内挙動について精力的に研究を進めている。しかし従来の研究手法では内在性の時計タンパク質が微量であるためその検出ができなかった。今回我々は、PER1に対する抗体を独自に作成し、それを用いて生化学的手法でPER1タンパク質のリン酸化および分解機構の解明を試みた。作成した抗体は

従来の抗体に比べ力価が高く、微量な内在性のタンパク質の検出を可能とした。さらに、特異抗体は現在トランスジェニック社より市販し、一般にも利用され初めた。

具体的には、ヒト培養細胞を高濃度血清刺激する系を用いて体内時計分子PER1のタンパク質レベルでも24時間周期で日周発現変動が観察できることを明らかにし、さらに経時的にPER1タンパク質がリン酸化による修飾を受け、分解へと導かれることを見つけた。PER1のリン酸化および分解はカゼインキナーゼIの阻害剤CKI-7により抑制されることから、カゼインキナーゼI $\epsilon$ および $\delta$ によるリン酸化がPER1の分解を制御していることが予想された。リン酸化修飾は、タンパク質の様々な機能を調節する翻訳後修飾として重要な役割を持つ。時計分子の場合、当初はPER分子の核内移行、核外移行、分解、転写機能などの様々な機能を修飾する可能性が予想されたが、我々の解析から分解が重要な機能制御であり、核内移行、核外移行などの機能にはカゼインキナーゼによるリン酸化は必要ないことも示した。

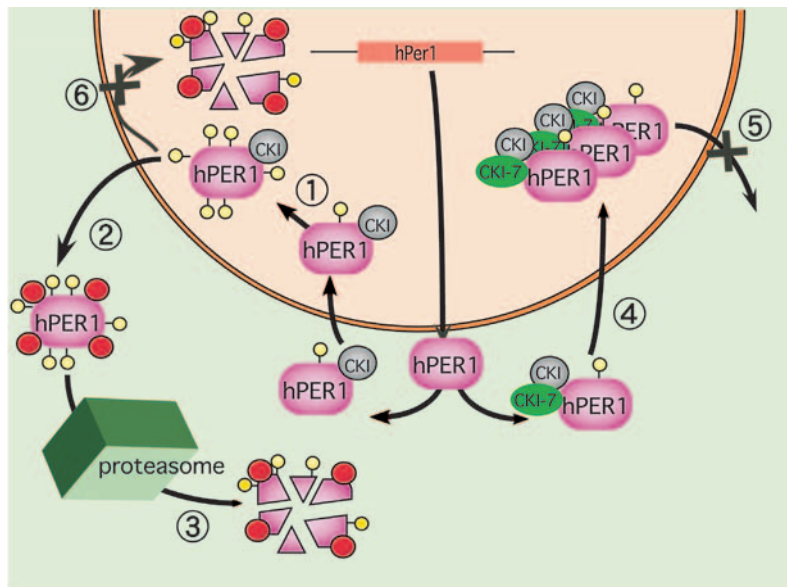


図 体内時計分子 PERIOD1 のリン酸化と分解の制御機構モデル

- ①カゼインキナーゼ 1 による体内時計分子 PERIOD のリン酸化
- ②リン酸化された PERIOD のユビキチン化
- ③ユビキチン化された PERIOD のプロテオームによる分解
- ④ CKI7 による CKI 活性阻害により PERIOD のリン酸化が制御
- ⑤リン酸化制御が PERIOD の核内蓄積を招く
- ⑥核外移行阻害によれ PERIOD は核内でも分解される



みやざき ことみ  
宮崎 歴  
k-miyazaki@aist.go.jp  
生物機能工学研究部門

#### 関連情報

- K. Miyazaki, M. Mesaki, N. Ishida: Biochem. J., Vol. 380, 95-103 (2004).
- K. Miyazaki, T. Nagase, M. Mesaki, J. Narukawa, O. Ohara, N. Ishida: Mol. Cell Biol., Vol. 21, 6651-6659 (2001).
- ノウハウ: 生物時計遺伝子産物に対する特異抗体, HI4NOH 018, 石田直理雄, 宮崎歴, 目崎美穂, トランスジェニック社 (<http://www.transgenic.co.jp>) .