

戦略的創造研究推進事業 CREST  
研究領域「生命システムの動作原理と基盤技術」  
研究課題「シアノバクテリアの概日システム」

## 研究終了報告書

研究期間 平成19年10月～平成 25年 3月

研究代表者：近藤孝男  
(名古屋大学大学院理学研究科・教授)  
(名古屋大学高等研究院・院長)

## § 1 研究実施の概要

### (1) 実施概要

本プロジェクトでは *in vitro* で 24 時間の周期とその温度補償性を裏付けている KaiC の解析を軸に進めた。生化学的な解析は KaiC の ATPase をターゲットとして行なったが、多様な機能とは裏腹に活性が極めて低く安定したタンパク質の解析はかえって容易ではなく、多くの試行錯誤の結果、分子内振子として機能し得る活性を測定することに成功し、我々の基本的モデルを支持する結果が得られた。一方、生物物理的な機能解析ではトリプトファンによる蛍光が有効なマーカーであることが示され、以前からの X 線小角散乱の解析も合わせ、KaiC の構造変化と機能の関連をまとめることが出来た。構造生物学的アプローチは分子内の機能解明に足り得る高分解能を目指して行なったが、全長の KaiC はいまだ見通しは立っていない。しかし、ATPase 活性を担うと思われる前半(CI)については、高品位の結晶が得られ、解析をすすめている。

さらに最近では KaiC の ATPase 活性の測定法を改善し、2つの ATPase とキナーゼ活性の分別した解析をすすめ、ペースメーカー機能をになう CI とリン酸化サイクルを回転させる CII の機能の性質の違いを明にすることを可能にした。これらの解析を突然変異体に展開し、調和振動子と外部 ATP に依存したリン酸化サイクルが位相依存的に相互作用して安定した時計機能が KaiC により実現されていること解明しつつある。

一方、細胞の概日システムを目指した解析も多くの成果が得られた。概日時計の同調の問題は、KaiC 分子間の相互同調と温度サイクルに対する引き込み能について解明することが出来た。この2つの成果は *in vitro* の実験系が細胞システムの解明にも極めて有効なことを示したもので、それぞれ論文で報告した。また3つタンパク質量比の制御による同調機能も報告した。一方、遺伝子発現制御を中心とした細胞システムの解析は、1) KaiC のリン酸化を介さない遺伝子発現リズム、2) *kaiBC* 遺伝子発現の時間的応答の解析、3) KaiC と遺伝子発現制御を連結するメカニズムについて報告した。これらの解析から、細胞システムも KaiC リン酸化サイクルと共鳴できる時間的性質を持つことが明らかになった。

### (2) 顕著な成果

1. 時計タンパク質 KaiC の ATPase の生化学解析により分子内バネの発生を確認し、概日振動の基本的性格の基礎を解明した。

概要: 極めて活性の弱い KaiC の ATPase 活性を解析し、活性が負の自己制御をうけることを示し、概日振動の時定数決定に係っていることを示した。これをもとに概日時計が調和振動の性質をもつことを示すことが出来た。(この成果は既にいくつかの海外での招待講演で紹介し、高い評価を受けた)

2. 時計タンパク質 KaiC の構造と機能の関連についての生物物理学的解析により、KaiC タンパク質の24時間周期の「鼓動」を見いだした。

概要: KaiC の生物物理学的解析(X 線小角散乱や蛍光測定)を進め、分子の動態を詳細に明らかにし、KaiC6 量体の動きについて初めて解明した。

3. 概日振動の振子時計モデルの再構築

概要: 様々な KaiC による概日振動発生モデルを検討し、振子時計に相当する仕組みを KaiC が CI、CII の2つのドメインで実現していることを提唱、このモデルを総説(細胞工学 2011 年12月号)

で発表した。このモデルでは、概日振動の安定性を調和振動的ペースメーカーと温度依存的なリ  
ン酸化サイクルの共鳴により、周期の安定性と振動の持続性を説明することが可能となった。

## §2. 研究構想

### (1) 当初の研究構想

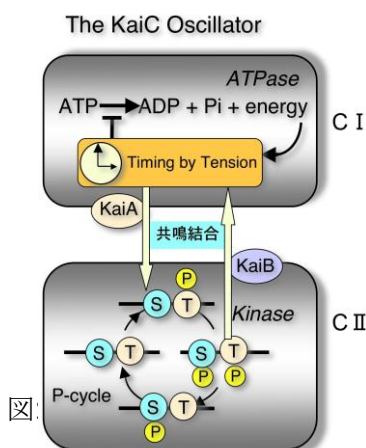
この計画では以下の1)を主目標とし、その成果をもとに2)も解明することを目標とした。

- 1) シアノバクテリアの時計蛋白質 KaiC に潜む概日振動発生機構を解明し、生命がいかんして24時間という地球の周期を蛋白質分子内に取り込んだかという問題について最終解答を得ること。
- 2) この原振動がいかんして細胞内で機能し、多くの生理機能を実現しているかを解明する。このアプローチでは概日時計の同調機能を解明することも重要な目標である。

このために以下の4つのアプローチを基本的戦略とした

#### (1) KaiC の ATPase 活性とリン酸化サイクルのメカニズム

これまでの研究により、KaiC の ATPase 活性は概日リズムの振動数と比例し、温度補償されていること、および KaiC のリン酸化状態により KaiC の活性が kinase と phosphatase の間で切り替わることが明らかになっている。この2つの機能の統合的理解を以下の作業仮説を設定し、生化学的方法で解明する。



1) 潜在的にはもっと高い活性をもつ KaiC の ATPase 活性は、その加水分解エネルギーが KaiC 分子内に蓄積することにより、Tension を発生し、ATPase 活性を現在測定されるレベルまで抑制している。この分子内フィードバック抑制により、ATPase 活性が温度補償された 24 時間周期を規定する。

2) 2つの隣り合ったアミノ酸のリン酸化により実現された S431 のリン酸化により、KaiC 蛋白質はアロステリックな変位を生じ、kinase 活性と phosphatase 活性が切り替わり、リン酸化サイクルが発生する。

3) KaiB の KaiC への結合は2)のアロステリックな変位に連動して制御され、KaiA のリン酸化促進機能を調節する。

4) ATPase 活性には振動子としての性格(KaiC の微細な構造変化によるエネルギーの蓄積と放出機構)をもち、kinase/phosphatase 活性と KaiA,KaiB の介在により、相互作用し、安定した自励振動を発生させる。

#### (2) KaiC の構造生物学的解析

(1)の諸機能は KaiC タンパク質が分子時計の本体であり、概日振動の発生機構は KaiC 六量体内部に存在することを意味している。したがって、KaiC の生化学的解析から導かれる機構を、KaiC の経時的な構造変化として証明することで、概日振動発生機構にせまることができると考えられる。そこで、(1) KaiC の ATPase 活性を制御する KaiC 内の分子構造の解明、(2) KaiC の ATPase 活性と kinase/phosphatase 活性の相互作用の解明、(3) KaiC のリン酸化状態によるアロステリック構造変化に伴う kinase/phosphatase 活性の切り替え機構の解明、を目標とする。

### (3)細胞内での KaiC リン酸化サイクルの動態と KaiC の機能

1. シアノバクテリア細胞の概日リズムは非常に安定であるが、試験管内においても KaiC リン酸化リズムは 10 日以上減衰せずに観察される。それは KaiC 間のコミュニケーション(KaiC 六量体間の単量体交換)によって振動が自己同調しているためであると考えられる。そこで、この KaiC 六量体間の単量体交換に着眼し、細胞の概日リズムの安定化機構を解析する。

2. 細胞の概日時計は遺伝子発現をゲノムワイドに制御することで、細胞活動全体を調整しているが、最近 KaiC リン酸化サイクルによる遺伝子発現制御経路で働く *rpaA*, *labA* という重要な遺伝子が発見された。さらにシアノバクテリアの DNA Chip 及び全遺伝子のレポーター株が整備されている。これを足がかりに KaiC リン酸化サイクルがグローバルな遺伝子発現応答を制御する細胞内の概日システムを解析する。

3. 概日時計の重要な性質の一つは環境への同調能をもつことがあるが、試験管内 KaiC リン酸化サイクルは温度の変化に同調できることがわかった。この試験管内での同調機構を詳細に解析したうえで、細胞内での概日時計同調機構の統合的な理解を目指す。

### (4)モデリング・シミュレーション

概日時計は自律的振動システムであり、数理モデルによる理解が不可欠な対象である。*in vivo*, *in vitro* で実験的に検証可能なシアノバクテリアの概日システムはこの分野でのモデルケースの一つとなっている。3つの因子からなる振動中枢は比較的単純な反応系と言えるが、KaiC 蛋白質の酵素活性・速度、構造変化、修飾、さらに Kai 蛋白質群の相互作用・複合体形成など様々なレベルの反応系から構成されている。*in vivo*, *in vitro* 系それぞれについて、これら個別反応の反応様式・個別反応を結びつける論理・系全体動態の各段階で理解するためには数理モデルは必須である。本研究課題では他グループとも連携しながら、データ分析・モデル改良・分析データの実験へのフィードバックを重ねることで、システムの定量的な記述を目指すとともに、その分子実体を捉える新たな研究展開・実験指針を模索する材料とする。

#### (2)新たに追加・修正など変更した研究構想

極めて活性の弱い KaiC がシアノバクテリアの概日振動を規定していることは大変魅力的な事実である。しかし3つの蛋白質でほぼ完璧な振動を発生させることとは、裏腹に活性は極めて弱いため、解析は予想以上に困難であった。このため機能モデルを構築し、解析を行うことが不可欠であった。中間評価の時点ではまだ仮説にすぎなかったこのモデルを高く評価頂き、激励頂いたことに深く感謝したい。

中間評価でのアドバイスなどを元に、以下のような対応を行い、研究を進めた。

#### 1) 基本モデルの検討

KaiC による概日振動を機械式時計をモデルに検討し、基本モデルを改訂した。ここでは CI と CII をペースメーカーと発信器としてその相互作用の結果、初めて安定した周期と活発な振動を両立させることが出来た。

#### 2) 生化学的機能解析

KaiCATPase 活性の感度、時間分解能の改善などを徹底的に行い、KaiC の ATPase 活性について、変更時の弱い活性でなく、外部変化に応答するアクティブな性質を解明出来た。

#### 3) 生物物理学的解析

トリプトファン蛍光の利用やX線小角散乱,ストップフローなど導入でタンパク質の「息づかい」に迫

ることが出来た。

#### 4) 構造生物学的解析

高分解能な KaiC の結晶の作成は極めて困難なため、主力を CI の結晶に切り替えることで、周期に対応する構造レベルの解析を可能にした。全長と NMR の使用も残念ながら実現せず、将来の課題となった

#### 5) 新たに重要を増したアプローチ

アドバイスの従い KaiC 機能モデルに立脚した変異体の利用を進め、いくつかのキーとなる変異体を利用した解析を進めた

最後に、「最終解答を得る」とした目標は達成出来なかった。しかし、新たな方法論を開発しながら進むことができ、今後の解析に道を開くことが出来たと考えている。幸い、科研費(特別推進研究2012—2016)の支援もきまっているので、あらたに概日時計の設計が可能レベルまで解析を進めたい。

なお、この研究はシアノバクテリアの概日時計のみでなく、我々人類の時計にも貢献できる可能性を秘めており、タンパク質の新たな機能(情報を扱うタンパク質)の解明につながる可能性もあると思われる。

### § 3 研究実施体制

#### (1)「近藤」グループ

##### ① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
近藤 孝男	名古屋大学大学院理学研究科	教授	H19.10～
小山 時隆	同上	助教	H19.10～H20.3
秋山 修志	名古屋大学大学院理学研究科 分子科学研究所	講師～准教授 (H23.4より) 教授 (H24.4より)	H21.4～
北山 陽子	名古屋大学大学院理学研究科	助教	H19.10～
寺内 一姫	同上	特任講師	H20.4～H21.3
大川(西脇) 妙子	同上	特任講師	H20.4～
孫 世永	同上	研究員	H20.3～H24.2
伊藤(三輪) 久美子	同上	研究員	H20.4～
芹川 雅之	同上	研究員	H20.4～H21.3
伊藤 浩史	同上	研究員	H20.4～H20.11
村山 依子	同上	研究員	H20.4～H21.12
小嶋 勝	同上	GCOE 研究員	H19.10～H20.9
伊藤 照悟	同上	GCOE 研究員	H20.4～H20.9
尾上 靖宏	同上	研究員	H21.9～
向山 厚	同上	研究員	H22.1～H24.8
高井 直樹	同上	研究員	H22.1～H23.8
西川 智絵	同上	研究員	H20.4～
加藤 明	同上	研究員	H22.8～H22.12 H23.8～H24.10
近藤 尚代	同上	研究補助員	H19.10～H24.3
古田 純子	同上	研究補助員	H20.4～
吉村 久子	同上	研究補助員	H20.4～
遠山 奈々子	同上	研究補助員	H20.4～H21.3
李 春子	同上	研究補助員	H20.12～
名切 和枝	同上	研究補助員	H20.12～
井出 由利	同上	研究補助員	H21.12～
大嶋 麻希子	同上	研究補助員	H20.5～H21.3
水野 久代	同上	研究補助員	H21.4～H22.3
常泉 歌苗	同上	研究補助員	H22.4～H24.4
角田 明奈	同上	M2	H21.7～H22.3
飯塚 勝美	同上	M1～M2	H21.7～H23.3
大迫 政人	同上	M1～M2	H21.7～H23.3
柴田 有紀	同上	M1～M2	H21.7～H23.3
塚本 英貴	同上	M1～M2	H21.7～H23.3
谷口 廣樹	同上	M1～M2	H22.4～H24.3
川本 晃弘	同上	M1～M2	H22.4～H24.3
佐藤 雅子	同上	M1～M2	H23.4～
落合 恵利加	同上	M1～M2	H23.4～
堀端 勇吾	同上	M1	H24.4～

②研究項目

- KaiC の ATPase 活性とリン酸化サイクルのメカニズム
- KaiC の生物物理学的解析
- KaiC の構造生物学的解析
- 細胞内での KaiC リン酸化サイクルの動態と機能
- モデリング・シミュレーション



## § 4 研究実施内容及び成果

### シアノバクテリアの概日システム(名古屋大学 近藤グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

##### <4.1.1> KaiC の ATPase 活性とリン酸化サイクルのメカニズム

KaiC の ATPase 活性は約 15ATP/day/ KaiC と極めて低いにも係らず、正確に温度補償されている(Terauchi et al 2007)。さらにその活性が概日時計の速さに相関する。この事実は KaiC の ATPase 活性が概日振動の律速要因として、あたかも振子のように振動発生に係ることが期待される。この活性がどのように制御されているのか。我々は図4-1に示したように ATPase 活性が分子内フィードバックを生じ、恰もバネのように自身の活性を抑制するという可能性を作業仮説とした。ATPase の自己抑制が KaiC 分子内で発生しているとすれば、複数の分子の係わる代謝のフィードバック制御のように分子間のブラウン運動によるプロセスが含まれないので、温度補償性を可能とする精度を得ることが出来るだろう。しかし自己抑制が分子内で起こるとすればタンパク質が機能的に生成することともに抑制がかりその経過を確認することは難しい。この場合、我々の取り得る戦略は限られるが、温度シフトが *in vitro* のリズムを位相変位させることから(Yoshida et al 2009)、温度変化に対する ATPase の反応を詳細に解析することが有効であると期待された。

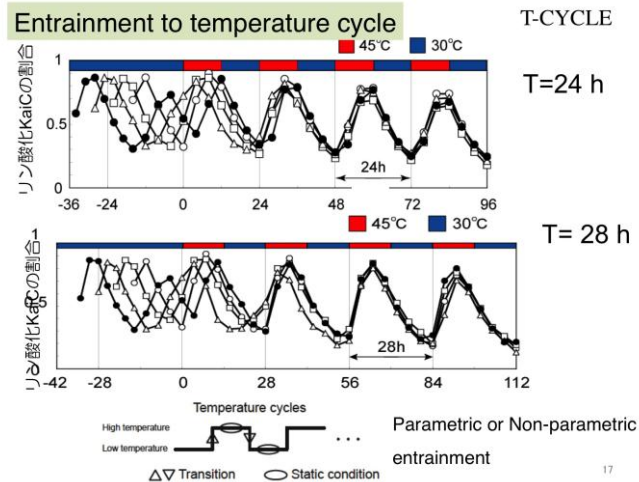


図4-1 温度サイクルによる同調

##### <4.1.2> KaiC の脱リン酸化過程の反応機構

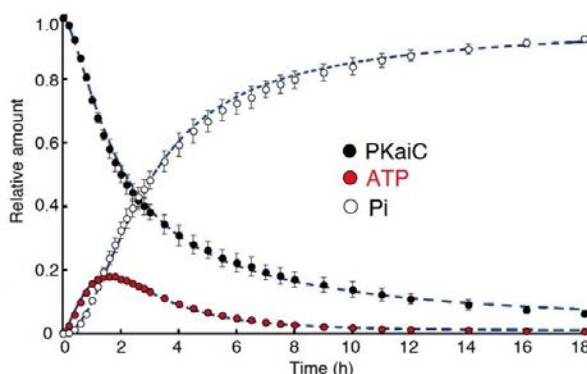


図 4-2 リン酸化 KaiC の脱リン酸化過程における各成分の変化

我々は以前の研究で、KaiC が Ser431 と Thr432 の 2ヶ所でリン酸化修飾を受けること、またそれぞれのアミノ酸がリン酸化・脱リン酸化されることで計4つのリン酸化状態を取ることを示してきた。KaiC の脱リン酸化ダイナミクスを定量的に解析したところ、リン酸基が非凡な反応機構に沿って KaiC 分子内を転移していることが明らかとなった<sup>1)</sup>。現在、この新しい反応機構が生物時計の性質とどのように関係づけられるのか、注意深く研究を進めている。一方、KaiC の脱リン酸化過程を担う phosphatase 活性について、詳細な

解析を行い、通常の phosphatase とは全く異なった反応機序を明らかにすることが出来た。(Nishiwaki T & Kondo T, 2012).

#### <4.1.3>細胞内での KaiC 蛋白質時計の機能

細胞の概日システムの解明のため、これまでに *kaiBC* オペロンの誘導の時間経過が概日周期と調和するものであることを示し(Murayama et al 2007)、細胞内の遺伝子発現も概日周期に近い値となっていることを示した。また *kaiA* の過剰発現により KaiC のリン酸化サイクルを停止しても、*kaiBC* 発現の概日リズムが発生する (Kitayama et al 2008)。これは一見、試験管内のサイクルと矛盾するようだが、その周期や温度補償性はやはり KaiC に依存していた。すなわち、遺伝子発現制御機構も独自に振動を発生しうるが、その振動は細胞内では KaiC リン酸化サイクルと共鳴し、安定なものとなることを示している。今後、関連遺伝子との2重変異体を作製し、KaiC から直接行われる遺伝子発現制御機能を細胞レベルで検出する。

さらに我々は KaiC リン酸化サイクルと包括的遺伝子発現をリンクさせる3つの因子を同定し、その機能を分子生物学的に解明した(Taniguchi et al 2010,2012, Hanaoka et al 2012)。一方、KaiC リン酸化サイクルの周期は KaiA/KaiC 質の蛋白質量比の影響を受けるが、これを詳細に観察することで、周期の調節による同調(いわゆるパラメトリック同調)が実現されている可能性を示した(Nakajima et al 2010)。また今後の構造生物学的解析に重要な意味を持つと期待される、KaiC 変異体の抑制変異をスクリーニングし、すでに5つほどの興味深い変異が得られている。

我々は *in vitro* の KaiC リン酸化サイクルの解析から KaiC6 量体間での同期 (Itoh et al 2007)と外部の温度サイクル(Yoshida et al 2009)に引き込みを確認した。この2つの KaiC の同調機構は大変魅力的な問題であるが、その前提となる基本振動の発生と 6 量体の動態解明が進んでから行なうべき課題であり、現時点ではそれに集中する。

#### <4.1.4>モデリング・シミュレーション

ATPase の生化学的解析、結晶構造解析、生物物理学的解析といった個々の課題については、随時、反応機構や立体構造のモデリングを進めている。これらの検討は数式を駆使したものではなく、振子時計モデルのように概日時計の基本的性質に関わるもので、検証は実験的行う方針で進めてきた。モデルの専門家から多くのモデルが提出されているが、概日時計の特性、あるいは KaiC の特性に根ざしたものではなく、非特異的な解析が多く、残念ながら実験的解析には有効ではなく、当初予定していた共同研究は行われていない。理論の専門家も含めたモデリングが必要な段階は、生化学的解明が飛躍的にすすみ、構造レベルの知見も蓄積し、定量的なシミュレーションが可能になった時であろう。

#### <4.1.5> KaiC の生物物理学的解析

定常状態にある KaiC は、リン酸化状態との共役を保ちつつ ATPase 活性を変動させる。両者の密な関係は共役のメカニズムそのものを解明するうえで大変やっかいな問題であるが、一方、その性質を巧みに利用することで、リン酸化状態という反応軸を通して ATPase の制御に関わる構造変化を捉えることが可能となる。

ATPase 活性(～リン酸化状態)と連動した KaiC の動的な構造変化を探るため、X線小角散乱や蛍光分光法を利用した。X線小角散乱とは、水溶液中のタンパク質からの散乱を計測する手法で、タンパク質の姿・形を生理的条件下で検証することができる。一般的な小角散乱実験から検証できるのは空間分解能が数十 Å 程度の分子形状であり、X線結晶構造解析ほどの高分解能構造は望めない。しかし、KaiC のように特定の条件におけるX線結晶構造が判明してれば、小角散乱で調べた分子全体の低分解能構造と照らし合わせることで、ドメインの空間配置や形状変化を同定することが可能となる。

水溶液中を漂う KaiC にX線を照射し、その散乱パターンの時間変化を丁寧に解析した。その結果、散乱体の分子量に比例する原点散乱強度がリン酸化状態に依存せずほぼ一定値であったのに対し、見かけの回転半径には顕著な変化が見出された。これは、KaiC を構築するプロトマーの数を6個に保ちつつも、6量体の形状を変化させていることを示す結果である。

既報のX線結晶構造や電子顕微鏡像によると、KaiC は 58 kDa のプロトマーが樽状に会合した6量体を形成している。リン酸化状態の異なる KaiC についても結晶構造が報告されているが、その構造変化はリン酸化部位の近傍に局在しており、構造変化の規模も極めて限定的である。X線小角散乱で観察された回転半径の変化は、数個のアミノ酸側鎖が配向を変化させるような小規模なものではなく、6量体プロトマー間の配向を変化させるような大規模な構造転移を示唆する。

粗視化モデルや結晶構造をベースとしたモデルを構築し、KaiC の溶液構造転移の詳細を定量的に検証した。その結果、C 末端ドメインが多段階的に再配置され、結果として C 末端リングが分子内外方向へ開閉していることが解明された

(図 4-3)。この開閉運動を支える部位にアミノ酸変異を導入したところ(R393C)、ATPase 自体の温度補償性はほとんど影響を受けないが、リン酸化サイクルの温度補償性が著しく悪くなることを見出した。この結果は、ATPase 活性がC末端リングの開閉運動と連動しており、それを通してリン酸化サイクル、KaiA や KaiB の離合集散とカップリングしていることを示す(原著論文発表8)。この成果は、溶液中の KaiC の分子鼓動をX線小角散乱で捉えた画期的な成果であり、新聞記事での紹介(プレス発表12, 13)に加え、Faculty of 1000 Biology としても取り上げられている。

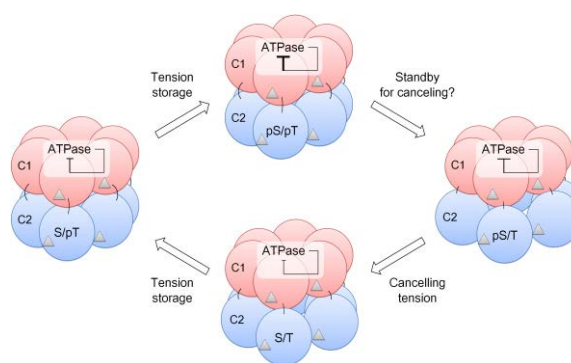
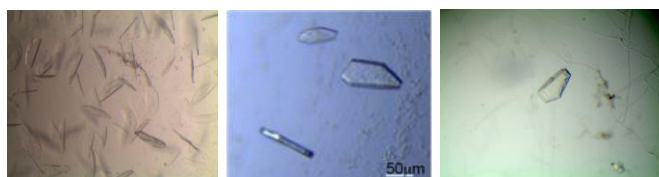


図 4-3 X線小角散乱により解明された KaiC の動的構造転移  
赤色および青色の球は KaiC の N 末端(C1)および C 末端(C2)ドメインを表す。ATPase 活性の大部分は C1 ドメインにあり、分子内フィードバックの強さは、C2 ドメインの開閉運動として伝達される。C2 ドメインのリング半径は pS/T と呼ばれるリン酸化状態で最も大きくなる。ATPase 活性の上昇は、C2 リングが開いた状態(pS/T)から閉じた状態(S/T)への構造転移と共役している。

#### <4.1.6> KaiC の構造生物学的解析

プロジェクト開始より KaiC の結晶化条件を精力的にスクリーニングし、その結果、幾つかの有望な結晶化条件を見出すに至っている(図 4-4)。中には 2.9Å 分解能の反射を示す有望な結晶も観察されたが、結晶核生成や



結晶成長速度の制御が不十分であるためか、X線結晶構造解析に適した良質の単結晶を得るには至っていない。単結晶性や空間分解能を改善するため、過去に実績のある添加剤をリストアップし、それらを有望な結晶化条件に加えて結晶の品質が改善されるかを検証してきた。また、結晶核の生成や成長速度を最適化するため、フェムト秒レーザー照射や溶液攪拌を用いた結晶成長法を試みてきた。どの方法が KaiC の結晶化に有効であるかどうかは現時点で断言できないため、今後もあらゆる可能性を追求していくことが重要だと考える。よって、研究室内では引き続き小分子添加剤のスクリーニングやコンストラクトの再構築を含めて精力的に活動を続けていく。

図 4-4 これまでのスクリーニングで見つかった全長 KaiC の結晶。各パネルで結晶化条件は異なる。いずれも単結晶性が良くない。

## § 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 13件)

1. Terauchi, K., Kitayama, Y., Nishiwaki, T., Miwa, K., Murayama, Y., Oyama, T., and Kondo, T. (2007) ATPase activity of KaiC determines the basic timing for circadian clock of cyanobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104** (41): 16377-16381
2. Ito, H., Kageyama, H., Mutsuda, M., Nakajima, M., Oyama, T., and Kondo, T. (2007) Autonomous synchronization of the circadian KaiC phosphorylation rhythm. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **14** (11): 1084-1088
3. Murayama, Y., Oyama, T., and Kondo, T. (2007) Regulation of circadian clock gene expression by phosphorylation states of KaiC in cyanobacteria. *J. Bacteriol.* **190** (5): 1691-1698
4. Kitayama, Y., Nishiwaki, T., Terauchi, K., and Kondo, T. (2008) Dual KaiC-based oscillations constitute the circadian system of cyanobacteria. *Genes & Development.* **22** (11): 1513-1521
5. Yoshida, T., Murayama, Y., Ito, H., Kageyama, H., and Kondo, T. (2009) Non-parametric entrainment of the in vitro circadian phosphorylation rhythm of cyanobacterial KaiC by temperature cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106** (5): 1648-1653
6. Taniguchi, Y., Takai, N., Katayama, M., Kondo, T., and Oyama, T. (2010) Three major output pathways from the KaiABC-based oscillator cooperate to generate robust circadian kaiBC expression in cyanobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **107** (7): 3263-3268
7. Nakajima, M., Ito, H., and Kondo, T. (2010) In vitro regulation of circadian phosphorylation rhythm of cyanobacterial clock protein KaiC by KaiA and KaiB. *FEBS Letters.* **584** (5): 898-902
8. Murayama, Y., Mukaiyama, A., Imai, K., Onoue, Y., Tsunoda, A., Nohara, A., Ishida, T., Maeda, Y., Terauchi, K., Kondo, T., and Akiyama, S. (2011) Tracking and visualizing the circadian ticking of the cyanobacterial clock protein KaiC in solution. *EMBO J.* **30** (1): 14168-14178
9. Akiyama, S. (2012) Structural and dynamic aspects of protein clocks: How can they be so slow and stable? *Cell. Mol. Life. Sci.* **69** (13): 2147-2160
10. Nishiwaki, T., and Kondo, T. (2012) Circadian autodephosphorylation of cyanobacterial clock protein KaiC occurs via formation of ATP as intermediate. *J. Biol. Chem.* **287** (22): 18030-18035
11. Hanaoka M, Takai N, Hosokawa N, Fujiwara M, Akimoto Y, Kobori N, Iwasaki H, Kondo K and Tanaka K. RpaB, Another Response Regulator Operating Circadian Clock-dependent Transcriptional Regulation in *Synechococcus elongatus* PCC 7942 2012 J Biol Chem, 287,26321-7
12. Taniguchi Y, Nishikawa T, Kondo T, Oyama T. Overexpression of lalA, a paralog of labA, is capable of affecting both circadian gene expression and cell growth in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *FEBS Lett*, 586, 753-759 (2012)
13. Goda K, Ito H, Kondo T and Oyama T. Fluorescence Correlation Spectroscopy to Monitor Kai Protein-based Circadian Oscillations in Real Time. *J. Biol. Chem*, 2012 287, 3241-

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. Kondo, T., "A cyanobacterial circadian clock based on the Kai oscillator", *Clocks and Rhythms* Edited By Stillman, B., and Stewart, D., Cold Spring Harbor Laboratory press (2008)
2. 寺内一姫, "シアノバクテリアの概日時計再構成系とその反応機構", *時間生物学*, Vol.14, No.1, 29-35 (2008)
3. 近藤孝男, "生命の時を刻むタンパク質", *理 Philosophia*, No.16, 12-15 (2009)
4. 伊藤久美子, 小山時隆, "ウキクサの例にみる植物の光周性反応", *光周性の分子生物学*, 1-12, (2009)
5. 近藤孝男, "Kai C: 生命のときを刻む蛋白質", *心電図*, Vol.30, 29-42(2010)
6. 近藤孝男, "生命の時を刻むタンパク質", *學士會会報*, No.883, 73-80 (2010)

7. Ito-Miwa, K., and Oyama, T., "Photoperiodic control of flowering in *Lemna*", *Photoperiodism: The Biological Calendar*, 74-87, (2010)
8. 近藤孝男, "生物リズムの発振機構: 生命の時間をデザインする～基礎の基礎", *細胞工学*, Vol.30, No.12, 1238-1243 (2011)
9. 秋山修志, 近藤孝男, "KaiC タンパク質による概日時間", *細胞工学*, Vol.30, No.12, 1269-1276 (2011)
10. 秋山修志, 向山厚, "時計タンパク質 KaiC の概日性分子鼓動", *実験医学*, Vol.29, 1281-1284 (2011)
11. 近藤孝男, "第 13 章 概日時計", *21 世紀の分子生物学*, 212-230, (2011)
12. A. Mukaiyama, T. Kondo and S. Akiyama, *SPRING-8 Research Frontiers 2011* 47-48 (2012).

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 44 件、国際会議 19 件)

(国内会議)

1. 小山時隆(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの時計を見る、知る、作る, ファイトテクノロジー研究会研究交流会 第 19 回(大阪), 2007 年 10 月 20 日
2. Ito, H. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Origin of the resilience of the cyanobacterial circadian clock, 第 14 回日本時間生物学会学術大会(東京), 2007 年 11 月 7 日
3. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの概日システム, 第 30 回日本分子生物学会年会(横浜), 2007 年 12 月 11 日-15 日
4. 大川妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 概日時計タンパク質のリン酸化, 大阪大学蛋白質研究所セミナー「タンパク質翻訳後修飾」(大阪), 2008 年 1 月 11 日
5. 北山陽子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 時計タンパク質 KaiC が制御するシアノバクテリアの概日時計システム, 日本遺伝学会第 80 回年会(名古屋), 2008 年 9 月 4 日
6. 寺内一姫(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの一日-Kai 蛋白質が刻む 24 時間, (社)日本植物学会主催 平成 20 年度一般講演会(東京), 2008 年 10 月 18 日
7. Ito, H. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Synchronization of a circadian clock in vitro, 第 31 回日本分子生物学会年会(神戸), 2008 年 12 月 10 日
8. 寺内一姫, 岩田智成, 角田明奈, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質の ATP 加水分解が生み出す概日時計発振メカニズム解析, 第 50 回日本植物生理学会年会(名古屋), 2009 年 3 月 22 日
9. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), Kai タンパク質によるシアノバクテリアの概日時計機構, 京都大学薬学研究科特論(京都), 2009 年 7 月 8 日
10. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 時間生物学概論: タンパク質が時を刻む シアノバクテリアの体内時計, 第 24 回犬山不整脈カンファレンス(名古屋), 2009 年 8 月 29 日
11. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの概日時計: KaiC による特性規定 KaiC defines circadian clock of cyanobacteria, 第 32 回日本神経科学大会 シンポジウム「生命における時計の獲得と時間センシング機能」(名古屋), 2009 年 9 月 17 日
12. 北山陽子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 時計タンパク質 KaiC が制御するシアノバクテリアの概日時計システム, 第 82 回日本生化学会年会(神戸), 2009 年 10 月 22 日
13. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), Circadian System of Cyanobacteria Based on Biochemistry of KaiC, 第 82 回日本生化学会年会 シンポジウム「生物時計と生体リズム」(神戸), 2009 年 10 月 22 日
14. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの時計蛋白質 KaiC の機能のデザイン, 第 16 回日本時間生物学会学術大会 シンポジウム「生物時間の設計原理」(大阪), 2009 年 10 月 26 日
15. 北山陽子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), ラン藻の概日時計の制御機構, ラン藻研究会 2009(千葉), 2009 年 12 月 4 日
16. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 概日時計タンパク質 KaiC シアノバクテリアの一

- 日を測る ATPase, 第 83 回日本細菌学会総会 ワークショップ「光とバクテリア」(横浜), 2010 年 3 月 27 日
17. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの概日システム, CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」平成 22 年度公開シンポジウム(東京), 2010 年 6 月 1 日
  18. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), 時計タンパク質の複合体形成ダイナミクスと遅い構造転移  $\sim \text{is}^{-1}$  から  $\text{day}^{-1}$  まで $\sim$ , 第 10 回日本蛋白質科学会年会(札幌), 2010 年 6 月 17 日
  19. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質はどのようにして時を測るのか, 第 1 回バイオ単分子研究会(東京), 2010 年 8 月 6 日
  20. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), 生物の不思議  $\sim$  体内時計  $\sim$ , サイエンス・サマーキャンプ(兵庫), 2010 年 8 月 10 日
  21. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 時計蛋白質 KaiC が刻むシアノバクテリアの一日, 東京大学医学系大学院 基礎・臨床・社会医学統合講義(東京), 2010 年 9 月 1 日
  22. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), 生物物理の未来を語る, 生物物理学会 50 周年記念シンポジウム・パネルディスカッション(仙台), 2010 年 9 月 22 日
  23. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 生命の時間をはかるタンパク質, 第 6 回名古屋大学ホームカミングデー(名古屋), 2010 年 10 月 16 日
  24. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), X線小角散乱を使って生体高分子の鼓動を捉える, 第 1 回高分子科学研究会(兵庫), 2010 年 11 月 6 日
  25. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 生命の一日を測定するタンパク質, サイエンスカフェ・ガリレオ・ガリレイ(名古屋), 2010 年 11 月 7 日
  26. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質はどのようにして時を測るのか, 理論計算領域オープンセミナー(愛知), 2011 年 4 月 4 日
  27. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), Kai protein oscillator as cyanobacterial circadian clock, The Global COE Liaison Laboratory regular seminar(熊本), 2011 年 4 月 13 日
  28. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの概日時計の分子遺伝学と時計蛋白質 KaiC の分子生理・生化学, 第 83 回日本遺伝学会大会(京都), 2011 年 9 月 21 日
  29. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC の分子鼓動の可視化, 第 84 回日本生化学会大会(京都), 2011 年 9 月 22 日
  30. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), KaiC の ATPase によるシアノバクテリアの概日ペースメーカー, GCOE- Neuro Tumor(名古屋), 2011 年 10 月 18 日
  31. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), Kai タンパク質時計に秘められた秩序ある遅いダイナミクス, 分子研研究会「実験と理論による高次分子システムの機能発現の分子論的理解」(愛知), 2011 年 11 月 2 日
  32. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), X線小角散乱を用いた動的構造解析 $\sim$ シアノバクテリア時計蛋白質の概日性分子鼓動 $\sim$ , 第 1 回名古屋大学反応科学超高压電子顕微鏡ワークショップ(名古屋), 2011 年 11 月 21 日
  33. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 緑色細胞の概日リズム: 概日周期の謎, 第 9 回糖鎖科学コンソーシアム, 第 18 回日本時間生物学会学術大会(名古屋), 2011 年 11 月 24 日
  34. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの一日を刻む時計タンパク質 KaiC, 第 9 回糖鎖科学コンソーシアム(名古屋), 2011 年 11 月 24 日
  35. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), タンパク質時計に秘められた秩序ある遅いダイナミクス $\sim$ 源振の分子科学的解明と新光源への期待 $\sim$ , 第 25 回日本放射光学会年会(佐賀), 2012 年 1 月 7 日
  36. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), KaiC の ATPase 活性の分子内フィードバックによるシアノバクテリアの概日ペースメーカー, 第 89 回日本生理学会大会(長野), 2012 年 3 月 31 日
  37. 向山厚, 尾上靖弘, 大迫政人, 近藤孝男, 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計蛋白質 KaiC の ATPase に備わる自己抑制制御機構, 第 12 回日本蛋白質



- 質科学会年会(名古屋), 2012年6月21日
38. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), 時計タンパク質 KaiC の概日性分子鼓動, 第12回日本蛋白質科学会年会(名古屋), 2012年6月22日
  39. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), Kai タンパク質時計の源振の分子科学的解明に向けて, 第19回日本時間生物学会学術大会(東京), 2012年9月16日
  40. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの一日を刻む時計タンパク質 KaiC, 名古屋大学 理学部講演会(名古屋), 2012年11月28日
  41. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), タンパク質が刻む生命の時間, 第13回三省堂サイエンスカフェ(名古屋), 2012年12月1日
  42. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 時計タンパク質 KaiC による時計機構, 横浜市立大学 特別講義(横浜), 2012年12月5日
  43. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの一日を刻む時計蛋白質 KaiC, 第10回プロテインホスファターゼ国際カンファレンス(名古屋), 2013年2月8日
  44. 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの概日システム, CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域・公開シンポジウム(東京), 2013年2月25日

(国際会議)

1. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian System of Cyanobacteria Timed by a Clock Protein Society for Research on Biological Rhythms, 11<sup>th</sup> Biennial Meeting (U.S.A.), May 20, 2008.
2. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian timing *in vitro* by clock protein KaiC of cyanobacteria, 80th Ann Meeting of Genetic Society of Japan (Nagoya, Japan), September 3, 2008.
3. Akiyama, S., Nohara, A., Ito, K. (RIKEN Spring-8 Center), Maeda, Y., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Real-time SAXS Observation of Assembly and Disassembly Dynamics of Cyanobacterial Clock Proteins, NSRRC Workshop X-ray Crystallography / Spectroscopy (Taiwan), October 9, 2008.
4. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), KaiC as timebase for circadian clock of cyano-bacteria, The 17<sup>th</sup> CDB Meeting (Kobe, Japan), October 14, 2008.
5. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Dual control of the cyanobacterial circadian system, Gordon Research Conference 2009 -Chronobiology (U.S.A.), 2009年7月20日
6. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian System of Cyanobacteria Based on Biochemistry of KaiC, International Symposium on Biological Rhythm, Symposium: Molecular Mechanisms of Circadian Clock (Hokkaido, Japan), August 2, 2009.
7. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), The circadian clock in cyanobacteria: How the clock protein KaiC counts 24 hour, Biological Center, University of Groningen (Netherlands), August 21, 2009.
8. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Kai protein oscillation and cyanobacterial circadian clock, XI Congress of the European Biological Rhythms Society (France), August 24, 2009.
9. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Ticking a day by cyanobacterial clock protein KaiC, 9<sup>th</sup> TLL Life Sciences Symposium (Singapore), January 25, 2011.
10. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Intramolecular feedback of KaiC ATPase is the basic pacemaker of circadian clock in cyanobacteria, III World Congress of Chronobiology (Mexico), May 6, 2011.
11. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian timing of cyanobacteria by intramolecular regulation of KaiC APTase, VII Congress of the European Biological Rhythms Society University of Oxford (UK), August 26, 2011.
12. Akiyama, S., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian Pacemaker of Cyanobacteria by Intra-molecular Feedback of KaiC ATPase, GCOE/International Symposium “Designing the Circadian Clock” (Nagoya, Japan), November 26, 2011.
13. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian Pacemaker of Cyanobacteria Ticked with

- KaiC ATPase, Thursday 4:00 O'Clock Seminars (U.S.A.), March 1, 2012.
14. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian pacemaker of Cyanobacteria by intramolecular feedback of KaiC ATPase, Circadian Clocks: Mechanisms, Coordination, and Physiology (U.S.A.), March 4, 2012.
  15. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian pacemaker and oscillator of cyanobacteria installed in KaiC protein, the EMBO meeting 2012 (France), September 23, 2012
  16. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian pacemaker and oscillator of cyanobacteria installed in KaiC protein, Seminar at München (Germany), September 28, 2012
  17. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Clock protein KaiC as both the pacemaker and the oscillator of circadian clock in cyanobacteria, The 9th Okazaki Biology Conference, Marine Biology II (Okazaki and Okinawa, Japan), October 14-18, 2012
  18. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian pacemaker and oscillator of cyanobacteria installed in KaiC protein, QBiC Symposium, Toward Whole-Cell Modeling (Kobe, Japan), November 5-7, 2012
  19. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Design of circadian clock: harmonic oscillation as the pacemaker and relaxation oscillation as a rhythm driver installed in the clock protein KaiC, The 4th NIBB-MPIPZ-TLL Symposium, "Arabidopsis and Emerging Model System" (Okazaki, Japan), November 19-21, 2012

② 口頭発表 (国内会議 12 件、国際会議 3 件)

1. 発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日

(国内会議)

1. Akiyama, S., Nohara, A., Ishia, T., Ito, K. (RIKEN Spring-8 Center), Maeda, Y., Nishiwaki, T., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Assembly and Disassembly of Cyanobacterial Clock Proteins Orchestrated by the Phosphorylation-Dependent Conformational Changes of Pacemaking KaiC, 第 47 回日本生物物理学会年会(徳島), 2009 年 11 月 1 日
2. 村山依子, 西脇妙子, 秋山修志, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア概日時計蛋白質 KaiC の ATPase 活性による周期決定機構と温度補償機構の解析, 第 16 回日本時間生物学会学術大会(大阪), 2009 年 10 月 27 日
3. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), 生物時計のからくりを放射光で解き明かす, 第 13 回 SPring-8 シンポジウム(東京), 2009 年 9 月 4 日
4. 角田明菜, 向山厚, 尾上靖宏, 野原淳志, 石田達郎, 前田雄一郎, 伊藤和輝(理研・播磨), 寺内一姫(立命館大学), 近藤孝男, 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), "時計タンパク質 KaiC の ATPase やリン酸化に依存した構造変化", 第 37 回生体分子科学討論会(山口), 2010 年 6 月 19 日
5. Murayama, Y., Mukaiyama, A., Imai, K. (Kansai Medical Univ.), Onoue, Y., Tsunoda, A., Nohara, A., Ishida, T., Maeda, Y., Terauchi, K. (Ritsumeikan Univ.), Kondo, T., and Akiyama, S. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Spectroscopic Studies on Circadian Ticking of KaiC in Solution, 第 48 回日本生物物理学会(仙台), 2010 年 9 月 22 日
6. Akiyama, S., Mukaiyama, A., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.) Circadian fluctuation of intrinsic tryptophan fluorescence of cyanobacterial clock protein KaiC, 第 49 回日本生物物理学会年会(兵庫), 2011 年 9 月 18 日
7. Mukaiyama, A., Onoue, Y., Osako, M., Kondo, T., and Akiyama, S. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Studies on auto-regulatory mechanism of cyanobacterial KaiC ATPase, 第 49 回日本生物物理学会年会(兵庫), 2011 年 9 月 18 日
8. 向山厚, 尾上靖弘, 大迫政人, 近藤孝男, 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), 時計タンパク質 KaiC の ATPase に備わる分子内フィードバック制御機構の解明, 第 39 回生体分子科学討論会(仙台), 2012 年 6 月 9 日
9. Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian pacemaker of cyanobacteria by



- intramolecular feedback of KaiC ATPase, 第 12 回日本蛋白質科学会年会(名古屋), 2012 年 6 月 21 日
10. 向山厚, 近藤孝男, 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC が刻む概日リズム, 第 12 回日本蛋白質科学会年会(名古屋), 2012 年 6 月 21 日
  11. Ohkawa-Nishiwaki, T., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Autodephosphorylation of cyanobacterial circadian clock protein KaiC occurs via formation of ATP as an intermediate, 第 50 回日本生物物理学会年会(名古屋), 2012 年 9 月 24 日
  12. Mukaiyama, A., Onoue, Y., Osako, M., Kondo, t., and Akiyama, S. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Intramolecular feedback regulation of cyanobacterial KaiC ATPase, 第 50 回日本生物物理学会年会(名古屋), 2012 年 9 月 24 日

(国際会議)

1. Akiyama, S., Nohara, A., Ishida, T., Ito, K. (RIKEN Spring-8 Center), Maeda, Y., Nishiwaki, T., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.) Assembly and Disassembly of Cyanobacterial Clock Proteins Orchestrated by the Phosphorylation-Dependent Conformational Changes of Pacemaking KaiC, XIV International Conference on Small-Angle Scattering (UK), September 14, 2009.
2. Akiyama, S. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian Ticking of Cyanobacterial Clock Protein KaiC in Solution, GCOE/Structural Biology Research Center International Symposium: Protein structure and dynamics; from molecules to assembly (Nagoya), November 24, 2010.
3. Akiyama, S. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), ATPase- and phospho-dependent structural changes of circadian clock protein KaiC, Pacificchem 2010 (Honolulu), December 17, 2010.

③ ポスター発表 (国内会議 52 件、国際会議 12 件)

(国内会議)

1. 西岡有希乃, 小山時隆, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質の突然変異に対する周期安定性の評価, 第 14 回日本時間生物学学会学術大会(東京), 2007 年 11 月 7 日
2. 伊藤浩史, 陸田径典, 影山伯春(東京大学), 小山時隆, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), KaiC リン酸化リズム再構成系の安定性, 「細胞を創る」研究会 0.0 (東京), 2007 年 11 月 26 日
3. 寺内一姫, 北山陽子, 西脇妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 概日時計周期長決定の分子機構, かずさ DNA 研究所研究会「ラン藻の分子生物学 2007」(千葉), 2007 年 12 月 3-4 日
4. 伊藤浩史, 宮崎真帆, 影山伯春(東京大学), 陸田径典, 小山時隆, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 概日時計試験管内再構成系の同期と特異点, 第 45 回日本生物物理学会年会(横浜), 2007 年 12 月 21 日
5. 伊藤浩史, 陸田径典, 影山伯春(東京大学), 小山時隆, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア概日時計安定性の起源, 生物の理論研究会 生物理論の前後左右(神戸), 2008 年 3 月 7 日
6. 伊藤浩史, 陸田径典, 村山依子, 杉田千恵子(名古屋大学), 杉田護(名古屋大学), 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 岩崎秀雄(早稲田大学), シアノバクテリア *Synechococcus* の概日発現する遺伝子群とネットワーク, 第 49 回日本植物生理学会年会(札幌), 2008 年 3 月 22 日
7. 北山陽子, 西脇妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア概日時計調節因子 DnaA の同定と解析, 第 49 回日本植物生理学会年会(札幌), 2008 年 3 月 20-22 日

- 日
8. 寺内一姫, 西脇妙子, 北山陽子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC の生化学的解析による概日時計の分子機構, 第 49 回日本植物生理学会年会(札幌), 2008 年 3 月 20-22 日
  9. 村山依子, 小山時隆, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの時計タンパク質 KaiC による概日遺伝子発現制御, 第 49 回日本植物生理学会年会(札幌), 2008 年 3 月 20-22 日
  10. 寺内一姫, 角田明奈, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 時計タンパク質 KaiC における ATP 加水分解活性の温度補償性と構造変化, 生体エネルギー研究会 第 34 回討論会(東京), 2008 年 11 月 6-8 日
  11. 北山陽子, 杉澤由姫子, 西脇妙子, 森田暁, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), KaiC 六量体内部におけるリン酸化サイクルの制御, 第 15 回日本時間生物学会学術大会(岡山), 2008 年 11 月 8 日
  12. 西脇(大川)妙子, 森田暁, 北山陽子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC 単量体の調整およびその解析, 第15回日本時間生物学会年会(岡山), 2008 年 11 月 8 日
  13. 村山依子, 今井圭子(関西医科大学), 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア概日時計の温度補償性変異体の生化学的解析, 第15回日本時間生物学会年会(岡山), 2008 年 11 月 8 日
  14. 秋山修志, 野原敦志, 伊藤和輝(理研播磨), 前田雄一郎, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), リアルタイムX線小角散乱を利用した藍藻時計タンパク質の離合集散計測, 第 15 回日本時間生物学会学術大会(岡山), 2008 年 11 月 9 日
  15. Akiyama, S., Nohara, A., Ito, K. (RIKEN Spring-8 Center), Maeda, Y., Nishiwaki, T., Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Small-angle X-ray Scattering Study on Cyanobacterial Clock Proteins, 第46回日本生物物理学会年会(福岡), 2008年12月3日
  16. 北山陽子, 杉浦安奈, 寺内一姫, 西脇妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 変異型 Kai タンパク質を用いた概日時計機構の解析, 日本植物生理学会第 50 回年会(名古屋), 2009 年 3 月 21-24 日
  17. 北山陽子, 杉浦安奈, 寺内一姫, 西脇妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 変異型 KaiB を用いた概日時計の同調機構の解析, 第 16 回日本時間生物学会学術大会(大阪), 2009 年 10 月 27 日
  18. 村山依子, 西脇妙子, 秋山修志, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア概日時計蛋白質 KaiC の ATPase 活性による周期決定機構と温度補償機構の解析, 第 16 回日本時間生物学会学術大会(大阪), 2009 年 10 月 27 日
  19. SON, S., Kang, H. (The University of Tokyo), Miyazono, K. (The University of Tokyo), Tanokura, M. (The University of Tokyo), Watanabe, N. (Nagoya Univ.), Kondo, T., Akiyama, S. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), X-ray structural analysis of N-terminal domain of KaiC (KaiCI) for understanding of restrained ATPase activity, 第 47 回日本生物物理学会年会(徳島), 2009 年 11 月 1 日
  20. 村山依子, 今井圭子(関西医科大学), 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの時計遺伝子 kaiC の多数の周期変異体の表現型解析, ラン藻の分子生物学 2009(千葉), 2009 年 12 月 4 日
  21. 北山陽子, 西脇妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア概日時計調節因子 DnaA の研究, 第 32 回日本分子生物学会年会(横浜), 2009 年 12 月 10 日
  22. 北山陽子, 西脇妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア DnaA の概日時計機構における機能, 第 51 回日本植物生理学会年会(熊本), 2010 年 3 月 21 日
  23. 西脇妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア概日時計蛋白質 KaiC の自己脱リン酸化反応の解析, 第 51 回日本植物生理学会年会(熊本), 2010 年 3 月 18-21 日

24. 谷口靖人, 高井直樹, 片山光徳, 近藤孝男, 小山時隆(名古屋大学大学院理学研究科), Three major output pathways from the KaiABC-based oscillator cooperate to generate robust circadian *KaiBC* expression in cyanobacteria, 第 51 回日本植物生理学会年会(熊本), 2010 年 3 月 18-21 日
25. 角田明奈, 大迫政人, 近藤孝男, 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), 時計タンパク質 KaiC の ATPase やリン酸化に依存した構造変化, 平成 21 年度 生物物理学会 中部支部講演会(愛知), 2009 年 3 月 29 日
26. Murayama, Y., Mukaiyama, A., Imai, K. (Kansai Medical Univ.), Onoue, Y., Tsunoda, A., Nohara, A., Ishida, T., Maeda, Y., Terauchi, K. (Ritsumeikan Univ.), Kondo, T., and Akiyama, S. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Spectroscopic Studies on Circadian Ticking of KaiC in Solution, 第 48 回日本生物物理学会(仙台), 2010 年 9 月 22 日
27. Mukaiyama, A. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Tracking conformational transitions of a circadian clock protein, KaiC using time-resolved spectroscopic techniques, 第 48 回日本生物物理学会(仙台), 2010 年 9 月 22 日
28. 尾上靖宏, 三輪久美子, 高井直樹, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), UPLC を用いた KaiC の ATPase 活性機構の解明, 第17回日本時間生物学会学術大会(東京), 2010 年 11 月 21 日
29. 高井直樹, 三輪久美子, 尾上靖宏, 村山依子, 寺内一姫, 大川妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 時を測る蛋白質 KaiC の ATPase 活性による分子内フィードバック, 第17回日本時間生物学会学術大会(東京), 2010 年 11 月 21 日
30. 大川妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア概日時計蛋白質 KaiC の活性スイッチング機構, 第17回日本時間生物学会学術大会(東京), 2010 年 11 月 21 日
31. 村山依子, 向山厚, 今井圭子(関西医科大学), 尾上靖宏, 角田明菜, 野原淳志, 石田達郎, 前田雄一郎, 寺内一姫(立命館大学), 近藤孝男, 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC の分子鼓動の可視化, 第 24 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム(茨城), 2011 年 1 月 10 日
32. 村山依子, 向山厚, 今井圭子(関西医科大学), 尾上靖宏, 角田明菜, 野原淳, 石田達郎, 前田雄一郎, 寺内一姫(立命館大学), 近藤孝男, 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC の分子鼓動の可視化, 第 11 回日本蛋白質科学会年会(大阪), 2011 年 6 月 9 日
33. 北山陽子(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアにおける概日リズム調節機構の解析, 第 18 回日本時間生物学会学術大会(名古屋), 2011 年 11 月 24 日
34. 大川妙子, 柴田有紀, 塚本英貴, 北山陽子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 概日時計蛋白質 KaiC の CI, CII ドメインに関する生化学的解析, 第 18 回日本時間生物学会学術大会(名古屋), 2011 年 11 月 24 日
35. 向山厚, 尾上靖宏, 大迫政人, 近藤孝男, 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), KaiC の ATPase 活性の自己抑制制御機構の解析, 第 18 回日本時間生物学会学術大会(名古屋), 2011 年 11 月 24 日
36. 秋山修志, 向山厚, 尾上靖宏, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC のフィードバック制御機構の動的構造基盤, 第18回日本時間生物学会学術大会(名古屋), 2011 年 11 月 24 日
37. 三輪(伊藤)久美子(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの時計タンパク質 KaiC の ATPase 活性と Kinase 活性の分子内カップリング, 第 18 回日本時間生物学会学術大会(名古屋), 2011 年 11 月 24 日
38. 北山陽子(名古屋大学大学院理学研究科), 概日リズム同調現象の分子的基盤の解析, ラン藻の分子生物学 2011(千葉), 2011 年 12 月 2 日
39. 秋山修志(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC の分子鼓動の可視化, CREST「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」領域

- 公開シンポジウム会(東京), 2011年12月12~13日
40. 大川(西脇)妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), ATP を中間体とする概日時計蛋白質 KaiC の新規脱リン酸化機構とその意義, 第76回日本生化学会中部支部会例会(愛知), 2012年5月26日
  41. 北山陽子, 西脇妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア DnaA の概日時計機構における機能, 第19回日本時間生物学会学術大会(北海道), 2012年9月15日
  42. 尾上靖宏, 三輪久美子, 佐藤雅子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの時計蛋白質 KaiC の ATPase 活性と自己リン酸化活性の共役機構の解析, 第19回日本時間生物学会学術大会(北海道), 2012年9月15日
  43. 大川妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), ATP を中間体とする KiaC の新規脱リン酸化機構とその意義, 第19回日本時間生物学会学術大会(北海道), 2012年9月15-16日
  44. 大川妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), ATP を中間体とするシアノバクテリア概日時計蛋白質 KiaC の新規自己脱リン酸化機構, 第85回日本生化学会大会(福岡), 2012年12月15日
  45. 北山陽子, 西脇妙子, 近藤孝男(名古屋大学大学院理学研究科), 概日時計タンパク質 KaiC 六量体におけるリン酸化サイクルの制御機構, 第85回日本生化学会大会(福岡), 2012年12月16日
  46. 大川妙子(名古屋大学大学院理学研究科), ATP を中間体とするシアノバクテリア概日時計蛋白質 KiaC の新規自己脱リン酸化機構, CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域・公開シンポジウム(東京), 2013年2月25日
  47. 三輪久美子(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリアの時計タンパク質 KiaC の ATPase 活性と Kinase 活性の分子内カップリング, CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域・公開シンポジウム(東京), 2013年2月25日
  48. 尾上靖宏(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質 KiaC のドメイン間活性制御機構, CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域・公開シンポジウム(東京), 2013年2月25日
  49. 向山厚(自然化学研究機構分子科学研究所), ATPase とリン酸化に呼応した時計タンパク質 KaiC の概日性構造変化, CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域・公開シンポジウム(東京), 2013年2月25日
  50. 秋山修志(自然化学研究機構分子科学研究所), 時計タンパク質 KiaC に潜む分子内フィードバック機構の解析, CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域・公開シンポジウム(東京), 2013年2月25日
  51. 尾上靖宏(名古屋大学大学院理学研究科), シアノバクテリア時計タンパク質 KiaC のリン酸アナログによる ATPase 活性阻害, 2012年度べん毛研究交流会(群馬), 2013年3月4日
  52. Ohkawa, T., Ochiai. E., Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), KaiA and KaiB sustain a circadian rhythm in KaiC, Symposium on Hydration and ATP Energy 2013(仙台), 2013年3月6-8日

(国際会議)

1. Gohda, K. (OLYMPUS Corp.), Kono, T., and Oyama, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), The fluorescent reporter system that enables automatic real-time monitoring of dynamic interactions of cyanobacterial Kai proteins in vitro, 2nd World Congress of Chronobiology (Tokyo, Japan), November 4, 2007.
2. Murayama, Y., Oyama, T., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Regulation of circadian gene expression by KaiC in cyanobacteria, 2nd World Congress of Chronobiology (Tokyo, Japan), November 4-6, 2007.
3. Ito, H. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Origine of the Resilience of Cyanobacterial Circadian

- Clock, Japan-Taiwan Young Researchers Conference on Computational and Systems Biology (Taiwan), March 10, 2008.
4. Ito, H. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), The Network of Clock-Controlled Genes in Cyanobacteria, Society for Research on Biological Rhythms 11th Biennial Meeting (U.S.A.), May 9, 2008.
  5. Ito, K., Serikawa, M., Oyama, T., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), The Responses of Circadian Gene Expression to Skeleton Photoperiod in a Short- Day Plant *Lemna Paucicostata* 6746, Society for Research on Biological Rhythms 11th Biennial Meeting (U.S.A.), May 19, 2008.
  6. Yoshida, T., Murayama, Y., Ito, H., Kageyama, H. (The University of Tokyo), and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Non-parametric temperature entrainment of in vitro KaiC phosphorylation rhythm, Society for Research on Biological Rhythms 11th Biennial Meeting (U.S.A.), May 19, 2008.
  7. Terauchi, K., Nishiwaki, T., Kitayama, Y., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), The ATPase activity of the cyanobacterial clock protein KaiC, The 22<sup>nd</sup> Symposium of the Protein Society (U.S.A.), July 19-23, 2008.
  8. Son, S. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Human monoamine oxidase A: Structure and control of opening the entry for substrates/inhibitors, IUCr2008 (Osaka, Japan), August 28, 2008.
  9. Akiyama, S. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Reproducible Preparations of Molecular Mass Standards for Small-angle Solution Scattering, XIV International Conference on Small-Angle Scattering (UK), September 14, 2009.
  10. Ito-Miwa, K., Takai, N., Onoue, Y., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian clock system of cyanobacteria based on ATPase activity of KaiC”, GCOE/Structural Biology Research Center International Symposium: Protein structure and dynamics; from molecules to assembly (Nagoya, Japan), November 23, 2010.
  11. Nishiwaki-Ohkawa, T., Shibata, Y., Tsukamoto, H., Kitayama, Y., and Kondo, T. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Characterization of nucleotide binding and enzymatic activities of CI and CII domains of KaiC, International symposium “Designing the circadian clock” (Nagoya, Japan), November 25, 2011.
  12. Mukaiyama, A., Murayama, Y., Imai, K. (Kansai Medical Univ.), Onoue, Y., Tsunoda, A., Nohara, A., Ishida, T., Maeda, Y., Terauchi, K. (Ritsumeikan Univ.), Kondo, T., and Akiyama, S. (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.), Circadian Ticking of Cyanobacterial Clock Protein KaiC in Solution, International symposium “Designing the circadian clock” (Nagoya, Japan), November 25, 2011.

#### (4)知財出願

- ①国内出願 (0 件)
- ②海外出願 (0 件)
- ③その他の知的財産権  
なし

#### (5)受賞・報道等

- ①受賞
  1. 紫綬褒章, 近藤孝男, 2011.6.15
  2. 日本遺伝学会木原賞, 近藤孝男, 2011.09.21

②マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 日経産業新聞, 2007年10月1日, 「生物の体内時計の周期 たんぱく質関与」
2. 朝日新聞, 2007年10月8日, 「生物時計の周期 決める仕組み解明」
3. 日経産業新聞, 2007年10月29日, 「微生物のリズム刻むたんぱく質 時刻合わせの仕組み」
4. 朝日新聞, 2007年11月2日, 「体内時計 秘密に迫る」
5. 中日新聞, 2007年11月8日, 「生物時計の24時間周期 タンパクがクオーツ役」
6. 中日新聞, 2007年11月9日, 中日春秋にて
7. 四国新聞, 2007年12月17日, 「体内時計の仕組み解明 酵素が刻む24時間のリズム」
8. 福井新聞, 2007年12月19日, 「体内時計 酵素が刻む活性周期 自転を記憶」
9. 日本経済新聞, 2009年1月22日, 「微生物の体内時計 温度変化で時刻調整 名大教授ら解明」
10. 中日新聞, 2009年2月5日, 「タンパク質が時差ぼけ修正 温度変化を感知 名大で解明」
11. 中日新聞, 2010年5月11日, 「生物時計の仕組み解明」
12. 中日新聞, 2010年11月27日, 「体内時計研究の手掛かり『時を刻む』タンパク質 バクテリアから 名大教授ら発見」
13. 日刊工業新聞, 2010.11.29, 「藻類の時計たんぱく質 24時間周期で“拍動”」
14. 中日新聞, 2011年6月15日, 「近藤名大教授に『紫綬』」
15. 毎日新聞, 2011年6月15日, 「体内時計完全解明へ励み」
16. 中日新聞, 2012年11月14日, 「私の人生 理科少年絵心を知る」

(6)成果展開事例

①社会還元的な展開活動

本研究の成果を一般向けの講演会, サイエンスカフェなどで講演し(計4—5回)、計500名程度の聴衆を集めた。

またいくつかの一般向けの解説記事(3件程度)を執筆するとともに、5回程度の取材に応じた。

§ 6 研究期間中の活動

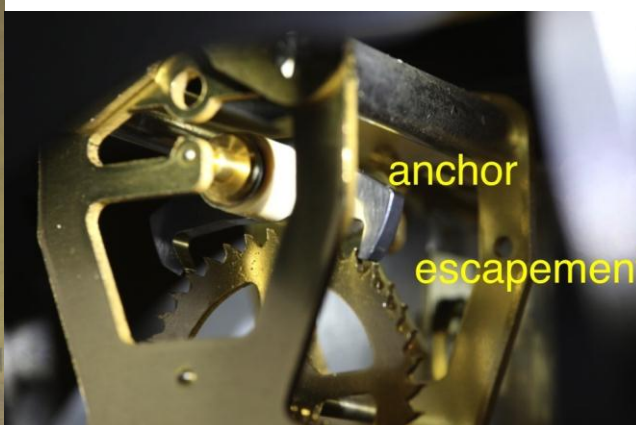
年月日	名称	場所	参加人数	概要
2009.07.11	電力館科学ゼミナール	TEPCO ホール 東京	100	タンパク質が時を刻むシアノバクテリアの体内時計
2009.12.04	第2回日本学術会議中部地区会議学術講演会	名古屋大学野依記念物質科学研究所	50	シアノバクテリアの一日を測るタンパク質
2010.04.23	名大サロン	名古屋大学	40	時を刻むシアノバクテリアの時計タンパク質 KaiC
2010.05.08	生命動態システム科学シンポジウム	日本学術会議 東京	250	KaiC:シアノバクテリアの24時間を測定するATPase
2011.08.01-06	コア SSH(岡崎高校)	名古屋大学	3	KaiC:のATPase活性の調査

2011.11.24～ 2011.11.25	第 18 回日本時間生物 学会学術大会	名古屋大学	265	
2011.11.25～ 2011.11.26	International symposium “Designing the circadian clock”	名古屋大学	200	GCOE 国際シンポジウム

## § 7 結び

先に記したように、「概日時計の最終解答を得る」、とした目標は達成出来なかったが、全く未知の領域に方法を探りながら、なんとか将来につながる成果が得られたと考えている。延長線となるが、この成果をもとに、これが時計の本質だ、と膝をたたけることを目指して、再出発したい。

概日時計のモデルとなった  
振り時計 （全体と脱進器）





研究室の忘年会 2010年