

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（令和２年度）

			機関番号	1 4 6 0 3
所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学		
研究 代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	助教		
	氏名	市川 宗厳		

1．研究種目名

若手研究

2．課題番号

20K15733

3．研究課題名

生体内に近いダブルレット微小管の原子モデルの構築

4．補助事業期間

令和２年度～令和３年度

5．研究実績の概要

本研究では、繊毛のダブルレット微小管の構造解析を目指した。これまでは、ダブルレット微小管のチューブリン格子及び、その内側に結合している微小管内タンパク質の構造に着目してきたが、ダブルレット微小管の外側に結合したタンパク質の構造を保持した、より生体内に近いダブルレット微小管の立体構造を得ることを目指した。このため、繊毛虫テトラヒメナから外側のタンパク質構造を保持したダブルレット微小管を単離した。単離したダブルレット微小管を氷包埋し、クライオ電子顕微鏡法で構造解析してその立体構造を得た。さらに、外腕ダイニン複合体に注目して解析を行うことで、外腕ダイニンの立体構造を5.5-7オングストロームの分解能で得た。得られたダブルレット微小管の立体構造から、軸系ダイニンのうち外腕ダイニンの立体構造が高分解能で得られた。さらに、クライオ電子顕微鏡構造をもとに、外腕ダイニンのプレリミナリーなモデルを構築した。質量分析を用いた新規ダブルレット微小管関連タンパク質の同定についても研究を行い、新たな繊毛関連タンパク質の同定を行なった。このうちいくつかのタンパク質については、精製し、結晶化についても行なった。

6．キーワード

繊毛 ダイニン クライオ電子顕微鏡法 X線結晶構造解析

7．現在までの進捗状況

区分	(1)当初の計画以上に進展している。
理由	研究計画では、生体内に近いよりインタクトなダブルレット微小管の立体構造を得ることを目指した。当該年度に、実際にクライオ電子顕微鏡法によって外側に外腕ダイニンが結合したダブルレット微小管の立体構造を高分解能で得ることができ、そのプレリミナリーなモデルについても作製することができた。ダブルレット微小管上の外腕ダイニンの立体構造は近年注目が集まる研究内容であり、大きな成果と言える。これらの内容については、オンライン国際シンポジウムや、国内での研究会を通じて口頭発表も行なった。また、当該年度に外腕ダイニンの日本語総説についても共著として発表した。さらに、質量分析による繊毛関連タンパク質の同定については、当該年度にBiophysics and Physicobiologyに論文を共同責任著者として発表した。また、ダブルレット微小管に結合しているPACRGタンパク質の結晶構造解析の共著論文を発表した。

2 版

8．今後の研究の推進方策

ダブルレット微小管外側に結合した外腕ダイニン複合体のプレリミナリーなモデルが構築できたので、今後、さらに、このモデルの最適化を進めるとともに、分子動力学シミュレーションを用いた解析を行うことで、その活性化機構についても明らかにしていく予定である。また、ダブルレット微小管上の内腕ダイニンの立体構造についても引き続き得ていきたい。さらに、質量分析法で同定した他の纖毛関連タンパク質の結晶化についても行い、高分解能の立体構造を得ていく予定である。

9．次年度使用が生じた理由と使用計画

次年度使用額が無いため、記入しない。

10．研究発表（令和2年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 2件）

1．著者名 Daniel Dai, Muneyoshi Ichikawa, Katya Peri, Reid Rebinsky, Khanh Huy Bui	4．巻 17
2．論文標題 Identification and mapping of central pair proteins by proteomic analysis	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6．最初と最後の頁 71～85
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2142/biophysico.bsj-2019048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1．著者名 Nimra Khan, Dylan Pelletier, Thomas S. McAlear, Nathalie Croteau, Simon Veyron, Andrew N. Bayne, Corbin Black, Muneyoshi Ichikawa, Ahmad Abdelzaher Zaki Khalifa, Sami Chaaban, Igor Kurinov, Gary Brouhard, Susanne Bechstedt, Khanh Huy Bui, Jean-Francois Trempe	4．巻 29
2．論文標題 Crystal structure of human PACRG in complex with MEIG1 reveals roles in axoneme formation and tubulin binding	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Structure	6．最初と最後の頁 1～15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.str.2021.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Toshiki Yagi, Akiyuki Toda, Muneyoshi Ichikawa, Genji Kurisu	4. 巻 61
2. 論文標題 繊毛ダイニン軽鎖と重鎖微小管結合部位の 複合体構造—見えてきた軽鎖LC1の役割—	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 020 ~ 022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.61.020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件(うち招待講演 2件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Shintaro Kubo, Ahmad Khalifa, Muneyoshi Ichikawa, Daniel Dai, Corbin Black, Katya Peri, Shun Kai Yang, Jaiver Vargas, Khanh-Huy Bui
2. 発表標題 How Rib43a and Acetylation of K40 control the rigidity of Microtubules
3. 学会等名 65th Biophysical Society Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Muneyoshi Ichikawa
2. 発表標題 Remodeling and activation mechanisms of outer arm dynein revealed by cryo-EM
3. 学会等名 18th BSCB GenSoc UK Cilia Network e-symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shintaro Kubo, Ahmad Khalifa, Muneyoshi Ichikawa, Daniel Dai, Corbin Black, Katya Peri, Shun Kai Yang, Jaiver Vargas, Khanh-Huy Bui
2. 発表標題 How Rib43a and Acetylation of K40 control the rigidity of Microtubules
3. 学会等名 EMBO WORKSHOP (国際学会)
4. 発表年 2020年

2 版

1. 発表者名 市川宗厳
2. 発表標題 ダブルレット微小管上での外腕ダイニンの高分解能構造
3. 学会等名 第10回分子モーター討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Muneyoshi Ichikawa, Ahmad Khalifa, Daniel Dai, Shintaroh Kubo, Corbin Black, Katya Peri, Thomas McAlear, Simon Veyron, Shun Kai Yang, Javier Vargas, Susanne Bechstedt, Jean-Francois Trempe, Khanh Huy Bui
2. 発表標題 Cryo-EM revealed unique and diverse binding schemes of the microtubule inner proteins at the inner junction region of cilia
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshitoki Shibao, Corbin Black, Muneyoshi Ichikawa, Junya Kirima, Kazuhiro Oiwa, Khanh Huy Bui, Tomoya Tsukazaki
2. 発表標題 Characterization of properties of microtubule inner protein FAP85.
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Muneyoshi Ichikawa, Ahmad Khalifa, Daniel Dai, Shintaroh Kubo, Corbin Black, Katya Peri, Thomas McAlear, Simon Veyron, Shun Kai Yang, Javier Vargas, Susanne Bechstedt, Jean-Francois Trempe, Khanh Huy Bui
2. 発表標題 クライオ電顕によるダブルレット微小管の近原子分解能構造
3. 学会等名 日本顕微鏡学会 第76回学術講演会 日本 - カナダ 二国間交流シンポジウム（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

1 1 . 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
カナダ	McGill大学	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-

1 4 . 備考

-