

様式 F-7-2

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	助教		
	氏名	市川 宗巖		

1. 研究種目名 研究活動スタート支援 2. 課題番号 19K23726

3. 研究課題名 微小管内タンパク質のチューブリン格子構造構築への影響の解明

4. 補助事業期間 令和元年度～令和2年度

5. 研究実績の概要

初年度は、繊毛虫テトラヒメナの繊毛から単離したダブルレット微小管をクライオ電子顕微鏡法で構造解析した。テトラヒメナダブルレット微小管のチューブリン格子・微小管内タンパク質の立体構造を、4.3オングストロームの分解能で得た。さらに、緑藻クラミドモナスの鞭毛から単離したダブルレット微小管についても同様に構造解析し、4.5オングストローム分解能で立体構造を得た。インナージャンクションと呼ばれるダブルレット微小管のA小管とB小管の境界領域に注目することで、テトラヒメナダブルレット微小管・クラミドモナスダブルレット微小管のインナージャンクション構造をそれぞれ、3.9オングストローム、3.6オングストロームの分解能で得た。これらの結果、ダブルレット微小管のチューブリン格子構造は、一様ではなく多彩な構造を取っていることが分かった。これは、微小管内タンパク質が、チューブリン格子の構築に内側から影響していることを示唆した。

最終年度は、初年度に引き続き、微小管内タンパク質を質量分析によって同定を行った。中心対複合体をもつ野生株の鞭毛のタンパク質と、中心対複合体をもたない変異株の鞭毛のタンパク質を比較することで、ダブルレット微小管に結合しているタンパク質の候補を得た。これを、クライオ電子顕微鏡法で得た立体構造と合わせて、いくつかの微小管内タンパク質が同定した。同定された微小管内タンパク質のうち数種類を大腸菌で発現を行い、精製を行った。His-tagを用いてNi-NTAレジンで精製し、その後ゲル濾過をかけることで高純度で精製した。精製した微小管内タンパク質存在下で、チューブリンを重合し、電子顕微鏡で観察することでその微小管重合への影響を調べた。また、精製したタンパク質の結晶化条件をスクリーニングし、結晶化条件の最適化についても行った。

6. キーワード

繊毛 微小管 X線結晶構造解析 クライオ電子顕微鏡

7. 研究発表

〔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

2 版

1. 著者名 Nimra Khan, Dylan Pelletier, Thomas S. McAlear, Nathalie Croteau, Simon Veyron, Andrew N. Bayne, Corbin Black, Muneyoshi Ichikawa, Ahmad Abdelzاهر 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 織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 Shintaroh 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 Shintaroh 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

1. 発表者名 市川宗庵
2. 発表標題 タブ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

2 版

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

8. 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）

9. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

10. 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	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-

11. 備考

-