

細胞内現象の時空間ダイナミクス  
2020 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書
------------------

濡木理

東京大学 大学院理学系研究科  
教授

細胞機能を担う超分子複合体の原子分解能ダイナミクス

## § 1. 研究成果の概要

クライオ電子顕微鏡の単粒子解析やトモグラフィーなど構造生物学的アプローチと、*in vitro* での蛍光一分子イメージング、細胞内での一分子計測・超解像イメージングを有機的に組合せ、内耳外有毛細胞の高速伸縮運動、オルガネラの RNA 輸送の細胞内での分子機構、ニューロンの高次機能に働くイオンチャネルの(過渡的)超複合体の分子機構、小分子 RNA の biogenesis に働く(過渡的)超複合体の分子機構の解明を推進している。電位依存性膜内モーターであり音感の増幅に働く、ヒト由来 Prestin に関して熱安定化変異体を作成し、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により、Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、阻害剤であるアスピリンとの複合体の構造を、それぞれ分解能 3.2 Å での構造決定に成功し、電位依存性モーター活性およびアスピリンによる阻害活性の構造基盤を明らかにした(*Nat. Commun.*, 投稿後改訂中)。また、外界から dsRNA を取り込んで RNA 干渉に働く、線虫由来の SID-1 タンパク質および dsRNA との複合体に関して、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により 3.2 Å での構造決定に成功した。本構造研究と超解像ライブイメージングを組み合わせた解析の結果、これまで SID-1 は直接 dsRNA を輸送するチャンネルであると予測されてきたのに反して、SID-1 は細胞表面で dsRNA を補足するとエンドサイトーシスを惹起し、エンドソームから細胞内へ dsRNA を放出することを明らかにした。さらに我々は、ニューロンにおける素早い発火 A 電流を引き起こす電位依存性カリウムチャンネル Kv4.2 と 2 種類の制御サブユニット KChIP1、DPP6S からなる巨大複合体の立体構造をクライオ電顕単粒子解析によって高分解能で決定し、変異体の電気生理学解析とあわせて、KChIP1 と DPP6S が Kv4.2 の電気生理学的特性を適切に調整する機構を初めて明らかにした(*Nature*, 2021)。

## § 2. 研究実施体制

### (1) 濡木グループ

① 研究代表者: 濡木 理 (東京大学大学院理学系研究科 教授)

② 研究項目

課題 1.1 プレスチンの単粒子解析

2.1 細胞内 RNA オートファジー解析系の構築

2.2 RNA 輸送の 1 分子計測

2.3 SIDT2・LAMP2C および SID-1 の単粒子解析

### (2) 岡田グループ

① 主たる共同研究者: 岡田康志 (東京大学大学院医学系研究科 教授)

② 研究項目

課題 1.2 プレスチン構造変化検出のための高速高分解能一分子計測システムの開発

2.1 細胞内 RNA オートファジー解析系の構築

2.2 RNA 輸送の 1 分子計測

### (3) 藤芳グループ

① 主たる共同研究者: 藤芳 暁 (東京工業大学 理学院 助教)

② 研究項目

課題 1.2: 内耳外有毛細胞(OHC)の超解像イメージングの準備

・SR-CLEM 用のクライオスタットの開発

### 【代表的な原著論文情報】

1. “Cryo-EM structures of thermostabilized prestin provide mechanistic insights underlying outer hair cell electromotility” H. Futamata, M. Fukuda, R. Umeda, K. Yamashita, A. Tomita, S. Takahashi, T. Shikakura, S. Hayashi, T. Nishizawa, K. Homma and O. Nureki. *Nat. Commun. in press* (2022).
2. “Structural basis of gating modulation of Kv4 channel complexes” Y. Kise, G. Kasuya, H. H. Okamoto, D. Yamanouchi, K. Kobayashi, T. Kusakizako, T. Nishizawa, K. Nakajo and O. Nureki. *Nature* **599**, 158-164 (2021).