

細胞の動的・高次構造体
2020 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

市川 宗厳

奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科
助教

絨毛の運動機構の原子レベルでの解明

§ 1. 研究成果の概要

真核細胞の表面から突出している構造体である繊毛・鞭毛は、細胞運動の駆動・シグナル伝達などに関わる重要な細胞小器官である。その内部構造は、中心対複合体を9本のダブルレット微小管が取り囲んだ構造を取っている。クライオ電子顕微鏡観察・質量分析用に、テトラヒメナ繊毛・クラミドモナス鞭毛からのダブルレット微小管の単離方法を最適化し、これについてのプロトコル論文を当該年度に発表した¹⁾。また、質量分析で同定したいくつかの繊毛タンパク質について、結晶化を行い、そのうち、PACRG について、その結合タンパク質の MEIG1 との共結晶構造を得た。PACRG 存在条件での微小管の電子顕微鏡観察・全反射蛍光顕微鏡による PACRG によるチューブリンの微小管へのリクルートの結果と合わせて、当該期間に原著論文を発表した²⁾。さらに、テトラヒメナ繊毛から、外側に結合している外腕ダイニンを保持したダブルレット微小管を単離し、クライオ電子顕微鏡観察を行った。得られたクライオ電子顕微鏡像から構造解析を行い、ダブルレット微小管上の外腕ダイニンの立体構造を 5.5-7 Å 分解能で得た。このクライオ電子顕微鏡構造をもとに、外腕ダイニンのモデル構造を構築した。近年報告された、繊毛に組み込まれる前の不活性の状態の外腕ダイニンの立体構造と比較することで、その構造変化を明らかにした。さらに、分子動力学シミュレーションによる解析と組み合わせることで、その活性化機構のモデルを提示した。これらの外腕ダイニンの結果について当該年度に論文として発表した³⁾。さらに、当該年度に、繊毛の微小管構造を模倣して人工的にダブルレット微小管や分岐する微小管構造を形成する新たな手法の開発を目指し、有望な結果を得た。今後、更なる最適化を行う予定である。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Preparation of Doublet Microtubule Fraction for Single Particle Cryo-electron Microscopy”, Bio-protocol, vol. 11, No. 11, e4041, 2021
- 2) “Crystal structure of human PACRG in complex with MEIG1 reveals roles in axoneme formation and tubulin binding”, Structure, vol. 29, No. 6
- 3) “Remodeling and activation mechanisms of outer arm dyneins revealed by cryo-EM”, EMBO reports, vol. 22, No. 7, e52911, 2021