

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		細胞内物質輸送の制御:細胞質ダイニンの活性化のメカニズムの解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Elucidation of the regulatory mechanism of cytoplasmic dynein			
研究氏 代表 者	カカナ CC	姓) ヒロツネ	名) シンジ	研究期間 B	2011 ~ 2013 年
	漢字 CB	広常	真治	報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	Hirotsune	Shinji	研究機関名	大阪市立大学医学部
研究代表者 CD 所属機関・職名		大阪市立大学・大学院医学研究科・教授			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>1. 微小管-LIS1-細胞質ダイニン複合体の構造解析。 複合体における細胞質ダイニンはアイドリング状態であり、ATPase 活性を保ったまま停止している状態である。ブタ脳から精製した細胞質ダイニン、チューブリンと組み換え LIS1 蛋白質を用いて複合体を再構成し、ネガティブ染色-3D 電子顕微鏡を用いた構造解析を行った。その結果、細胞質ダイニンは LIS1 と結合した状態では微小管との結合状態が強い状態のまま固定され、本来の細胞質ダイニンの動きである微小管との結合が強い状態と弱い状態の遷移がストップすることが分かった。さらに、クライオ電子顕微鏡を用いた解析を行い、今回のネガティブ染色-3D 電子顕微鏡を用いた構造解析の結果は固定の際のアーティファクトでないことが証明された。</p> <p>2. アイドリング状態の細胞質ダイニンが活性化される分子機構を解明する。 微小管-LIS1-細胞質ダイニン複合体では細胞質ダイニンはアイドリング状態であり、ATPase 活性が保持されたまま微小管上にとどまっている。この複合体形成が細胞質ダイニンが微小管のプラス端に向かう順行性の移動に必須であるが、プラス端に運ばれた後、運搬対象と結合し、逆行性の運動を開始する。この細胞質ダイニンの活性化のメカニズムとして、我々は低分子量 G 蛋白質である Rab ファミリーが関与していることを突き止めた。特に Rab6 は微小管-LIS1-細胞質ダイニン複合体から LIS1 を遊離させ細胞質ダイニンの微小管マイナス端に向か運動を再開させることが分かった。このメカニズムを我々は蛍光相互相関分光法、ライブセルイメージングを用いて証明した。</p> <p>3. 細胞質ダイニンが目的地において運搬対象を遊離するメカニズムを解明する。 細胞質ダイニンが運搬対象を目的地まで運んだ後、運搬対象を遊離する必要がある。我々は細胞質ダイニン-ダイナクチン複合体からダイナクチン複合体が遊離するメカニズムを解析した結果、低分子量 G 蛋白質の Arl3 と細胞質ダイニンの軽鎖が協調して細胞質ダイニン-ダイナクチン複合体からダイナクチン複合体を遊離させることが分かった。Arl3 をノックダウンした結果、ダイナクチン P150 は細胞中心部に異常に集積し細胞質ダイニン-ダイナクチン複合体からのダイナクチン複合体の遊離が阻害されていることが分かった。</p>					
キーワード FA	モータータンパク質	細胞内物質輸送	神経発生		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Rab6a releases LIS1 from a dynein idling complex and activates dynein for retrograde movement.							
	著者名 ^{GA}	Yamada M, Kumamoto K, Mikuni S, Arai Y, Kinjo M, Nagai T, Tsukasaki Y, Watanabe TM, Fukui M, Jin M, Toba S, Hirotsune S.	雑誌名 ^{GC}	Nature Communication					
	ページ ^{GF}	2033	発行年 ^{GE}	2	0	1	3	巻号 ^{GD}	4
雑誌	論文標題 ^{GB}	Post-natal treatment by a blood-brain-barrier permeable calpain inhibitor, SNJ1945 rescued defective function in lissencephaly.							
	著者名 ^{GA}	Toba S, Tamura Y, Kumamoto K, Yamada M, Takao K, Hattori S, Miyakawa T, Kataoka Y, Azuma M, Hayasaka K, Amamoto M, Tominaga K, Wynshaw-Boris A, Wanibuchi H, Oka Y, Sato M, Kato M, Hirotsune S.	雑誌名 ^{GC}	Scientific Report					
	ページ ^{GF}	1224	発行年 ^{GE}	2	0	1	3	巻号 ^{GD}	3
雑誌	論文標題 ^{GB}	The Phosphatase PP4c Controls Spindle Orientation to Maintain Proliferative Symmetric Divisions in the Developing Neocortex.							
	著者名 ^{GA}	Xie Y, Jüschke C, Esk C, Hirotsune S. , Knoblich JA.	雑誌名 ^{GC}	Neuron					
	ページ ^{GF}	254~265	発行年 ^{GE}	2	0	1	3	巻号 ^{GD}	79
欧文概要 ^{EZ}									
<p>Cytoplasmic dynein drives the movement of a wide range of cargoes towards the minus ends of microtubules. We previously demonstrated that LIS1 forms an idling complex with dynein, which is transported to the plus ends of microtubules by kinesin motors. Here we report that the small GTPase Rab6a is essential for activation of the idling dynein. Immunoprecipitation and microtubule pull-down assays reveal that the GTP bound mutant, Rab6a(Q72L) dissociates LIS1 from a LIS1-dynein complex, activating dynein movement in <i>in vitro</i> microtubule gliding assays. We monitor transient interaction between Rab6a(Q72L) and dynein <i>in vivo</i> using dual-colour fluorescence cross-correlation spectroscopy in dorsal root ganglion neurons. Finally, we demonstrate Rab6a(Q72L) mediated LIS1 release from a LIS1-dynein complex followed by dynein activation through an <i>in vitro</i> single molecule assay using triple-colour quantum dots. Our findings reveal a surprising function for GTP-bound Rab6a as an activator of stalled dynein.</p>									