

令和元年6月14日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07337

研究課題名(和文) プロテオミクスと分子イメージングの融合による精子鞭毛運動制御因子の解析

研究課題名(英文) Identification of regulatory factors for sperm flagellar motility by using proteomic analysis and molecular imaging techniques

研究代表者

柴 小菊 (Shiba, Kogiku)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：70533561

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では海産無脊椎生物精子を材料に独自性の高い運動解析・イメージング技術とプロテオミクス技術を融合することにより、真核生物共通の鞭毛繊維運動制御に重要な新規調節因子の解析とその機能解明を目指した。成果として以下が得られた。(1)カルシウム依存的な鞭毛波形変化に対応する精子軸系タンパク質を複数同定した。(2)調節因子の機能解析のための実験・解析系の構築および改良を行った。(3)ケージド化合物を用いた実験により調節因子であるcAMPが軸系タンパク質のリン酸化を介してカルシウム依存的な波形調節に関与していることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

真核生物の鞭毛繊維は、精子運動・体内の水流制御など細胞運動やシグナル受容において非常に重要な器官である。その構造・機能は進化を通して高度に保存されており、鞭毛繊維運動制御機構の欠失はヒトをはじめ多くの生物で生命活動の維持に致命的な影響を与える。本研究の成果により精子運動制御における調節因子の役割および分子機構の一端が解明された。将来的には生殖治療や繁殖技術への応用が期待される。また高速度運動の分子イメージング技術を活かした本研究の進展は、さまざまな細胞運動における解析システムの開発にもつながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This research was carried out to identify regulatory factors for sperm flagellar motility by using proteomic analysis and molecular imaging techniques. Marine invertebrates were mainly used for this research. The following results were obtained. (1) Several axonemal proteins in ascidian sperm related to Ca<sup>2+</sup>-dependent changes in flagellar waveforms were identified. (2) The experimental system for functional analysis of regulatory factors were constructed and improved. (3) Experiments using caged compound revealed that cAMP and phosphorylation of axonemal proteins by cAMP-dependent kinase are involved in Ca<sup>2+</sup>-dependent regulation of flagellar waveform.

研究分野：細胞生物学

キーワード：精子鞭毛運動 カルシウム cAMP

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

真核生物の繊毛・鞭毛は細胞外の環境に応じて瞬時に反応し運動を変化させる。受精において多くの生物の精子は精巣中では運動能を持たないが放精の際に運動を開始し、卵由来の物質によって活性化され、卵に対して走化性を示す。このとき精子内では劇的な変化が生じ鞭毛運動が制御されている。また多様な組織に存在する繊毛に関して外的シグナル受容を介した運動制御が重要な機能を果たしている。これらの制御機構の欠失はヒトをはじめ多くの生物で生命活動の維持に致命的な影響を与える。鞭毛・繊毛を構成する分子に関しては、基本的な骨組みである微小管、滑り運動を作り出すモータータンパク質のダイニン、その他数多くの調節タンパクなど個々の部品や配置は明らかにされつつある。しかし、それらの部品(分子)群がどのように協調して数十ヘルツにも及ぶ高速運動を作り出し、また環境に応じて運動や細胞内シグナル伝達を制御しているかはよく分かっていない。その理由として分子の同定と機能とを結びつける手段が確立していないことが挙げられる。微細でありかつ高速運動をする鞭毛・繊毛の機能解析は容易ではない。本研究課題の研究代表者は、鞭毛運動制御機構の研究において極めて新規性・独自性の高い解析手法を用いて成果を挙げている。研究代表者が得意とする生理学的手法をプロテオミクス解析と融合することによりこれまで未知であった鞭毛・繊毛運動制御に直接関わる因子の新規同定および機能の詳細解析が可能になると考え、本研究課題の申請を行った。

### 2. 研究の目的

真核生物の鞭毛繊毛は、精子運動・体内の水流制御など細胞運動やシグナル受容において非常に重要な器官であり、その構造・機能は進化を通して高度に保存されている。真核生物の鞭毛繊毛運動制御機構の全容を明らかにするため、本申請課題の研究期間においては、材料として扱いやすく反応が顕著に観察できる海産生物精子を用いて、「鞭毛運動活性化」、「鞭毛波形の非対称性制御」の現象に着目し、研究代表者がこれまで培ってきた鞭毛に関する独自性の高い運動解析・イメージング技術とプロテオミクス技術を融合することにより、鞭毛繊毛運動制御に重要な新規調節因子の解析とその機能解明を目指した。

### 3. 研究の方法

精子鞭毛運動制御に直接関わる因子の新規同定および機能解明を目的として、鞭毛タンパク質を二次元電気泳動(2D-PAGE)によって分離した後、波形変化に伴い変化するタンパク質のスポットを質量分析法(PMF法およびMS/MS法)により同定する。特に等電点移動を伴うリン酸化タンパク質、カルシウム結合タンパク質に着目して優先的に同定を行う。同定したタンパク質は精子鞭毛における局在を確認すると同時に阻害剤や機能阻害抗体を用いて同定因子の機能阻害実験を行う。鞭毛運動の詳細解析、細胞内シグナルのイメージングにより、同定した因子の生理的役割を明らかにする。

### 4. 研究成果

「鞭毛波形の非対称性制御」を調節する因子を明らかにするために除膜・再活性化したカタコウレイボヤ精子を高濃度カルシウム条件下とカルシウム非存在条件下で比較しプロテオミクス解析を行った。抗リン酸化抗体を用いたウェスタンブロットを行い、リン酸化状態の異なるスポットに着目し質量分析により同定を行った。その結果、運動制御に関わると考えられる複数の因子を同定することができた(図1)。また新規因子の機能解析を行うための実験系、解析系の構築を行った。ケージドATPを用いて精子鞭毛波形が形成される様子を高速カメラにより詳細に解析するためのUVLEDを組み込んだ実験系を確立した。構築したUVLEDを組み込んだ実験系を使用し、膜透過性ケージドcAMPを取り込んだカタコウレイボヤ精子の細胞内cAMP濃度上昇に伴う鞭毛運動変化を高速カメラおよびカルシウムイメージングシステムにより解析した。運動活性化前の精子に精子頭部、鞭毛それぞれ局所的なcAMP濃度上昇を誘導した結果、形成された鞭毛波に違いが見られた(図2)。また運動中の精子にUV照射を行った結果、cAMP増加により波形の非対称性の増加とその後の対称化が連続的に起こったが、カルシウム非存在下では波形の対称化のみが生じた。これらの結果から、cAMPがカルシウムイオンによって決定される鞭毛波の対称・非対称性に対して調整

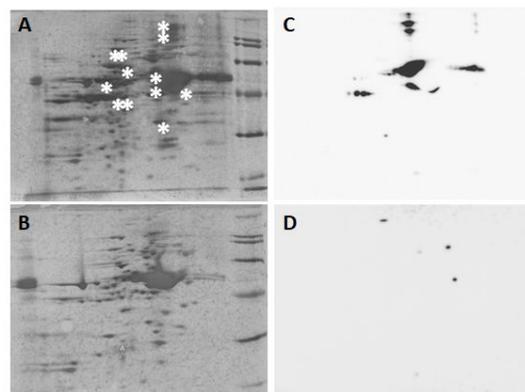


図1: カタコウレイボヤ除膜精子の二次元電気泳動画像。A, C; Ca<sup>2+</sup>非存在下条件、B, D; 1 mM Ca<sup>2+</sup>添加、A, B; CBB染色像(A, B)、C, D; 抗リン酸化抗体を用いたウェスタンブロット。アスタリスクのスポットについてタンパク質同定を行った。

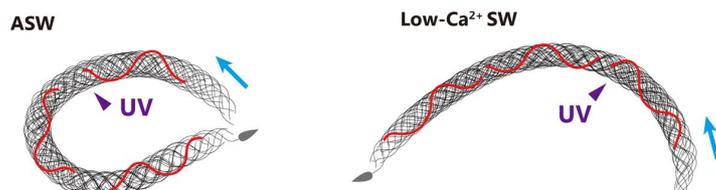


図2: 細胞内cAMP濃度上昇に伴うカタコウレイボヤ精子鞭毛波形変化。人工海水(ASW)中では非対称波・対称波が連続的に形成される。低カルシウム海水(LCSW)中では対称波のみが形成された。

的な役割を果たしていることが示唆された。さらにリン酸化部位を認識する抗体を用いて運動変化に対応してリン酸化するタンパク質の特定に取り組んだ。同定したカルシウム依存的に運動制御に関わると考えられる複数の因子に関しては抗体作製を行い機能の解明を現在目指している。以上の成果に関しては国際会議を含めた複数の学会で発表済みであり現在投稿論文を準備中である。公表した研究成果としては、プラシノ藻とウニ精子の鞭毛運動を比較することにより鞭毛運動調節に重要なカルシウムセンサーが、動物（オピストコンタ）と植物（バイコンタ）において独立に獲得されたという仮説を裏付ける結果を *J Plant Res.* 誌に発表した。またウニ幼生を用いて、鞭毛・繊毛のカルシウムセンサーであるカラクシンが繊毛の配向および協調的な繊毛運動制御に関与していることを発見し、*Sci Rep.* 誌に発表した。精子鞭毛運動の解析技術に関する総説を *Microscopy* 誌に発表した。「鞭毛波形の非対称性制御」に関わるシグナル経路解明において共同研究により、カタユレイボヤ精子走化性において誘引物質受容がカルシウムポンプによって仲介されることを明らかにし *Sci Rep.* 誌に発表した。本申請課題遂行のために改良した鞭毛・繊毛運動解析技術を活かし、複数の共同研究を行い査読付国際誌 9 誌において発表した。

## 5 . 主な発表論文等

### [雑誌論文](計 13 件)

- (1) Kinoshita-Terauchi N, [Shiba K](#), Umezawa T, Matsuda F, Motomura T, Inaba K. A brown algal sex pheromone reverses the sign of phototaxis by cAMP/Ca<sup>2+</sup>-dependent signaling in the male gametes of *Mutimo cylindricus* (Cutleriaceae). *J Photochem Photobiol B.* 2019 Mar;192:113-123. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.01.010. Epub 2019 Jan 29. 査読有
- (2) Nomura M, Atsuji K, Hirose K, [Shiba K](#), Yanase R, Nakayama T, Ishida KI, Inaba K. Microtubule stabilizer reveals requirement of Ca<sup>2+</sup>-dependent conformational changes of microtubules for rapid coiling of haptonema in haptophyte algae. *Biol Open.* 2019 Feb 11;8(2). pii: bio036590. doi: 10.1242/bio.036590. 査読有
- (3) Yoshida K, [Shiba K](#), Sakamoto A, Ikenaga J, Matsunaga S, Inaba K, Yoshida M. Ca<sup>2+</sup> efflux via plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase mediates chemotaxis in ascidian sperm. *Sci Rep.* 2018 Nov 9;8(1):16622. doi: 10.1038/s41598-018-35013-2. 査読有
- (4) Mizotani Y, Suzuki M, Hotta K, Watanabe H, [Shiba K](#), Inaba K, Tashiro E, Oka K, Imoto M. 14-3-3 $\epsilon$  directs the pulsatile transport of basal factors toward the apical domain for lumen growth in tubulogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018 Sep 18;115(38): E8873-E8881. doi: 10.1073/pnas.1808756115. Epub 2018 Aug 29. 査読有
- (5) Momose T, De Cian A, [Shiba K](#), Inaba K, Giovannangeli C, Concordet JP. High doses of CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein efficiently induce gene knockout with low mosaicism in the hydrozoan *Clytia hemisphaerica* through microhomology-mediated deletion. *Sci Rep.* 2018 Aug 6;8(1):11734. doi: 10.1038/s41598-018-30188-0. 査読有
- (6) Kamiya R, [Shiba K](#), Inaba K, Kato-Minoura T. Release of sticky glycoproteins from *Chlamydomonas* flagella during microsphere translocation on the surface membrane. *Zoolog Sci.* 2018 Aug;35(4):299-305. doi: 10.2108/zs180025. 査読有
- (7) Inaba K, [Shiba K](#). Microscopic analysis of sperm movement: links to mechanisms and protein components. *Microscopy (Oxf).* 2018 Jun 1;67(3):144-155. doi: 10.1093/jmicro/dfy021. 査読有
- (8) Ugwu SI, [Shiba K](#), Inaba K, Morita M. A Unique Seminal Plasma Protein, Zona Pellucida 3-Like Protein, has Ca<sup>2+</sup>-Dependent Sperm Agglutination Activity. *Zoolog Sci.* 2018 Apr;35(2):161-171. doi: 10.2108/zs170150. 査読有
- (9) Mizuno K, [Shiba K](#), Yaguchi J, Shibata D, Yaguchi S, Prulière G, Chenevert J, Inaba K. Calaxin establishes basal body orientation and coordinates movement of monocilia in sea urchin embryos. *Sci Rep.* 2017 Sep 7;7(1):10751. doi: 10.1038/s41598-017-10822-z. 査読有
- (10) [Shiba K](#), Inaba K. Inverse relationship of Ca<sup>2+</sup>-dependent flagellar response between animal sperm and prasinophyte algae. *J Plant Res.* 2017 May;130(3):465-473. doi: 10.1007/s10265-017-0931-7. Epub 2017 Apr 19. 査読有
- (11) Matsuzaki M, Mizushima S, Ichikawa Y, Shiba K, Inaba K, Sasanami T. Effects of a Protein Kinase Inhibitor on Sperm Motility in the Japanese Quail. *The Journal of Poultry Science*, 2017 Jan 25 (2016 Aug, online), 54(1): 73-79. doi: 10.2141/jpsa.0160079 査読有
- (12) Konno A, Ikegami K, Konishi Y, Yang HJ, Abe M, Yamazaki M, Sakimura K, Yao I, [Shiba K](#), Inaba K, Setou M. Doublet 7 shortening, doublet 5-preferential poly-Glu reduction, and beating stall of sperm flagella in *Ttll9*<sup>-/-</sup> mice. *J Cell Sci.* 2016 Jul 15; 129(14):2757-66. doi: 10.1242/jcs.185983. 査読有
- (13) Kinoshita N, [Shiba K](#), Inaba K, Fu G, Nagasato C, Motomura T. Flagellar waveforms of gametes in the brown alga *Ectocarpus siliculosus*. *Eur J Phycol*, 2016 Apr (2015 Dec, online): 51(2): 139-148. doi: 10.1080/09670262.2015.1109144. 査読有

〔学会発表〕(計 44 件)

- (1) Kogiku Shiba, Taichi Sakano, Toshiaki Furuta, Eiji Fujiwara, Shoji A Baba, Kazuo Inaba. (ポスター発表) cAMP modulates Ca<sup>2+</sup>-mediated regulation of sperm flagellar waveform, *XIII International Symposium on Spermatology (ISS)*, 2018.5.9-13, Stockholm, Sweden.
- (2) Keita Sasaki, Kogiku Shiba, Akihiro Nakamura, Natsuko Kawano, Yuhkoh Satouh, Daisuke Shibata, Mami Miyado, Shuji Takada, Hironori Ueno, Shigenori Nonaka, Masahito Ikawa, Tadashi Baba, Kenji Miyado, Kazuo Inaba. (ポスター発表) Calaxin is essential for ciliary formation in nodal monocilia but not in sperm flagella or epithelial multicilia, *XIII International Symposium on Spermatology (ISS)*, 2018.5.9-13, Stockholm, Sweden.
- (3) Takuro Nakayama, Yoshihito Takano, Mami Nomura, Kogiku Shiba, Kazuo Inaba, Goro Tanifuji, Yuji Inagaki and Masakado Kawata. (ポスター発表) Genome analysis of a symbiotic cyanobacterium in a dinophysalean dinoflagellate, *Ornithocercus magnificus*, *International Society for Evolutionary Protistology 2018*, 2018.5.27-6.1, Droushia, Cyprus.
- (4) 柴小菊, 坂野太一, 古田寿昭, 藤原英史, 馬場昭次, 稲葉一男. Kogiku Shiba, Taichi Sakano, Toshiaki Furuta, Eiji Fujiwara, Shoji A. Baba, Kazuo Inaba. (口頭発表) cAMP modulates Ca<sup>2+</sup>-mediated regulation of sperm flagellar waveform (カルシウムイオンを介した精子鞭毛波形制御における cAMP の調整効果), 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018.9.15-17, 岡山大学津島キャンパス, 岡山県岡山市.
- (5) 城倉圭, 柴田大輔, 山口勝司, 重信秀治, 柴小菊, 稲葉一男. Kei Jokura, Daisuke Shibata, Katsushi Yamaguchi, Shuji Shigenobu, Kogiku Shiba, Kazuo Inaba. (口頭発表) Identification of a novel protein CTENO64 in giant compound cilia in the ctenophore and its role in the coordinated ciliary movement (クシクラゲの巨大複合繊毛を構成する新規タンパク質 CTENO64 の同定と櫛板繊毛の協調的運動における役割), 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018.9.15-17, 岡山大学津島キャンパス, 岡山県岡山市.
- (6) 城倉圭, 柴田大輔, 山口勝司, 重信秀治, 柴小菊, 稲葉一男. (ポスター発表) カブトクラゲ櫛板を構成する新規タンパク質 CTENO64 の機能解析, 日本動物学会第 89 回札幌大会代替大会, 2018.12.9, 東京大学伊藤国際学術研究センター, 東京都文京区.
- (7) 城倉圭, 柴田大輔, 山口勝司, 重信秀治, 柴小菊, 稲葉一男. (口頭発表) カブトクラゲ櫛板タンパク質 CTENO64 の局在と機能, 2019 年生体運動研究合同班会議, 2019.1.4-6, 福岡大学七隈キャンパス, 福岡県博多市.
- (8) Ryuji Yanase, Mami Nomura, Kogiku Shiba, Kazuo Inaba. (口頭・ポスター発表) Microtubule Dynamics and Centrin-Related Proteins in the Haptonema of Haptophyte Algae, The 66th NIBB Conference / ABiS International Symposium "Cutting Edge Techniques of Bioimaging", 2019.2.17-18, 自然科学研究機構岡崎コンファレンスセンター, 愛知県岡崎市.
- (9) 伊藤岳, 守田昌哉, 稲葉一男, 柴小菊, 本間光雄, 安房田智司 (ポスター発表) 交尾に伴う精子の進化は海産魚類でどの程度共通しているか? 近縁種同士の比較から, 第 66 回日本生態学会大会, 2019.3.15-19, 神戸国際会議場, 兵庫県神戸市.
- (10) Kogiku Shiba (招待講演) Roles of calcium in the regulation of sperm flagellar movement, 招待講演, 2017.7.17, フランスビルフランシュ臨海実験所(Villefranche-sur-mer Developmental Biology Laboratory, France)
- (11) Yuji Mizotani, Mayu Suzuki, Hidenori Watanabe, Kogiku Shiba, Kazuo Inaba, Kohji Hotta, Kotaro Oka, Etsu Tashiro, Masaya Imoto. (ポスター発表) Chemical genetics reveal the role of 14-3-3 $\epsilon$  in *Ciona* notochord tubulogenesis, *The 9th International Tunicate Meeting*, 2017.7.17-21, New York University, New York, USA.
- (12) Kinoshita, N., Shiba, K., Inaba, K., Umezawa, T., Motomura, T. (ポスター発表) Effect of sex pheromone on the sign of phototaxis in brown algal male gametes, *11th International Phycological Congress*, 2017.8.13-19, University of Szczecin, Szczecin, Poland.
- (13) 柴小菊 (招待講演) 海の中のミクロの世界 - 鞭毛と繊毛, 第 7 回リケジョ・未来シンポジウム, 2017.9.17, お茶の水女子大学本館 3 階 306 教室, 東京都文京区.
- (14) 佐野マリコ, 柴小菊, 稲葉一男 (口頭発表) カルボニックアンヒドラーゼを介したカレイ類精子運動の CO<sub>2</sub> 阻害効果: 種間比較解析, 日本動物学会第 88 回大会, 2017.9.21-23, 富山県民会館, 富山県富山市.
- (15) 柴小菊, 坂野太一, 古田寿昭, 藤原英史, 馬場昭次, 稲葉一男 (口頭発表) カルシウムイオンを介した精子鞭毛波形制御における cAMP の調整作用, 日本動物学会第 88 回大会, 2017.9.21-23, 富山県民会館, 富山県富山市.
- (16) 吉田 薫, 柴小菊, 池永 潤平, 吉田 学 (口頭発表) 精子走化性は細胞膜型カルシウム ATP アーゼによるカルシウムイオン排出によって引き起こされる, 日本動物学会第 88 回大会, 2017.9.21-23, 富山県民会館, 富山県富山市.
- (17) 野村真未, 阿閉耕平, 広瀬恵子, 柴小菊, 稲葉一男 (招待講演) Microtubule dynamics for rapid coiling movement of haptonema in the haptophyte algae. ハプト藻に存在するハプトネマの急速コイリング運動における微小管ダイナミクス, "メカニカルコミュニケーションが生み出す生体運動の多様性", 第 55 回日本生物物理学会年会, 2017.9.21, 熊本大学黒髪北地区, 熊本県熊本市.

- (18) 城倉圭, 柴田大輔, 山口勝司, 柴小菊, 重信秀治, 稲葉一男 (口頭発表) カプトクラゲ櫛板を構成する新規タンパク質の同定, 第 8 回繊毛研究会, 2017.10.26-27, 筑波大学下田臨海実験センター, 静岡県下田市.
- (19) 柴小菊, 坂野太一, 古田寿昭, 藤原英史, 馬場昭次, 稲葉一男 (口頭発表) カルシウムイオンを介した精子鞭毛波形制御における cAMP の役割, 第 8 回繊毛研究会, 2017.10.26-27, 筑波大学下田臨海実験センター, 静岡県下田市.
- (20) Kogiku Shiba, Taichi Sakano, Toshiaki Furuta, Eiji Fujiwara, Shoji A Baba, Kazuo Inaba (口頭・ポスター発表) cAMP modulates Ca<sup>2+</sup>-mediated regulation of sperm flagellar waveform, *International Workshop Dynein 2017*, 2017.10.29-11.1, Awaji Yumebutai International Conference Center, Awaji, Hyogo, Japan.
- (21) Kei Jokura, Daisuke Shibata, Katsushi Yamaguchi, Shuji Shigenobu, Yumiko Makino, Kogiku Shiba, Kazuo Inaba (ポスター発表) CTENO64 is a SMC-domain containing protein that connects multiple axonemes in the comb plates of ctenophore, *International Workshop Dynein 2017*, 2017.10.29-11.1, Awaji Yumebutai International Conference Center, Awaji, Hyogo, Japan.
- (22) 柴小菊, 坂野太一, 古田寿昭, 藤原英史, 馬場昭次, 稲葉一男 (口頭発表) 精子走化性時の鞭毛波形制御における cAMP の役割, 生体運動研究合同班会議, 2018.1.5-7, 法政大学市ヶ谷キャンパス, 東京都千代田区.
- (23) 木ノ下菜々, 柴小菊, 梅澤大樹, 本村泰三, 稲葉一男 (口頭発表) 性フェロモンによる褐藻雄性配偶子の走光性符号の転換, 生体運動研究合同班会議, 2018.1.5-7, 法政大学市ヶ谷キャンパス, 東京都千代田区.
- (24) 野村真未, 阿閉耕平, 広瀬恵子, 柴小菊, 稲葉一男 (招待講演) ハプト藻ハプトネマにみられる急速コイリング運動のメカニズム, 第 50 回つくば藻類・プロテリストフォーラム, 2018.2.19, 筑波大学, 茨城県つくば市.
- (25) 伊藤岳, 守田昌哉, 柴小菊, 稲葉一男, 宗原弘幸, 山崎彩, 古屋康則, 武島弘彦, 安房田智司 (ポスター発表) 多様な繁殖様式を持つカジカ科魚類における交尾行動と精子競争に係した精子の平行進化, 第 65 回日本生態学会大会, 2018.3.14-18, 札幌コンベンションセンター, 北海道札幌市.
- (26) 野村真未, 阿閉耕平, 広瀬恵子, 柴小菊, 稲葉一男 (口頭発表) ハプト藻ハプトネマにみられる急速コイリング運動のメカニズム, 日本藻類学会第 42 回仙台大会, 2018.3.23-25, 東北大学青葉山新キャンパス, 宮城県仙台市.
- (27) 〇木ノ下菜々, 柴小菊, 梅澤大樹, 本村泰三, 稲葉一男 (口頭発表) 性フェロモンによる褐藻ムチモ雄性配偶子の正から負の走光性への転換, 日本藻類学会第 42 回仙台大会, 2018.3.23-25, 東北大学青葉山新キャンパス, 宮城県仙台市.
- (28) 中山卓郎, 高野義人, 野村真未, 柴小菊, 稲葉一男, 谷藤吾朗, 河田雅圭, 稲垣祐司 (口頭発表) 外洋性渦鞭毛藻 *Ornithocercus magnificus* に見られる共生シアノバクテリアのゲノム解析, 日本藻類学会第 42 回大会, 2018.3.23-25, 東北大学青葉山新キャンパス, 宮城県仙台市.
- (29) 宮田治彦, 佐藤裕公, 増子大輔, 武藤真長, 野澤香織, 柴小菊, 藤原祥高, 磯谷綾子, 稲葉一男, 伊川正人 (口頭発表) 精子カルシニューリンは尾部中片部の屈曲能とオスの生殖能に必須である. 第 63 回日本実験動物学会総会, 2016.5.18-20, ミューザ川崎シンフォニーホール, 川崎.
- (30) 稲葉一男, 阿閉耕平, 柴小菊, 野村真未, 広瀬恵子 (ポスター発表) ハプトネマの構造と構成タンパク質の解析, 新学術領域研究「運動超分子が織りなす調和と多様性」第 4 回領域全体会議, 2016.6.8-10, 長崎大学医学部良順会館, 長崎.
- (31) Osamu Kutomi, Keiko Hirose, Katsutoshi Mizuno, Kogiku Shiba, Lixy Yamada, Hitoshi Sawada, Daisuke Shibata, Ryosuke Yamamoto, Kazuo Inaba (口頭発表) A novel subunit of axonemal dynein contains a photoreceptor protein domain, *17th International Conference on the Cell and Molecular Biology of Chlamydomonas*, 2016.6.26-7.1, Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan.
- (32) Akinori Koitabashi, Masako Nakajima, Noriko Ueki, Kogiku Shiba, Takashi Yamano, Hiro Iguchi, Haruka Arakawa, Yuri Fukuda, Hideya Fukuzawa, Kazuo Inaba, Toru Hisabori, Ken-ichi Wakabayashi (ポスター発表) Isolation of a non-phototactic *Chlamydomonas* mutant that shows alternate flagellar beatings, *17th International Conference on the Cell and Molecular Biology of Chlamydomonas*, 2016.6.26-7.1, Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan.
- (33) Haruhiko Miyata, Yuhkoh Satouh, Daisuke Mashiko, Masanaga Muto, Kaori Nozawa, Kogiku Shiba, Yoshitaka Fujihara, Ayako Isotani, Kazuo Inaba, Masahito Ikawa. (ポスター発表) Sperm-specific calcineurin is necessary for midpiece flexibility and male fertility. *49th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction*, 2016.7.16-20, Sheraton San Diego Hotel & Marina San Diego, CA, USA.
- (34) 伊藤岳, 守田昌哉, 柴小菊, 稲葉一男, 宗原弘幸, 山崎彩, 古屋康則, 武島弘彦, 安房田智司 (ポスター発表) カジカ科魚類における精子の形態と運動性の進化: 交尾行動と精子競争に注目して, 2016 年度日本魚類学会年会, 2016.9.23-26, 岐阜大学, 岐阜市.
- (35) Kogiku Shiba (招待講演) Regulation of asymmetry in sperm flagellar waveforms and intracellular calcium. "Cilia: their coordination in motility, morphogenesis and eukaryotic evolution", *The joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th Meeting of the Zoological*

*Society of Japan*, 2016.11.15, Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University and Okinawa Convention Center, Okinawa, Japan.

(36) Kei Jokura, Daisuke Shibata, Katsushi Yamaguchi, Shuji Shigenobu, Yumiko Makino, Kogiku Shiba, Kazuo Inaba (ポスター発表) Identification of a novel protein CTENO64 from comb plates of the ctenophore *Bolinopsis mikado* (カプトクラゲの櫛板新規タンパク質 CTENO64 の同定), *The joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th Meeting of the Zoological Society of Japan*, 2016.11.14-19, Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University and Okinawa Convention Center, Okinawa, Japan.

(37) Keita Sasaki, Akihiro Nakamura, Kogiku Shiba, Natsuko Kawano, Daisuke Shibata, Mami Miyado, Yuhkoh Satouh, Hironori Ueno, Shigenori Nonaka, Masahito Ikawa, Tadashi Baba, Kenji Miyado, Kazuo Inaba (ポスター発表) Calaxin is critical for the formation of mouse nodal cilia (カラクシンはマウスノド繊毛の形成に必須である), *The joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th Meeting of the Zoological Society of Japan*, 2016.11.14-19, Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University and Okinawa Convention Center, Okinawa, Japan.

(38) Peiran Xie, Daisuke Shibata, Kogiku Shiba, Katsushi Yamaguchi, Shuji Shigenobu, Kazuo Inaba (ポスター発表) Distinct roles of parasperm in male and female reproductive tracts in the sea snail *Strombus luhuanus* (マガキガイ異型精子の雄性雌性生殖巣における異なる役割), *The joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th Meeting of the Zoological Society of Japan*, 2016.11.14-19, Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University and Okinawa Convention Center, Okinawa, Japan.

(39) Kogiku Shiba (招待講演) Roles of calcium in the regulation of sperm flagellar movement. “運動性鞭毛・繊毛の最前線 - 生体ナノマシンの制御機構 -”, 第 54 回日本生物物理学会年会, 2016.11.25, つくば国際会議場, 筑波.

(40) Mami Nomura, Keiko Hirose, Kogiku Shiba, Kazuo Inaba (ポスター発表) ハプトネマの微小管系急速コイリング運動メカニズムを探る. Unveiling a mechanism for rapid microtubule coiling movement of haptonema, 第 54 回日本生物物理学会年会, 2016.11.25-27, つくば国際会議場, 筑波.

(41) Ritsu Kamiya, Kogiku Shiba, Kazuo Inaba, Takako Kato-Minoura (ポスター発表) 鞭毛・繊毛の表面運動: 現象の普遍性と膜タンパク質のダイナミクス. Surface motility in eukaryote cilia/flagella: Generality and membrane protein dynamics, 第 54 回日本生物物理学会年会, 2016.11.25-27, つくば国際会議場, 筑波.

(42) Keita Sasaki, Akihiro Nakamura, Kogiku Shiba, Natsuko Kawano, Daisuke Shibata, Mami Miyado, Yuhkoh Satouh, Hironori Ueno, Shigenori Nonaka, Masahito Ikawa, Tadashi, Kenji Miyado, Kazuo Inaba (ポスター発表) Calaxin is essential for ciliary formation in nodal monocilia but not in sperm flagella or epithelial multicilia, *the 28th CDB Meeting "Cilia and Centrosomes: Current Advances and Future Directions"*, 2016.11.27-29, RIKEN Center for Developmental Biology, Kobe, Japan.

(43) Kogiku Shiba, Shoji A Baba, Eiji Fujiwara, Kazuo Inaba (ポスター発表) The role of calaxin in the propagation of asymmetric waves in sperm flagella, *the 28th CDB Meeting "Cilia and Centrosomes: Current Advances and Future Directions"*, 2016.11.27-29, RIKEN Center for Developmental Biology, Kobe, Japan.

(44) 城倉圭、柴田大輔、山口勝司、柴小菊、重信秀治、稲葉一男 (口頭発表) カプトクラゲ櫛板を構成する新規タンパク質の同定, 生体運動研究合同班会議, 2017.1.6-8, 神戸国際会議場, 神戸.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕ホームページ等

<http://www.shimoda.tsukuba.ac.jp/ronbun.html>

<http://www.shimoda.tsukuba.ac.jp/~inaba/publish.html>

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 稲葉一男

ローマ字氏名: INABA KAZUO

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。