

平成24年度～平成28年度  
科学研究費助成事業（科学研究費補助金）  
（新学術領域研究（研究領域提案型））  
研究成果報告書

平成30年6月

領域代表者 濱田 博司

国立研究開発法人理化学研究所・

多細胞システム形成研究センター・センター長

## はしがき

本研究領域では、細胞の内外を貫くシリア(繊毛)～中心体系という密接に関連した構造を、生体情報の流れを制御するダイナミックな細胞内小器官として捉え、その構造と動態に立脚した新たな視点から、細胞内外の情報フローの制御を体系的に理解することを目指した。5つの計画研究と20以上の公募研究を進めた結果、先端的研究者と若手研究者層が中核となって、生体情報のフローと細胞構築の動態をリンクさせる新しい学問分野を創出することができた。5年間の研究で得られた成果によって、発生・発育・ホメオスタシス等の生理現象の理解が促進されただけでなく、シリア-中心体系を介した情報フローの破綻に由来するヒト疾患の病態解明に貢献する事ができた。その点では、基礎生物学的な意義のみならず、医学的な意義も極めて大きかった。

## 研究組織

### 計画研究

領域代表者 濱田 博司 (理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・センター長)

#### (総括班)

研究代表者	濱田 博司	理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・センター長
研究分担者	稲垣 昌樹	三重大学大学院・医学系研究科・教授
研究分担者	五島 直樹	産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター・チーム長
研究分担者	月田早智子	大阪大学・生命機能研究科/医学系研究科・教授
研究分担者	松崎 文雄	理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・チームリーダー
連携研究者	北川 大樹	国立遺伝学研究所・教授
連携研究者	広常 真治	大阪市立大学・大学院医学研究科・教授
研究協力者	吉川 雅英	東京大学大学院医学研究科・教授
研究協力者	杉本 亜砂子	東北大学大学院生命科学研究所・教授
研究協力者	豊島 文子	京都大学ウイルス研究所・教授

#### (計画班)

研究代表者	月田早智子	大阪大学・生命機能研究科/医学系研究科・教授
研究代表者	北川 大樹	国立遺伝学研究所・教授
研究代表者	濱田 博司	理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・センター長

研究代表者	稲垣 昌樹	三重大学大学院・医学系研究科・教授
研究代表者	松崎 文雄	理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・ チームリーダー
研究代表者	広常 真治	大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

## 公募研究

研究代表者	芝 大	京都府立医科大学・医学研究科・講師
研究代表者	水野 健作	東北大学・生命科学研究科・教授
研究代表者	広野 雅文	東京大学・大学院理学系研究科・准教授
研究代表者	豊島 陽子	東京大学・大学院総合文化研究科・教授
研究代表者	塚原 達也	東京大学・大学院理学系研究科・助教
研究代表者	若林 憲一	東京工業大学・資源化学研究所・准教授
研究代表者	荒川 聡子	東京医科歯科大・難治疾患研究所・助教
研究代表者	中山 和久	京都大学大学院・薬学研究科・教授
研究代表者	藤原 敬宏	京都大学・物質－細胞統合システム拠点・講師
研究代表者	原田 彰宏	大阪大学・医学系研究科・教授
研究代表者	松浦 伸也	広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授
研究代表者	政池 知子	東京理科大学理工学部・応用生物科学科・講師
研究代表者	福田 光則	東北大学・大学院生命科学研究科・教授
研究代表者	小田 賢幸	山梨大学・総合研究部・教授
研究代表者	宮本 達雄	広島大学・原爆放射線医科学研究所・講師
研究代表者	藤森 俊彦	自然科学研究機構・基礎生物学研究所・教授
研究代表者	池上 浩司	浜松医科大学・医学部・准教授
研究代表者	花房 洋	名古屋大学・大学院理学研究科・講師
研究代表者	西田 宏記	大阪大学・理学研究科・教授
研究代表者	大森 義裕	大阪大学・蛋白質研究所・准教授
研究代表者	斎藤 祐見子	広島大学・総合科学研究科・教授
研究代表者	大森 俊宏	東北大学大学院・工学研究科・助教
研究代表者	稲葉 一男	筑波大学・生命環境系・教授
研究代表者	武川 睦寛	東京大学・医科学研究所・教授
研究代表者	西田 満	神戸大学・医学研究科・准教授
研究代表者	小林 哲夫	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究 科・助教
研究代表者	西坂 崇之	学習院大学・理学部・教授

研究代表者	福井 一	国立循環器病研究センター研究所・細胞生物学部・ 上級研究員
研究代表者	大杉 美穂	東京大学・総合文化研究科・准教授
研究代表者	貝淵 弘三	名古屋大学・大学院医学系研究科・教授
研究代表者	松村 繁	京都大学・ウイルス研究所・助教
研究代表者	竹内 隆	鳥取大学・医学部・教授
研究代表者	廣田 ゆき	慶應義塾大学・医学部・講師
研究代表者	清光 智美	名古屋大学・理学研究科・助教
研究代表者	澤本 和延	名古屋市立大学大学院 医学研究科・教授

#### 交付決定額（配分額）

	合計	直接経費	間接経費
平成24年度	333,970,000 円	256,900,000 円	77,070,000 円
平成25年度	197,470,000 円	151,900,000 円	45,570,000 円
平成26年度	198,770,000 円	152,900,000 円	45,870,000 円
平成27年度	197,600,000 円	152,000,000 円	45,600,000 円
平成28年度	197,860,000 円	152,200,000 円	45,660,000 円
総計	1,125,670,000 円	865,900,000 円	259,770,000 円

## 研究発表

### 雑誌論文

- Tateishi, K., Nishida, T., Inoue, K., and \*Tsukita, S. Three-dimensional Organization of Layered Apical Cytoskeletal Networks Associated with Mouse Airway Tissue Development. *Sci. Rep.* 7:43783, 2017. 査読有
- Herawati, E., Taniguchi, D., Kanoh, H., Tateishi, K., Ishihara, S., and \*Tsukita, S. Multiciliated cell basal bodies align in stereotypical patterns coordinated by the apical cytoskeleton. *J. Cell Biol.* 214:571-586, 2016. 査読有
- Yano, T., Matsui, T., Tamura, A., Uji, M., and \*Tsukita, S. The association of microtubules with tight junctions is promoted by cingulin phosphorylation by AMPK. *J. Cell Biol.* 203:605-614, 2013. 査読有
- Tateishi, K., Yamazaki, Y., Nishida, T., Watanabe, S., Kunitomo, K., Ishikawa, H., and \*Tsukita, S. Two appendages homologous between basal bodies and centrioles are formed using distinct Odf2 domains. *J. Cell Biol.* 203:417-425, 2013. 査読有
- Gupta, A., Tsuchiya, Y., Ohta, M., Shiratsuchi, G., and \*Kitagawa, D. NEK7 is required for G1 progression and procentriole formation. *Molecular Biology of the Cell, in press*, 2017. 査読有
- Tsuchiya, Y., Yoshida, S., Gupta, A., Watanabe, K., and \*Kitagawa, D. Cep295 is a conserved scaffold protein required for generation of a bona fide mother centriole. *Nature Communications*, doi: 10.1038/ncomms12567, 2016. 査読有
- Shiratsuchi, G., Takaoka, K., Ashikawa, T., Hamada, H., and \*Kitagawa, D. RBM14 prevents assembly of centriolar protein complexes and maintains spindle integrity. *EMBO J.*, 34: 97-114, 2015. 査読有
- Ohta, M., Ashikawa, T., Nozaki, Y., Kozuka-Hata, H., Goto, H., Inagaki, M., Oyama, M., and \*Kitagawa, D. Direct interaction of Plk4 with STIL ensures formation of a single procentriole per parental centriole. *Nature Communications*, DOI: 10.1038/ncomms6267, 2014. 査読有
- Kikuchi, Y., Naka, Y., Osakabe, H., Okamoto, T., Masaike, T., Ueno, H., Toyabe, S., \*Muneyuki, E. Thermodynamic analyses of nucleotide binding to an isolated monomeric  $\beta$  subunit and the  $\alpha_3\beta_3\gamma$  subcomplex of F<sub>1</sub>-ATPase. *Biophys. J.* 105:2541-2548, 2013. 査読有
- Abe, S., Nagai, T., Masukawa, M., Okumoto, K., Homma, Y., Fujiki, Y., and \*Mizuno, K. Localization of protein kinase NDR2 to peroxisomes and its role in ciliogenesis. *J. Biol. Chem.* 292:4089-4098, 2017. 査読有
- Nagai, T., Ikeda, M., Chiba, S., Kanno, S., and \*Mizuno, K. Furry promotes acetylation of microtubules in the mitotic spindle by inhibition of SIRT2 tubulin deacetylase. *J. Cell Sci.* 126:4369-4380, 2013. 査読有
- Chiba, S., Amagai, Y., Homma, Y., Fukuda, M., and \*Mizuno, K. NDR2-mediated Rabin8 phosphorylation is crucial for ciliogenesis by switching binding specificity from phosphatidylserine to Sec15. *EMBO J.* 32:874-885, 2013. 査読有
- Hilbert, M., Noga, A., Frey D., Hamel, V., Guichard, P., Kraatz, S.H., Pfreundschuh, M., Hosner, S., Flückiger, I., Jaussi, R., Wieser, M.M., Thielges, K.M., Deupi, X., Müller, D.J., Kammerer, R.A., \*Gönczy, P., \*Hirono, M., \*Steinmetz, M.O. SAS-6 engineering reveals interdependence between cartwheel and microtubules in determining centriole architecture. *Nat. Cell Biol.* 18:393-403, 2016. 査読有
- Ichikawa M., Saito K., Yanagisawa H., Yagi, T., Kamiya, R., Yamaguchi S., Yajima, J., Kushida Y., Nakano, K., Numata, O. and Toyoshima, Y. Y. Axonemal Dynein Light Chain-1 Locates at the Microtubule Binding Domain of the  $\gamma$  Heavy Chain. *Mol. Biol. Cell* 26, 4236-4247. DOI: 10.1091/mbc.E15-05-0289, 2016. 査読有
- Watanabe, Y., Honda, S., Konishi, A., Arakawa, S., Murohashi, M., Yamaguchi, H., Torii, S., Tanabe, M., Tanaka, S., Warabi, E., and Shimizu, S. \* Autophagy controls centrosome number by degrading Cep63. *Nature Commun.* 7:13508, 2016. 査読有
- Yamaguchi, H.#, Arakawa, S. #(equally contribution), Kanaseki, T., Miyatsuka, T., Fujitani, Y., Watada, H., Tsujimoto, Y., Shimizu, S. \* Golgi membrane-associated degradation pathway in yeast and mammals. *EMBO J.* 35(18):1991-2007, 2016. 査読有
- Honda, S., Arakawa, S., Nishida, Y., Yamaguchi, H., Ishii, E., and Shimizu, S. \* Ulk1-mediated Atg5-independent macroautophagy mediates elimination of mitochondria from embryonic reticulocytes, *Nature Commun.* 5:4004, 2014. 査読有
- Ueki, N., Ide, T., Mochiji, S., Kobayashi, Y., Tokutsu, R., Ohnishi, N., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., Tanaka, K., Minagawa, J., Hisabori, T., Hirono, M., \*Wakabayashi, K. Eyespot-dependent determination of the phototactic sign in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 113:5299-5304, 2016. 査読有
- Owa, M., Furuta, A., Usukura, J., Arisaka F., King, S.M., Witman, G.B., Kamiya, R., \*Wakabayashi, K. Cooperative binding of the outer arm docking complex underlies the regular arrangement of outer arm dynein

in the axoneme. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 111:9461-6, 2014. 査読有

Sobajima, T., Yoshimura, S., Iwano, T., Kunii, M., Watanabe, M., Atik, N., Mushiake, S., Morii, E., Koyama, Y., Miyoshi, E., \*Harada, A. Rab11a is required for apical protein localisation in the intestine. *Biol. Open* 4: 86-94, 2014. 査読有

Sato, T., Iwano, T., Kunii, M., Matsuda, S., Mizuguchi, R., Jung, Y., Hagiwara, H., Yoshihara, Y., Yuzaki, M., Harada, R., \*Harada, A. Rab8a and Rab8b are essential for several apical transport pathways but insufficient for ciliogenesis. *J Cell Sci.*, 127: 422-31, 2014. 査読有

Nishijima, Y., Hagiya, Y., Kubo, T., Takei, R., \*Katoh, Y., and \*Nakayama, K. RABL2 interacts with the intraflagellar transport B complex and CEP19 and participates in ciliary assembly. *Mol. Biol. Cell* 28:1652-1666, 2017. 査読有

Katoh, Y., Terada, M., Nishijima, Y., Takei, R., Nozaki, S., Hamada, H., and \*Nakayama, K. Overall architecture of the intraflagellar transport (IFT)-B complex containing Cluap1/IFT38 as an essential component of the IFT-B peripheral subcomplex. *J. Biol. Chem.* 291:10962-10975, 2016. 査読有

\*Shi, D., Usami, F., Komatsu, K., Oka, S., Abe, T., Uemura, T., and \*Fujimori, T. Dynamics of planar cell polarity protein Vangl2 in the mouse oviduct epithelium. *Mech Dev.*, 141:78-89, 2016. 査読有

Hiramoto-Yamaki, N., Tanaka, K.A., Suzuki, K.G., Hirosawa, K.M., Miyahara, M.S., Kalay, Z., Tanaka, K., Kasai, R.S., \*Kusumi, A., and \*Fujiwara, T.K. Ultrafast diffusion of a fluorescent cholesterol analog in compartmentalized plasma membranes. *Traffic* 15: 583-612, 2014. 査読有

Homma, Y. and \*Fukuda, M. Rabin8 regulates neurite outgrowth in both GEF-activity-dependent and -independent manners. *Mol. Biol. Cell* 27:2107-2118, 2016. 査読有

Mrozowska, P. S. and \*Fukuda, M. Regulation of podocalyxin trafficking by Rab small GTPases in 2D and 3D epithelial cell cultures. *J. Cell Biol.* 213:355-369, 2016. 査読有

Aizawa, M. and \*Fukuda, M. Small GTPase Rab2B and its specific binding protein Golgi-associated Rab2B interactor-like 4 (GARI-L4) regulate Golgi morphology. *J. Biol. Chem.* 290:22250-22261, 2015. 査読有

Oda, T. Three-dimensional structural labeling microscopy of cilia and flagella. *Microscopy* DOI: 10.1093/jmicro/dfx018, 2017. 査読有

Oda, T., Abe, T., Yanagisawa, H., Kikkawa, M. Docking-complex-independent alignment of Chlamydomonas outer dynein arms with 24-nm periodicity in vitro. *J. Cell Sci.* 129: 1547-1551, 2016. 査読有

Oda, T., Abe, T., Yanagisawa, H., Kikkawa, M. Structure and function of outer dynein arm intermediate and light chain complex. *Mol. Biol. Cell* 27: 1051-1059, 2016. 査読有

Minegishi, K., Hashimoto, M., Ajima, R., Takaoka, K., Shinohara, K., Ikawa, Y., Nishimura, H., McMahon, A., Willert, K., Okada, Y., Sasaki, H., Shi, D., Fijimori, T., Otsuka, T., Igarashi, Y., Yamaguchi, T., Shimono, A., Shiratori, H. and \*Hamada, H. A Wnt5 activity asymmetry and intercellular signaling polarize node cells for breaking left-right symmetry in the mouse embryo. *Dev. Cell* 40:439-452, 2017. 査読有

Wallmeier, J., Shiratori, H., Dougherty, G.W., Edelbusch, C., Hjejij, R., Loges, N.T., Menchen, T., Olbrich, H., Pennekamp, P., Raidt, J., Werner, C., Minegishi, K., Shinohara, K., Asai, Y., Takaoka, K., Griese, M., Memari, Y., Durbin, R., Kolb-Kokocinski, A., Sauer, S., Hamada, H. and \*Omran, H. TTC25 deficiency results in defects of the outer dynein arm associated machinery and primary ciliary dyskinesia with randomization of left/right body asymmetry. *Am. J. Hum. Genet.* 99 (2):460-469, 2016. 査読有

Shinohara, K., \*Chen, D., Nishida, T., Misaki, K., Yonemura, S. and Hamada, H. Absence of radial spokes in mouse node cilia is required for rotational movement but confers ultrastructural instability as a trade-off. *Dev Cell.* 35(2):236-246, 2015. 査読有

Dong, F., Shinohara, K., Nabeshima, R., Botilde, Y., Asai, Y., Fukumoto, A., Hasegawa, T., Matsuo, M., Takeda, H., Shiratori, H., Nakamura T., and \*Hamada, H. Pih1d3 is required for cytoplasmic preassembly of axonemal dynein in mouse sperm. *J. Cell Biol.* 204:203-213, 2014. 査読有

\*Takamatsu, A., Shinohara, K., Ishikawa, T. and Hamada, H. Hydrodynamic phase synchronization in mouse node cilia. *Physical Review Letters.* 110:248107, 2013. 査読有

Nakamura, T., Saito, D., Kawasumi, A., Shinohara, K., Asai, Y., Takaoka, K., Dong, F., Takamatsu, A., Belo, J.A., Mochizuki, A., and \*Hamada, H. Fluid flow and interlinked feedback loops establish left-right asymmetric decay of *Cerl2* mRNA in the mouse embryo. *Nat. Commun.* 3:1322, 2012. 査読有

Yoshida, S., Shiratori, H., Kawasumi, A., Shinohara, K., Sasaki, G., Belo, J.A., Nonaka, S., Sasaki, H., Kuo, I., Ehrlich, B., Pennekamp, P., Dworniczak, B., and \*Hamada, H. Cilia at the node of mouse embryos sense fluid flow for left-right determination via Pkd2. *Science.* 338:226-231, 2012. 査読有

Inaba, H., Goto, H., Kasahara, K., Kumamoto, K., Yonemura, S., Inoko, A., Yamano, S., Wanibuchi, H., He,

D., Goshima, N., Kiyono, T., Hirotsune, S., \*Inagaki, M. Ndel1 suppresses ciliogenesis in proliferating cells by regulating the trichoplein-Aurora A pathway. *J. Cell Biol.* 212:409-423, 2016. 査読有

Tanaka, H., Goto, H., Inoko, A., Makihara, H., Enomoto, A., Horimoto, K., Matsuyama, M., Kurita, K., Izawa, I., \*Inagaki, M. Cytokinetic Failure-induced Tetraploidy Develops into Aneuploidy, Triggering Skin Aging in Phosphovimentin-deficient Mice. *J. Biol. Chem.* 290:12984-98, 2015. 査読有

Kasahara, K., Kawakami, Y., Kiyono, T., Yonemura, S., Kawamura, Y., Era, S., Matsuzaki, F., Goshima, N., \*Inagaki, M. Ubiquitin-proteasome system controls ciliogenesis at the initial step of axoneme extension. *Nat. Commun.* 5:5081, 2014. 査読有

Matsuyama, M., Tanaka, H., Inoko, A., Goto, H., Yonemura, S., Kobori, K., Hayashi, Y., Kondo, E., Itoharu, S., Izawa, I., \*Inagaki, M. Defect of mitotic vimentin phosphorylation causes microphthalmia and cataract via aneuploidy and senescence in lens epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 288:35626-35635, 2013. 査読有

Kasahara, K., Goto, H., Izawa, I., Kiyono, T., Watanabe, N., Elowe, S., Nigg, E.A., \*Inagaki, M. PI 3-kinase-dependent phosphorylation of Plk1-Ser99 promotes association with 14-3-3 $\gamma$  and is required for metaphase-anaphase transition. *Nat. Commun.* 4:1882, 2013. 査読有

Arimoto-Matsuzaki K, Saito H and \*Takekawa M. TIA1 oxidation inhibits stress granule assembly and sensitizes cells to stress-induced apoptosis. *Nature Commun.* 7: 10252 doi:10.1038/ncomms10252, 2016.

Ichikawa K, Kubota Y, Nakamura T, Weng JS, Tomida T, Saito H and \*Takekawa M. MCRIP1, an ERK substrate, mediates ERK-induced gene silencing during epithelial-mesenchymal transition by regulating the co-repressor CtBP. *Molecular Cell* 58: 35-46, 2015. 査読有

Tomida T, Takekawa M and \*Saito H. Oscillation of p38 activity controls efficient pro-inflammatory gene expression. *Nature Commun.* 6: 8350 doi:10.1038/ncomms9350, 2015. 査読有

Phua, S.C., Chiba, S., Suzuki, M., Su, E., Roberson, E.C., Pusapati, G.V., Setou, M., Rohatgi, R., Reiter, J.F., \*Ikegami, K., and \*Inoue, T. Dynamic Remodeling of Membrane Composition Drives Cell Cycle through Primary Cilia Excision. *Cell* 168:264-279, 2017. 査読有

\*Hanafusa, H., Kedashiro, S., Tezuka, M., Funatsu, M., Usami, S., Toyoshima, F., \*Matsumoto, K. PLK1-dependent activation of LRRK1 regulates spindle orientation by phosphorylating CDK5RAP2. *Nat. Cell Biol.* 17:1024-1035, 2015. 査読有

Kedashiro, S., Pastuhov, S., Nishioka, T., Watanabe, T., Kaibuchi, K., \*Matsumoto, K., \*Hanafusa, H. Phosphorylation of CLIP-170 by LRRK1 regulates EGFR trafficking by promoting recruitment of p150Glued to MT plus-ends. *J. Cell Sci.* 128:385-396, 2015. 査読有

Okamoto, S., Chaya, T., Omori, Y., Kuwahara, R., Kubo, S., Sakaguchi, H., \*Furukawa, T. Ick ciliary kinase is essential for planar cell polarity formation in inner ear hair cells and hearing function. *J Neurosci.* 2017, 37(8):2073-2085, 2017. 査読有

Boubakri, M., Chaya, T., Hirata, H., Kajimura, N., Kuwahara, R., Ueno, A., Malicki, J., Furukawa, T., \*Omori, Y. Loss of ift122, a Retrograde IFT Complex Component, Leads to Slow, Progressive Photoreceptor Degeneration Due to Inefficient Opsin Transport *J Biol Chem.*:291 (47):24465-24474, 2016. 査読有

Chaya, T., Omori, Y., Kuwahara, R., \*Furukawa, T. ICK is essential for cell type-specific ciliogenesis and the regulation of ciliary transport. *EMBO J*;33(11):1227-1242, 2014. 査読有

\*Omori, T., and Ishikawa, T. Upward swimming of a sperm cell in shear flow. *Phys. Rev. E* 93:032402, 2016.

Miyata H, Satouh Y, Mashiko D, Muto M, Nozawa K, Shiba K., Fujihara Y, Isotani A, Inaba K., \*Ikawa M. Sperm calcineurin inhibition prevents mouse fertility with implications for male contraceptive. *Science*, 350(6259):442-5, 2015. doi: 10.1126/science.aad0836. 査読有

\*Kobayashi, T., Itoh, H. Loss of a primary cilium in PDAC. *Cell Cycle* 16:817-818, 2017. 査読有

\*Kobayashi, T., Nakazono, K., Tokuda, M., Mashima, Y., Dynlacht, B. D., Itoh, H. HDAC2 promotes loss of primary cilia in pancreatic ductal adenocarcinoma. *EMBO Rep.* 18:334-343, 2017. 査読有

Suzuki K#, Tsunekawa Y#, Hernandez-Benitez R#, Wu J #, · · · , Matsuzaki F., et al. In vivo genome editing via CRISPR-Cas9 mediated homology-independent targeted integration. *Nature.* 540(7631):144-149. #equal contribution. 2016. 査読有

Tsunekawa Y#, Terhune RK#, Fujita I., Shitamukai A., Suetsugu T, \*Matsuzaki F. Developing a de novo targeted knock-in method based on in utero electroporation into the mammalian brain. *Development.* 143(17):3216-22. doi: 10.1242/dev.136325. #equal contribution. 2016. 査読有

Okamoto M, Miyata T, Konno D., Ueda HR, Kasukawa T, Hashimoto M, \*Matsuzaki F., and \*Kawaguchi A. Cell cycle-independent transitions in temporal identity of mammalian neural progenitor cells. *Nat Commun.* 7:11349. doi: 10.1038/ncomms11349. \*corresponding authors. 2016. 査読有

Pilz GA, Shitamukai A, Reillo I, Pacary E, Schwausch J, Stahl R, Ninkovic J, Snippert HJ, Clevers H, Godinho L, Guillemot F, Borrell V, \*Matsuzaki F, \*Götz M. Amplification of progenitors in the mammalian telencephalon includes a new radial glial cell type. *Nat Commun.* 4:2125., 2013. 査読有

Jin, M., Pomp, O., Shinoda, T., Toba, S., Torisawa, T., Furuta, K., Oiwa, K., Yasunaga, T., Kitagawa, D., Matsumura, S., Miyata, T., Tan, TT., Reversade, B., \*Hirotsune, S. Katanin p80, NuMA and cytoplasmic dynein cooperate to control microtubule dynamics. *Scientific reports* 7:39902, 2017. 査読有

Jin, M., Yamada, M., Arai, Y., Nagai, T., \*Hirotsune, S. Arl3 and LC8 regulate dissociation of dynactin from dynein. *Nature communications* 5:5295, 2014. 査読有

Yamada, M., Kumamoto, K., Mikuni, S., Arai, Y., Kinjo, M., Nagai, T., Tsukasaki, Y., Watanabe, TM., Fukui, M., Jin, M., Toba, S., \*Hirotsune, S. Rab6a releases LIS1 from a dynein idling complex and activates dynein for retrograde movement. *Nature communications* 4:2033, 2013. 査読有

Takitoh, T., Kumamoto, K., Wang, C. C., Sato, M., Toba, S., Wynshaw-Boris, A., and\* Hirotsune, S. Activation of Aurora-A is essential for neuronal migration via modulation of microtubule organization. *J Neurosci.*,:32, 11050-11066, 2012. 査読有

Amano, M., Hamaguchi, T., Shohag, M. H., Kozawa, K., Kato, K., Zhang, X., Yura, Y., Matsuura, Y., Kataoka, C., Nishioka, T., and \*Kaibuchi, K. Kinase-interacting substrate screening is a novel method to identify kinase substrates, *J Cell Biol.* 209:895-912, 2015. 査読有

Watanabe, T., Kakeno, M., Matsui, T., Sugiyama, I., Arimura, N., Matsuzawa, K., Shirahige, A., Ishidate, F., Nishioka, T., Taya, S., Hoshino, M., and \*Kaibuchi, K. TTBK2 with EB1/3 regulates microtubule dynamics in migrating cells through KIF2A phosphorylation, *J Cell Biol.* 210:737-751, 2015. 査読有

\*Matsumura, S., Kojidani, T., Kamioka, Y., Uchida, S., Haraguchi, T., Kimura, A., Toyoshima, F. Interphase adhesion geometry is transmitted to an internal regulator for spindle orientation via caveolin-1. *Nat Commun.* 7: ncomms11858. doi: 10.1038/ncomms11858, 2016. 査読有

Tane, S., Kubota, M., Okayama, H., Ikenishi, A., Yoshitome, S., Iwamoto, N., Satoh, Y., Kusakabe, A., Ogawa, S., Kanai, A., Molkentin, J. D., Nakamura, K., Ohbayashi, T., and \*Takeuchi, T. Repression of *cyclin D1* expression is necessary for the maintenance of cell cycle exit in adult mammalian cardiomyocytes. *J. Biol. Chem.* 289:18033-18044, 2014. 査読有

Inagawa, M., Nakajima, K., Makino, T., Ogawa, S., Kojima, M., Ito, S., Ikenishi, A., Hayashi, T., Schwartz, R. J., Nakamura, K., Obayashi, T., Tachibana, M., Shinkai, Y., Maeda, K., Miyagawa-Tomita, S., and \*Takeuchi, T. Histone H3 Lysine 9 methyltransferases, G9a and GLP are essential for cardiac morphogenesis. *Mech. Dev.* 130:519-531, 2013. 査読有

#### 学会発表

Hiroshi Hamada, Specification of distal visceral endoderm for anterior-posterior patterning. CDB Symposium 2013: Making of a Vertebrate. 2013.

Hiroshi Hamada, Role of cilia in left-right symmetry breaking, International Joint Meeting of German Society for Developmental Biology and German Society for Cell Biology, 2013.

Hiroshi Hamada, Establishing left-right asymmetry in the mouse embryo, InStem Mouse Embryology Workshop Bangalore, 2013.

Hiroshi Hamada, Generating and sensing the flow signal for establishing left-right asymmetry, Meeting of Korean Society of Physiology, 2013.

Hiroshi Hamada, Positioning of the basal body by a gradient of Wnt5a activity, OIST Conference on Gradient and Signaling, 2013.

Hiroshi Hamada, Role of cilia in left-right symmetry breaking, Keystone Meeting on Cilia, 2014.

Hiroshi Hamada, Role of motile and immotile cilia in left-right symmetry breaking, Gordon Research Conference on Cilia, Mucus and Mucociliary Interactions, 2015.

Hiroshi Hamada, Role of motile and immotile cilia in left-right symmetry breaking, Keystone Symposia Conference on Heart Diseases and Regeneration, 2015.

Hiroshi Hamada, Role of maternal Nodal signaling, Mouse Molecular Genetics Meeting, 2015.

Hiroshi Hamada, Role of cilia and fluid flow in left-right symmetry breaking, The 2016 Santa Cruz Developmental Biology Meeting, 2016.

Hiroshi Hamada, Role of immotile cilia in left-right symmetry breaking, Cilia 2016: from developmental biology to disease, 2016

Hiroshi Hamada, Role of cilia in left-right symmetry breaking, CDB-KAIST-IGDB Joint Symposium, 2016.

Hiroshi Hamada, Immotile cilia sense the fluid flow for left-right symmetry breaking, Gordon Research

## Conference on Cilia, Mucus and Mucociliary Interactions, 2017.

### シンポジウム主催

- \*Centrosome Biology symposium, 日本細胞生物学会年会, 名古屋, 2013年7月20日, オーガナイザー 北川大樹, 豊島文子,
- \*シリア・中心体系が織りなす生体システムのダイナミズム主催, BMB2015, 神戸, 2015年12月4日, オーガナイザー 北川大樹, 大森 義裕,
- \*Biology of Cilia, 日本分子生物学会シンポジウム、横浜市(横浜国際会議場) 2016.12.1-4
- \*第5回繊毛研究会主催 (平成26年5月、浜松)
- \*第119回日本解剖学会総会・全国学術集会シンポジウム「多様な広がりを見せる繊毛研究」主催 (平成26年3月、下野)
- \*日本生物物理学会第53回年会シンポジウム「べん毛・繊毛が織りなす多様な生命現象に挑む～分子から個体まで～」主催 (平成27年9月、金沢)
- \*The CDB Symposium 2017, Towards Understanding Human Development, Heredity, and Evolution 2017.03.27 - 03.29 (2017)
- \*The 28th CDB Meeting, Cilia and Centrosomes: Current Advances and Future Directions 神戸. 2016.11.27 - 11.29 オーガナイザー吉川 雅英 (東京大学) 松崎文雄
- \*日本分子生物学会シンポジウム Fumio Matsuzaki: Cortical expansion during the development of mammalian complex brains 2015 神戸市(神戸国際会議場) 2015.12.1-4
- \*米国細胞生物学会 minisymposium. Neural Development. the 2014 ASCB meeting Philadelphia, USA(Pennsylvania Convention Center) 2014.12.6-10 オーガナイザー Wieland Huttner, 松崎文雄
- \*The 25th CDB Meeting, Cilia and Centrosomes, from Fertilization to Cancer、神戸. 2013.06.17 18 オーガナイザー 濱田博司、松崎文雄
- \*ワークショップ 異種間比較が解き明かす生命システムの普遍性と多様性 2015年12月1日 神戸ポートピアホテル 神戸市
- \*第一回イベリアトゲイモリ研究集会 林 利憲、竹内 隆 2014年12月4-5日 鳥取大学医学部、米子市

### 図書

なし

### 産業財産権

出願

なし.

取得

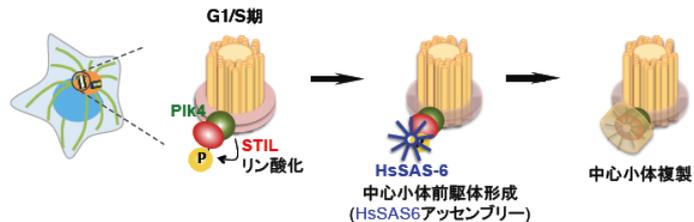
なし

## 研究成果

**A01 計画(月田班)** 基底小体アペンデージの2つの構造体である Transition Fiber (TF) と Basal Foot (BF)、及び、中心小体アペンデージに付属する Subdistal Appendage (SA) と Distal Appendage (DA) の構造構築と機能を示すことができた(*JCB*, 2013)。基底小体の足場となる、上皮細胞アピカル微小管格子について、タイトジャンクション (TJ) を起点とした新しい構造体として、Cingulin/微小管/TJ 複合体を同定することができた (*JCB*, 2013)。さらに、このアピカル細胞骨格を超高圧電子顕微鏡トモグラフィーを用いて解析し、アクチン、微小管、中間径繊維からなるアピカル3層構造と、マウス気管における基底小体との関連を発生発生の時期を追って明瞭に示した (*Sci. Rep.* 2017)。Appendage の構成タンパク質については、細胞生物学やデータベース解析をもとに進め、現在、Subdistal Appendage と細胞周期相関についての記載を含めて論文として投稿準備段階にある。

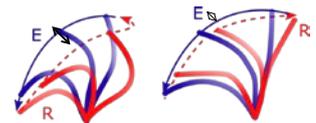
**A01 計画(北川班)** ヒト培養細胞における中心小体構築の初期過程、特にカートホイール構造の形成過程の解析に焦点をおき、その分子機構の一端を明らかにした (*Nat Commun*, 2014; (2015) *EMBO J*, 2015; *MBoC*, 2016; *MBoC*, 2017)。

さらに、新たに形成される中心小体のコピー数が一つに制限される保証機構についても新たなモデルを提示した (*Nat Commun*, 2014)。また、複製された中心小体が成熟し、微小管重合能を獲得する分子機構についても明らかにした (*Nat Commun*, 2016)。



### A01 公募(政池班)

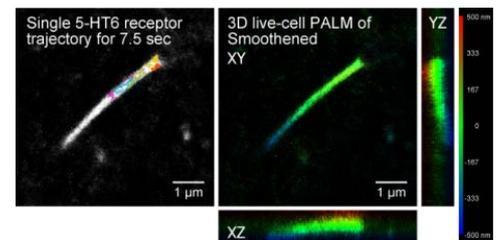
気管繊毛のポリグルタミン酸化酵素をノックアウトしたマウスの運動様式について、繊毛の高さ方向の軌道と速度の非対称性が失われたことを明らかにした。(池上班との共同研究)。



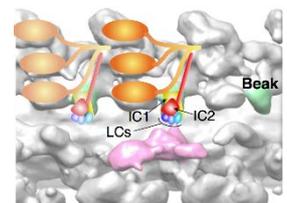
### A01 公募(水野班)

増殖抑制刺激依存的な一次繊毛形成機構について解析し、Hippo 経路の下流キナーゼ NDR2 が、Rabin8 のリン酸化を介して、繊毛小胞の形成に関与すること、NDR2 のペルオキシソームへの局在が繊毛形成に関与することを示した。また、一次繊毛形成に必須のキナーゼ TTBK2 は、Cep164 との結合を介して母中心小体に局在し、CP110 の除去に関与することを示した。

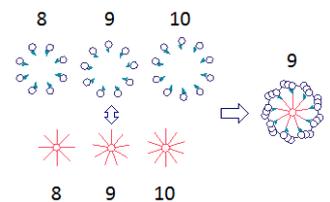
**A01 公募(藤原班)** 次シリア全体の超解像観察と、一次シリア上での1分子運動の同時観察を可能にする顕微鏡システムを構築した。基底部の位置を3次元超解像観察しながら、一次シリア局在分子を1分子追跡したところ、基底部で1秒以下の短時間の停留を頻繁に示したが、拡散で外部に出ていくことはなかった。また、小胞輸送が活発に起こり、セロトニン受容体を含む小胞が一次シリア外部の基底部近傍に蓄積していることが明らかになった。



**A01 公募(原田班)** 細胞内のリサイクリングに重要といわれる Rab11a を小腸特異的に Rab11a を欠損するマウスを作製したところ、apical 面への輸送の異常が生じた。シリアは上皮細胞の apical 面に生えることからシリアの形成や伸長には Rab11a が必要な可能性が示唆された。



**A01 公募(小田班)** 外腕ダイニンの24 nm 周期構造は、外腕ダイニン自身が分子モノサシとして機能することで構築されることを示した (*J. Cell Sci.* 2016) また、外腕ダイニンの軽鎖 (LC) および中間鎖 (IC) が、ダイニン制御複合体と外腕ダイニンを結びつける構造を作ることを見出し、Beak と名付けた。 (*Mol. Biol. Cell* 2016)

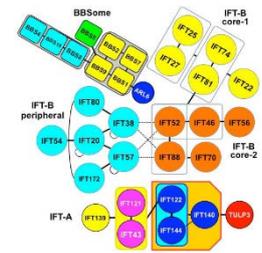


**A01 公募(広野班)** シリア軸系と基底小体の微小管数が必ず9本に限定される機構を、クラミドモナス突然変異株を用いて解析した結果、カートホイールと、それとは独立に集合した微小管の間の動的な相互作用が決定的な役割を果たすことを明らかにした (*Nat. Cell Biol.* 2016)。

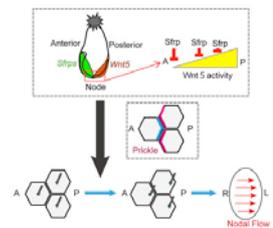
**A01 公募(若林班)** クラミドモナスが示す走光性の正負切り替えの分子機構を調べるため、この過程の異常な変異株2種の遺伝子を同定した。うち1つは色素産生経路の遺伝子であった。光受容体を裏打ちする

色素がなくなると、細胞が凸レンズとして振る舞い、光源方向を誤認することがわかった(PNAS 2016)。A01 公募 (荒川班) オートファジーに必須の遺伝子である atg5 を欠失した細胞では、中心体数が増加していた。この原因は、中心体タンパク質の一つである CEP63 がオートファジーによって処理されることが出来なくなったためであることがわかった(Nature Commun2016)。

A01 公募 (中山班) タンパク質間相互作用解析法 (VIP アッセイ) を活用して、繊毛内タンパク質輸送複合体の IFT-A、IFT-B、および BBSome の構築様式を解明した。さらに、CRISPR/Cas9 システムを独自に改良して、ノックアウト細胞の高効率作製法を確立し、これらの複合体の各サブユニットの機能を解明した。

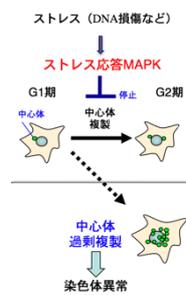


A02 計画 (濱田班) (1) 回転運動するノード繊毛は胚の後方に倒れているが、それは繊毛を持つ細胞が前後に沿った Wnt5a の濃度勾配を感知し、基底小体が細胞の後方へ位置するためであった (Dev Cell 2017: 右図)。 (2) ノード繊毛が運動性を獲得するために必要な因子を複数同定した (GTC 2016; Am. J. Hum. Genet. 2016; JCB 2014)。 (3) ノード繊毛が回転運動するのは、ノード繊毛が radial spoke という構造を持たないことが一因であった (Dev Cell 2015)。 (4) ノードにおける左向きの水流は、ノード脇にある不動繊毛が Pkd2 (Ca<sup>2+</sup> チャンネル) を介して感知していることが判った (Science 2012)。



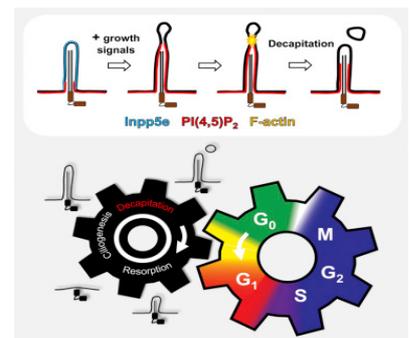
A02 計画 (稲垣班) ユビキチンシステムによる一次シリア制御機構の解明

一次シリア形成抑制因子であるトリコプレインが、ユビキチン化酵素 CLR3KCTD17 によりタンパク質分解されることが、シリア軸系の伸長に必要不可欠であることを明らかにした (Nat. Commun. 2014) (松崎班との共同研究)。また、上記経路を制御する因子として Ndel1 を新たに同定した (J. Cell Biol. 2016) (広常班との共同研究)。



A02 公募 (武川班) 中心体複製の鍵分子 PLK4 が、中心体に集積する分子機構の解析を行い、特定のモーター蛋白質が PLK4 の中心体輸送に必要であることを見出した。また、DNA 損傷などのストレス環境下では中心体の複製も停止することを見出し、そのメカニズムとして、ストレス環境下で活性化されたストレス応答 MAPK が中心体の複製を停止させる機能を有しており、中心体過剰複製の阻止と染色体安定性の保持に重要な役割を果たしていることを見出した。

A02 公募 (花房班) ROCO ファミリーキナーゼ LRRK1 が中心体構成因子 CDK5RAP2 を介して、中心体からの星状体微小管形成に機能し、細胞の分裂軸を制御することを明らかにした。 (Nat. Cell Biol. 2015) また、ROCO ファミリーキナーゼ LRRK1 が微小管プラス端結合因子 CLIP-170 を介してダイニン依存的な小胞輸送を制御することを明らかにした。 (J. Cell Sci. 2015)



A02 公募 (池上班) 細胞分裂を促す血清刺激により一次シリア先端が切断され細胞外に放出されることを実証し、一次シリア先端の切断・放出に寄与する分子として PI(4,5)P<sub>2</sub>、アクチンを同定した。さらに、一次シリアから放出される分子群を同定し、シリア関連タンパク質の一部が選択的に放出されること、およびシリア関連タンパク質以外にもタンパク質分解酵素や免疫関連タンパク質が放出されることを見出した。また、一次シリア先端の切断が細胞分裂の開始シグナルとなることを実証した (Cell, 2017)。

A02 公募 (大森義裕班) 毛キナーゼ ICK が鞭毛内輸送 IFT の繊毛先端部における折り返し機構に重要であることを見出し、ICK が内耳有毛細胞の平面内極性確立に必須であることを明らかにした (EMBO J. 2015)。繊毛型 GPCR を新たに見出し、NPY2R が発現する神経細胞の繊毛がマウスの体重制御に重要であることを明らかにした。ゼブラフィッシュ網膜変性変異体の解析より視細胞において繊毛内のオプシン輸送効率の制御に IFT122 が必須であることを示した。

IFT122は視細胞繊毛におけるオプシンの輸送効率を制御する



A02 公募 (西田満班) 一次繊毛を消失したがん細胞において、IFT20 はゴルジ体からの微小管形成を制御することでゴルジ体を浸潤方向に極性化させ、その結果、浸潤突起形成を促進させることを明らかにした (Sci Rep 2017)。

## A02 公募 (宮本班)

天的コレステロール欠乏症の研究から、コレステロールは繊毛構造の形成には必要ではないが、繊毛のシグナル応答能に必須であることを明らかにした。また、中心体に局在する Hippo 経路の中心分子 YAP がアクチン骨格制御を介して重力に拮抗した形態形成を担うことを報告した (*Nature* 2015)。

**A02 公募 (大森俊宏班)** 繊毛軸糸の構造力学と周囲流体の運動とを連成する計算力学モデルの構築に成功した。これにより繊毛が作る流れの強さや精子の遊泳などを定量的に見積もることが可能となった。特に、ノード内の流れを感知するとされる不動繊毛に働く膜面張力を解析したところ、繊毛運動が作り出す流れ場によって、 $10^{-1}$   $\mu\text{N}/\text{m}$  程度の張力が発生しているを見積もられた。

**A03 計画 (松崎班)** 小頭症原因遺伝子 ASPM 変異マウスにこの LGN 変異を導入した

2重変異体を作成し、OSVZ 様幹細胞を作り出すと、細胞死が劇的に増加し、脳のサイズが40%程度減少した。さらに、apical 構造を失い basal 線維のみをもつ幹細胞の染色体分離は、上皮構造を維持した幹細胞に比べて、ASPM 変異に対してより強い異常を示し、細胞死に至ることが判明した。そこで、複雑脳を形成する肉食類のフェレットをモデルとして、CRIPPR/Cas9 法で ASPM 変異を導入したところ、ASPM 変異を持つ発生段階の幹細胞クローンでは、確かに OSVZ 幹細胞の割合が減少していることが判明した。すなわち、中心体をよびその周辺の構造の安定性は、染色体分配の正確さに寄与しており、小頭症変異では安定な染色体分配が維持できないために、幹細胞の維持に困難を来し神経細胞数が大きく減少することを示唆している。現在この研究成果に関する論文を準備中であり、今年度中に出版する予定である。

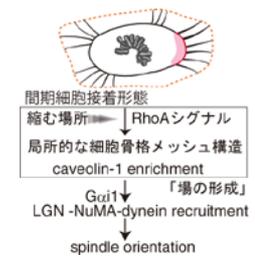
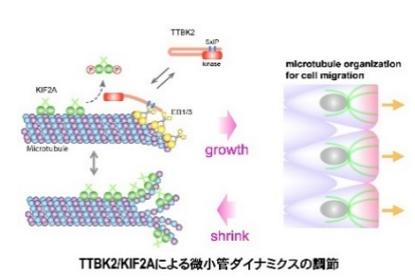
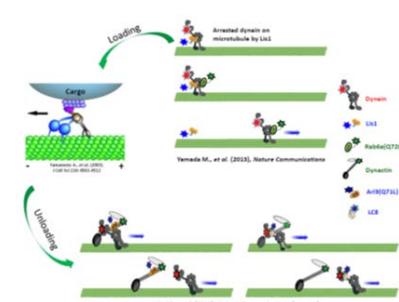
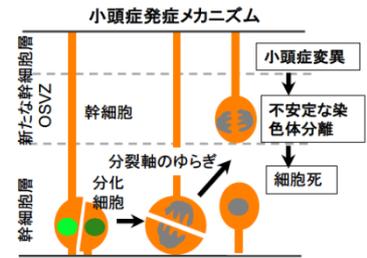
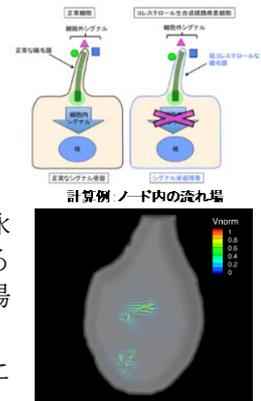
**A03 計画 (広常班)** 1) 滑脳症-小脳症の原因遺伝子・カタニン P80 と相互作用するタンパク質として、

NuMA を同定した。さらにカタニン P80 は細胞質ダイニンを微小管上にアイドリング状態にする機能があり、NuMA とともに神経幹細胞分裂時や神経細胞遊走における微小管ネットワークの中心体への集積を制御する機能があることを証明した。(2) 細胞質ダイニンがカーゴと結合し、モータータンパク質として活性化される際に低分子量 G タンパク質・Rab6 が必要で、Rab6 が細胞質ダイニン複合体から LIS1 を遊離させること証明した。さらに細胞質ダイニンが中心体周辺でカーゴを遊離させるメカニズムとして低分子量 G タンパク質の Ar13 と LC8 が強制的に働くことを明らかにした。(3) LIS1 は微小管-細胞質ダイニン-LIS1 の複合体を形成させ、細胞質ダイニンをアイドリング状態にする。この複合体がキネシンによって微小管のプラス端に運ばれることを証明した。

**A03 公募 (貝淵班)** 自のキナーゼ基質スクリーニング法を開発して、細胞極性・中心体関連キナーゼの基質探索を行い、多数の基質候補蛋白質を得た。シリア関連キナーゼ TTBK2 の新規基質蛋白質として KIF2A を同定し、TTBK2 が KIF2A をリン酸化することで KIF2A の微小管脱重合活性を抑制していること、TTBK2 による KIF2A の機能調節が細胞内の微小管動態に重要な役割を果たしていることを見出した。

**A03 公募 (松村班)** 間期の細胞形態情報に基づき分裂期の caveolin 1 が局所での場を形成し、インデグリン-RhoA-G $\alpha$ 11/LGN/NuMA 紡錘体軸の方向を制御する (*Nature Commun.* 2016)。Caveolin1 の濃縮する細胞膜の場の裏打ちに中間径フィラメント・ケラチンのメッシュ構造が存在し、場の形成に必須であることが明らかとなった。

**A03 公募 (竹内班)** 哺乳類心筋細胞は生後、増殖を停止し、その状態が維持される。この増殖停止に中心体の動態がどのように関与するかを解析した結果、生後心筋細胞の中心体は心筋細胞の成熟に貢献する結果、同細胞の増殖能を喪失する一因となることが考えられた。



A03 公募（廣田班）リーリン受容体 ApoER2 と VLDLR の発現と機能を調べた結果、両受容体が時空間的に異なる発現をし、ApoER2 が中間帯でのニューロン移動・中心体局在・表層付近での移動停止に必要であることを明らかにした。

