

I 分裂準備帯の形成機構と機能の解析

Analyses of development and function of preprophase bands

峰雪芳宣
Mineyuki, Y.

分裂準備帯(preprophase band)は、高等植物体細胞分裂の分裂面挿入位置決定に関与する微小管でできた装置である。この装置はG2期に出現し、前期に完成するが、核膜崩壊前後に消失する。しかし、この装置が存在した位置になんらかの位置情報が残され、細胞分裂の最後で、確実に細胞板はこの位置に向かって伸長する。我々は、どのようにして微小管が将来の分裂面の位置に分裂準備帯として並ぶのか、分裂準備帯が消失した後に残るメモリーは何か、また、そのメモリーの蓄積機構は何か、を明らかにすることを目的として研究を行っている。今年度は、分裂準備帯におけるメモリー構築機構と電子線トモグラフィ法で微小管端の形状解析を行った。

II 植物の細胞分裂と細胞質分裂に関与するナノマシンの解析

Analyses of nano-machines involved in plant cell division and cytokinesis

峰雪芳宣・山内大輔・中井朋則・玉置大介
Mineyuki, Y., Yamauchi, D., Nakai, T., Tamaoki, D.

生命体を構成する生体分子は集合してナノマシン、あるいはより高次なナノシステムを形成し、生命活動を行っている。植物の細胞質分裂に関与する微小管・アクチン繊維・膜系からなるナノマシン・ナノシステムの構築と制御機構を様々な顕微鏡を使って解析している。特に、国内外の幾つかの研究室と共同で、加圧凍結・2軸電子線トモグラフィ法を使ったナノマシンの~7nmレベルでの解析を行っている。また、中心体なしで微小管の構築が行われる植物独特の微小管構築機構を明らかにするために、シャジク藻類コロケータの微小管システムについて検討した。

III 局所・大局ライブイメージング顕微鏡(GLIM)システムの開発

Development of Global-Local Live Imaging Microscope (GLIM) system

峰雪芳宣・玉置大介
Mineyuki, Y., Tamaoki, D.

対物レンズの交換なしに、高倍率狭視野(局所)での蛍光ラベルした分子の挙動変化と、広視野(大局)で細胞全体の構造変化を同時並行で記録することで、細胞の局所で起こっている分子の挙動と、大局での状態変化との関係を記録、解析できる局所・大局ライブイメージング顕微鏡(Global-Local Live Imaging Microscope: GLIM)システムを完成し、実際に運転を開始した。

IV 種子内部構造の X 線 CT による解析

Analysis of internal structure of seeds using X-ray computed tomography

山内大輔・峰雪芳宣・玉置大介
Yamauchi, D., Mineyuki, Y., Tamaoki, D.

種子は乾燥していて休眠状態にあり、吸水すると、その中の胚は生命活動を再開して発芽する。その過程に起こる種子中での構造変化を観察する時に、種皮が種子の周りを覆っており、支障となっている。しかし、X 線 CT 技術を用いれば、固定や切片作製をしなくても種子内部構造を観察可能である。この技術を用いて細胞の並びと細胞間隙の発達を調べる目的で SPring-8 の BL20B2 および BL20XU で X 線 CT 撮影を行い、それらの画像データの分析を行った。

V 種子発芽時における遺伝子発現機構の解析

Analysis of gene expression during seed germination

山内大輔・中井朋則
Yamauchi, D., Nakai, T.

種子貯蔵物質は、発芽時に分解され、芽や根の成長に利用される。この分解に関わる加水分解酵素の遺伝子発現は、植物ホルモンであるジベレリンに誘導される。イネ種子プロテアーゼ遺伝子のジベレリン応答発現に関わる転写因子の複合体形成について解析を進めた。

VI シダの前葉体における造精器形成機構の解析

Analysis of formation of antheridium in prothallia of fern

山内大輔・峰雪芳宣
Yamauchi, D., Mineyuki, Y.

シダの前葉体における造精器形成の誘導が、カニクサではジベレリンによって行われていることがよく知られているが、その機構についてはよくわかっていない。そこで、カニクサよりジベレリン受容体やその結合タンパク質である DELLA タンパク質をコードした cDNA を単離した。さらに、これらの遺伝子の構造について、*an-1* というジベレリンがなくても造精器を形成する突然変異体の培養細胞と前葉体との比較を行った。

VII 細菌由来セルロースの合成機構

Mechanism of cellulose production from bacteria

中井朋則・峰雪芳宣
Nakai, T., Mineyuki, Y.

酢酸菌 *Gluconacetobacter xylinus* が生産するセルロースは、他の細菌が合成するセルロースと比較して、高等植物のセルロースと結晶構造が近く、その合成機構の解明は植物由来セルロースの合成機構の解明にも直結している。特に、セルロース分解酵素であるセルラーゼが植物でも細菌でもセルロースの合成に深く関与していることが知られている。このセルラーゼの機能を調べるにあたり、セルラーゼ遺伝子破壊株の合成するフィブリルの形態を観察する必要がある。その手始めとして、野生株の合成するセルロースフィブリルについてクライオ電顕写真からトモグラム像を得た。

VIII 微細形態科学研究装置共同利用ネットワーク運用

Service as a member of Network for Collaborative Use of Microscopy (CUMNET)

峰雪芳宣・中井朋則・玉置大介
Mineyuki, Y., Nakai, T., Tamaoki, D.

認定 NPO 法人総合画像研究支援が運営する微細形態科学研究装置共同利用ネットワーク (Network for Collaborative Use of Microscopy (CUMNET)) に、10 番目の研究機関として兵庫県立大学理学部書写生物イメージング室の名称で参加し、当研究室の GLIM 顕微鏡や電子顕微鏡関連装置を使った共同利用サービスの運用を開始した。

発表論文 List of Publications

- I-1 I. Karahara (富山大), L. A. Staehelin (コロラド大) and Y. Mineyuki: The role of endocytosis in the creation of the cortical division zone in plants, in *Molecular Regulation of Endocytosis*, (eds by B. Ceresa, InTech, Rijeka, Croatia), 41-60 (2012)
- I-2 Y. Mineyuki: Analysis of morphogenetic machines on plant cell cortex, *The Annual Review Conference for the Fiscal Year of 2011 (Kamigori)*, 2012
- I-3 Y. Mineyuki, Y. Fujimoto, Y. Sakurai, M. Takeuchi, N. Kajimura (大阪大), K. Misaki (理研 CDB), S. Yonemura (理研 CDB), L.A. Staehelin (コロラド大) and I. Karahara (富山大): Electron tomographic analysis of plant microtubule dynamics, 「3D イメージングの最先端」生理研研究会電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用 (岡崎), 2011
- I-4 峰雪芳宣・唐原一郎 (富山大)・竹内美由紀: 電子線トモグラフィーによる細胞分裂面挿入予定位置の 3D 解析、植物電子顕微鏡若手ワークショップ 2011 (横浜)、2011
- I-5 峰雪芳宣・竹内美由紀・唐原一郎 (富山大): 電子線トモグラフィーで分かった微小管とアクチン繊維の関係、大阪大学超高压電子顕微鏡センター 医学・生物学系共同利用研究報告会, 2011
- I-6 竹内美由紀・峰雪芳宣: 電子線トモグラフィー法による分裂準備帯の観察、第 67 回日本顕微鏡学会シンポジウム植物の動的機能を種々の顕微鏡技法で探る (福岡)、2011
- I-7 竹内美由紀・唐原一郎 (富山大)・梶村直子 (大阪大)・美崎佳寿代 (理研 CDB)・米村重信 (理研 CDB)・L. A. Staehelin (コロラド大)・峰雪芳宣: 電子線トモグラフィー法による分裂準備帯形成過程の観察・日本植物形態学会第 23 回大会 (東京)、2011
- II-1 M. Terauchi (北海道大), C. Nagasato (北海道大), N. Kajimura (大阪大), Y. Mineyuki, K. Okuda (高知大), C. Katsaros (アテネ大) and T. Motomura (北海道大): Ultrastructural study of plasmodesmata in the brown alga *Dictyota dichotoma* (Dictyotales, Phaeophyceae). *Planta*, DOI:10.1007/s00425-012-1656-4(2012)
- II-2 峰雪芳宣: 3D イメージングによる植物細胞の枠組み構築機構の解析、DC ゼミナール(大阪)、2011
- II-3 山内大輔・堀尾哲也 (カンザス大)・宮本裕子・紅 朋浩 (名古屋大)・玉置大介・中井朋則・嶋村正樹 (広島大)・峰雪芳宣: 被子植物特異的な γ -チューブリンアミノ酸残基の機能、2012 年生

体運動研究合同班会議（つくば）、2012

- II-4 堤 弘次（浜松医大）・久保亜紀子（三菱生命科学研究所）・高木 博（三菱生命科学研究所）・赤津裕康（福祉村病院）・紺野 在（浜松医大）・宮本裕子・矢尾育子（福祉村病院）・江川 潔（浜松医大）・佐藤尚武（三菱生命科学研究所）・久保亮治（慶応大）・安武かおり（三菱生命科学研究所）・諸根信弘（国立精神・神経医療研究センター）・山内大輔・堀尾哲也（カンサス大）・木村芳滋（浜松医大）・宮川 剛（藤田保健衛生大）・宮島裕明（浜松医大）・福田敦夫（浜松医大）・塚田秀夫（浜松ホトニクス）・吉田眞理（愛知医科大）（大阪大）・峰雪芳宣・小西慶幸（浜松医大）・池上浩司（浜松医大）・月田早智子（大阪大）・瀬藤光利（浜松医大・三菱生命科学研究所）：多系統萎縮症患者脳では γ -tubulin が減少しており、人工的 γ -tubulin 減少モデル動物は多系統萎縮症様の神経変性と運動失調を発症する、第54回日本神経化学会大会（加賀）、2011
- II-5 C. Nagasato（北海道大）、N. Kajimura（大阪大）、M. Terauchi（北海道大）、Y. Mineyuki and T. Motomura（北海道大）：Three-dimensional analysis of transient membrane compartment during cytokinesis in brown algae, *Silvetia babingtonii* (FUCALES, PHAEOPHYCEAE) by electron tomography 14th European Phycological Congress (EPC 5) (Rhodos Island, Greece), 2011
- III-1 玉置大介・峰雪芳宣: Global-Local Live Imaging Microscope (GLIM) による細胞の局所での事象と細胞全体での事象の並行観察. *Plant Morphology*, 24, 13-17 (2012)
- III-2 峰雪芳宣・玉置大介: Global-Local Live Imaging Microscope (GLIM)による細胞の局所での事象と細胞全体での事象の並行観察、シンポジウム”イメージングおよびその関連技術と植物学” 日本植物学会第75回東京大会（東京）、2011
- III-3 D. Tamaoki, K. Umamo（三谷商事（株））、K. Ishiwata（ニコンインステック（株）） and Y. Mineyuki: Global-Local Live Imaging Microscope (GLIM) system, 「3Dイメージングの最先端」生理研研究会電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用（岡崎）、2011
- IV-1 D. Yamauchi, D. Tamaoki, M. Hayami, K. Uesugi（高輝度光科学研究センター）、A. Takeuchi（高輝度光科学研究センター）、Y. Suzuki（高輝度光科学研究センター）、I. Karahara（富山大）、Y. Mineyuki: Extraction of Tissue and Cell Outlines in Arabidopsis seeds using Refraction Contrast X-ray CT at SPring-8. International workshop on X-ray and neutron phase imaging with grafting. (Tokyo), 2012
- IV-2 I. Karahara（富山大）、K. Umemura（富山大）、Y. Soga（富山大）、Y. Akai（富山大）、T. Bando（富山大）、Y. Ito（富山大）、D. Tamaoki, K. Uesugi（高輝度光科学研究センター）、J. Abe（東京大）、D. Yamauchi and Y. Mineyuki: Demonstration of osmotically-dependent promotion of aerenchyma formation at different levels in the primary roots of rice using “sandwich” method and X-ray computed tomography. *Annals of Botany*, 110, 503-509 (2012)
- IV-3 峰雪芳宣: トモグラフィと GLIM を使った植物細胞構築機構の解析、日本顕微鏡学会 平成 23 年度関西支部講演会（名古屋）、2011
- IV-4 I. Karahara（富山大）、T. Bando（富山大）、D. Tamaoki, D. Yamauchi, K. Uesugi（高輝度光科学研究センター）、Y. Mineyuki: Promotion of lysigenous aerenchyma formation in rice roots under osmotic stress -Visualization using X-ray Computed Tomography-. 7th International Conference on Structure and Function of Roots (Slovakia), 2011
- IV-5 T. Bando（富山大）、I. Karahara（富山大）、D. Tamaoki, D. Yamauchi, K. Uesugi（高輝度光科学研究センター）、Y. Mineyuki: Non-destructive imaging of aerenchyma development in the primary root of rice using X-ray Computed Tomography - A trial for time-course observation -. The JSRR's 20th Anniversary Symposium The Latest Frontiers of Root Research in Asia (Tokyo), 2011
- IV-6 須藤宇道（富山大）・唐原一郎（富山大）・山口 駿（富山大）・玉置大介・矢野幸子（宇宙航空

研究開発機構)・谷垣文章(宇宙航空研究開発機構)・島津 徹(日本宇宙フォーラム)・福井啓二(日本宇宙フォーラム)・笠原春夫(有人宇宙システム株式会社)・梶田大輔(有人宇宙システム株式会社)・山内大輔・竹内美由紀・峰雪芳宣・上杉健太郎(高輝度光科学研究センター)・笠原宏一(東海大)・山田晃弘(東海大)・西谷和彦(東北大)・保尊隆享(大阪市立大)・西内 巧(金沢大)・神阪盛一郎(富山大)：**Space Seed** - 微小重力環境下におけるシロイヌナズナの生殖成長、第 27 回宇宙利用シンポジウム(相模原)、2011

- IV-7 唐原一郎(富山大)・須藤宇道(富山大)・山口 駿(富山大)・玉置大介・矢野幸子(宇宙航空研究開発機構)・谷垣文章(宇宙航空研究開発機構)・島津 徹(日本宇宙フォーラム)・福井啓二(日本宇宙フォーラム)・笠原春夫(有人宇宙システム株式会社)・梶田大輔(有人宇宙システム株式会社)・山内大輔・竹内美由紀・峰雪芳宣・上杉健太郎(高輝度光科学研究センター)・笠原宏一(東海大)・山田晃弘(東京大)・西谷和彦(東北大)・保尊隆享(大阪市立大)・西内 巧(金沢大)・神阪盛一郎(富山大)：微小重力環境下におけるシロイヌナズナの栄養および生殖成長、日本植物学会第 75 回大会(東京)、2011
- VI-1 田中克尚・山内大輔・宮村新一(筑波大)・菅井道三(富山大)・峰雪芳宣：ジベレリンによるカニクサ造精器形成誘導機構の解析。日本植物形態学会第 23 回大会(東京)、2011
- VI-2 山内大輔・田中克尚・宮村新一(筑波大)・菅井道三(富山大)・峰雪芳宣：カニクサのジベレリン応答関連遺伝子の構造解析。日本植物学会第 75 回大会(東京)、2011
- VIII-1 峰雪芳宣・大隅正子(IIRS)：特集 I 「イメージングおよびその関連技術と植物学」 はじめに。Plant Morphology, 24, 1-3 (2012)
- VIII-2 峰雪芳宣・大隅正子(IIRS)：イメージングおよびその関連技術と植物学、シンポジウム “イメージングおよびその関連技術と植物学” 日本植物学会第 75 回東京大会(東京)、2011
- VIII-3 鈴木季直(神奈川大)・峰雪芳宣：植物の動的機能を種々の顕微鏡技法で探る、第 67 回日本顕微鏡学会シンポジウムセッション(福岡)、2011
- VIII-4 峰雪芳宣：書写キャンパスでのピコバイオロジーを目的とした電子顕微鏡教育の充実、平成 23 年度兵庫県立大学研究発表会(神戸)、2012

大学院生命理学研究科

博士後期課程

藪内隆俊：植物の細胞分裂面の位置メモリーに関する分子の研究

博士前期課程

田中克尚：カニクサ造精器形成機構の解析

田中卓樹：微生物におけるセルロース合成に関する植物セルラーゼ遺伝子発現の解析

科学研究費補助金等

1 日本学術振興会科学研究費補助金(平成 22 年度～23 年度) 挑戦的萌芽研究

研究課題 Planer Cell Polarity 研究のための実験系確立の試み

研究代表者 峰雪芳宣

研究分担者 山内大輔

2 ひめしん研究開発支援助成金(平成 23 年度)

研究課題 産業廃棄物を活用した酒造好適米の収量増加に向けた実証研究

研究分担者 山内大輔・峰雪芳宣