

## 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付随構造の解析を行った。

## 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、あるいはより高次の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、陸上植物のγチューブリンの構造について検討した。

## 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)システムを開発し、その応用を試みた。

## 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・玉置大介・峰雪芳宣  
Yamauchi, D., Tamaoki, D., Mineyuki, Y.

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。SPring-8 の BL20B2 および BL20XU で X 線 CT 撮影を行い、細胞の並びと細胞間隙の発達を調べた。

## 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、それらの機能を解析した。それと並行して、ジベレリンがなくても造精器を形成する突然変異体を得て、その解析を進めた。

## 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、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を行った。また、外部講師を招いてウルトラマイクロトームの講習会、電顕なんでも相談会を開催した。

### 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 唐原一郎 (富山大)・峰雪芳宣: 加圧凍結法を用いた植物細胞の分裂準備帯の微細構造解析、日本植物学会第 76 回大会 シンポジウム 「加圧凍結法が切り拓く世界」 (姫路)、2012
- II-1 I. Karahara (富山大), Y. Mineyuki: A brief introductory guide to the ultrastructural analyses of plant tissues by using high-pressure freezing techniques, *Plant Morphology*, 25, 15-20 (2013)
- II-2 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*, 236, 1013-1026 (2012)
- 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 D. Tamaoki, T. Saruwatari, T. Nakai and Y. Mineyuki: Parallel detection of changes in cytoplasmic dynamics at the cortical division site and cell division processes in a cell using global-local live imaging microscope (GLIM) system, Joint Meeting of The 45th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists & The 64th Annual Meeting of the Japan Society for Cell Biology (神戸), 2012
- III-3 玉置大介・峰雪芳宣: Global-Local Live Imaging Microscope (GLIM) システムを用いた細胞分裂位置における構造および分子のダイナミクスと細胞全体の並行観察、日本植物形態学会第 24 回総会・大会 (姫路)、2012
- III-4 池谷仁里・玉置大介・菓子野康浩・園部誠司・新免輝男・峰雪芳宣: 顕微鏡システム GLIM を用いたアオミドロの接合子形成の解析、2013 年生体運動合同班会議 (東広島)、2013
- III-5 池谷仁里・石田一馬・玉置大介・岩田和佳・中瀬琢登・堀川千尋・菓子野康浩・園部誠司・峰雪

- 芳宣・新免輝男：アオミドロの接合、平成 24 年度近畿植物学会講演会（奈良）、2012
- III-6 池谷仁里・玉置大介・岩田和佳・中瀬琢登・菓子野康浩・園部誠司・峰雪芳宣・新免輝男：顕微鏡システム GLIM を用いたアオミドロの接合子形成機構の解析。日本植物学会第 76 回大会（姫路）、2012
- IV-1 D. Yamauchi, D. Tamaoki, M. Hayami, M. Takeuchi, I. Karahara (富山大), M. Sato (理研・植物センター), K. Toyooka (理研・植物センター), H. Nishioka, Y. Terada (高輝度光科学研究センター), K. Uesugi (高輝度光科学研究センター), H. Takano, Y. Kagoshima and Y. Mineyuki: Micro-CT observations of the 3D distribution of calcium oxalate crystals in cotyledons during maturation and germination in *Lotus miyakojimae* seeds, *Microscopy*, 62, 353-361 (2013)
- 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 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) and Y. Mineyuki: Extracting tissue and cell outlines of Arabidopsis seeds using refraction contrast X-ray CT at the SPring-8 facility, *AIP Conf. Proc.*, 1466 (eds by A. Momose, W. Yashiro), 237-242 (2012)
- IV-4 山内大輔・福山愛女・玉置大介・佐藤繭子 (理研・植物センター)・豊岡公德 (理研・植物センター)・上杉健太郎 (高輝度光科学研究センター)・唐原一郎 (富山大)・峰雪芳宣: X 線マイクロ CT によるミヤコグサ子葉における細胞間隙形成の 3D 観察、第 54 回日本植物生理学会年会、岡山大学 (岡山)、2013
- IV-5 栗林剛正 (富山大)・唐原一郎 (富山大)・玉置大介・上杉健太郎 (高輝度光科学研究センター)・竹内晃久 (高輝度光科学研究センター)・鈴木芳生 (高輝度光科学研究センター)・山内大輔・峰雪芳宣: X 線コンピュータトモグラフィーによるシロイヌナズナの胚の非侵襲観察、日本植物形態学会第 24 回総会・大会 (姫路)、2012
- IV-6 峰雪芳宣・山内大輔・玉置大介・上杉健太郎 (高輝度光科学研究センター)・竹内晃久 (高輝度光科学研究センター)・鈴木芳生 (高輝度光科学研究センター)・唐原一郎 (富山大) : X 線 CT を使ったシロイヌナズナ種子の細胞配列解析方法の検討 (An approach to analyze cellular arrangements in *Arabidopsis* seeds using X-ray CT)、日本顕微鏡学会第 68 回学術講演会 (つくば)、2012
- IV-7 唐原一郎 (富山大)・矢代宇視 (富山大)・須藤宇道 (富山大)・栗林剛正 (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)・嶋津 徹 (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)・笠原宏一 (東海大)・曾我康一 (大阪市立大)・保尊隆享 (大阪市立大)・上杉健太郎 (高輝度光科学研究センター)・竹内晃久 (高輝度光科学研究センター)・鈴木芳生 (高輝度光科学研究センター)・山内大輔・峰雪芳宣・神阪盛一郎 (富山大) : 国際宇宙ステーション「きぼう」におけるシロイヌナズナの生活環境・生殖成長に関する解析、第 26 回日本宇宙生物学会 (徳島)、2012
- VII-1 T. Nakai, Y. Sugano (東工大), M. Shoda (東工大), H. Sakakibara (未来 ICT 研究所), K. Oiwa (未来 ICT 研究所), S. Tuzi, T. Imai (京都大), J. Sugiyama (京都大), M. Takeuchi, D. Yamauchi and Y. Mineyuki: Formation of highly twisted ribbons in a carboxymethylcellulase gene-disrupted strain of a cellulose-producing bacterium, *Journal of Bacteriology*, 195, 958-964 (2013)
- 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：植物の形と 3D イメージング ～マイクロ・ナノ CT で種子・実生の細胞幾何と細胞構築ナノマシンに迫る～、中央会セミナー（神戸）、2012
- VIII-3 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、第 46 回生体制御学セミナー（さいたま）、2012
- VIII-4 峰雪芳宣：植物の 3D イメージング - 種子からナノマシンまで - 、兵庫県立大学シンポジウム(姫路)、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

## 科学研究費補助金等

- 1 平成 24 年度兵庫県立大学特別教育研究助成金（一般研究）
- |       |                      |
|-------|----------------------|
| 研究課題  | 植物の細胞構築機構の 3D 解析法の検討 |
| 研究代表者 | 峰雪芳宣                 |