

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・山内大輔・中井朋則
Mineyuki, Y., Yamauchi, D., Nakai, T.

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分子と微小管との関連について解析を行った。

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
Mineyuki, Y., Yamauchi, D., Nakai, T.

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、陸上植物のγチューブリンの構造について検討した。

III 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
Yamauchi, 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。

IV 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。

V 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。

VI 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。

VII 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
Mineyuki, Y., Nakai, T.

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。

発表論文 List of Publications

- I-1 I. Karahara (富山大) and 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)
- I-2 T. Yabuuchi, T. Nakai, D. Yamauchi, and Y. Mineyuki: Detection of the spatio-temporal difference between RanGAP and microtubule accumulation in the cortical division zone of onion root tip cells using a confocal microscope, 1st International Picobiology Institute Symposium “Picometer- to micrometer-level structural analyses for studies on functional mechanisms of proteins (佐用町), 2014
- I-3 藪内隆俊・中井朋則・山内大輔・峰雪芳宣：タマネギ根端分裂細胞の分裂準備帯形成過程における微小管帯と RanGAP 帯の比較、日本植物形態学会第 25 回大会（札幌市）、2013
- II-1 峰雪芳宣：電子線トモグラフィによる植物細胞の 3D 解析、3D で探る生命の形と機能（eds by 総合画像研究支援、大隅正子・牛木辰男・山科正平）、朝倉書店、51-59（2013）
- II-2 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): Electron tomographic analysis of cytokinesis in the brown alga *Silvetia babingtonii* (Fucales, Phaeophyceae), *Protoplasma*, on line 10.1007/s00709-014-0635-y (2014)
- II-3 M. Takeuchi (東京大), I. Karahara (富山大), N. Kajimura (大阪大), A. Takaoka (大阪大), K. Misaki (理研 CDB), S. Yonemura (理研 CDB), L. A. Staehelin (コロラド大), and Y. Mineyuki: Electron tomographic analysis of changes in actin-microtubule interactions during preprophase band formation, International symposium on the diversity of cell division system in eukaryotes (eds by H. Hosoya, M. Shimamura), Campus Innovation Center (2014)
- II-4 峰雪芳宣・唐原一郎（富山大）・紅朋浩（名古屋大）・竹内美由紀（東京大）・中井朋則・堀尾哲也（日本体育大）・栗林剛正（富山大）・村田和義（生理学研究所）：電子線トモグラフィを使った植物細胞表層のナノマシンの解析、NIPS Workshop 2013 "EM Functional Imaging for Biomedical Applications ~ Functional Imaging from Molecules to Cells~（岡崎市）、2013
- II-5 竹内美由紀（東京大）・栗林剛正（富山大）・唐原一郎（富山大）・村田和義（生理学研究所）・梶村直子（大阪大）・美崎佳寿代（理研 CDB）・米村重信（理研 CDB）・峰雪芳宣：電子線トモグラフィ法を使った分裂準備帯形成過程における微小管架橋構造の検出、NIPS Workshop 2013 "EM Functional Imaging for Biomedical Applications ~ Functional Imaging from Molecules to Cells~（岡崎市）、2013
- II-6 池谷仁里・石田一馬・堀川千尋・中瀬琢登・園部誠司・峰雪芳宣・新免輝男：アオミドロの接合過程と接合誘導物質、日本植物学会第 77 回大会（札幌市）、2013
- III-1 D. Yamauchi, D. Tamaoki, M. Hayami, M. Takeuchi (東京大), 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)
- III-2 A. Fukuda, T. Kuribayashi (富山大), I. Karahara (富山大), D. Yamauchi, D. Tamaoki, 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) and Y. Mineyuki: X-ray micro-CT analysis of 3D cell geometry in

hypocotyl-root axis of arabidopsis seeds, 1st International Picobiology Institute Symposium “Picometer- to micrometer-level structural analyses for studies on functional mechanisms of proteins (佐用町), 2014

- III-3 I. Karahara (富山大), T. Bando (富山大), Y. Matsuzawa (富山大), D. Tamaoki, J. Abe (東京大), D. Yamauchi, K. Uesugi (高輝度光科学研究センター) and Y. Mineyuki: Non-destructive imaging of aerenchyma development in the primary root of rice using X-ray Computed Tomography, 11th Conference of the International Society for Plant Anaerobiosis (ISPA) (Los Banos, Laguna, Philippines), 2013
- III-4 Y. Mineyuki, D. Tamaoki, T. Kuribayashi (富山大), 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 D. Yamauchi: マイクロ CT によるシロイヌナズナ種子の3次元細胞幾何解析、第65回日本細胞生物学会大会 (名古屋市)、2013
- III-5 峰雪芳宣・山内大輔・唐原一郎 (富山大) : 種子保存と育苗改良のためのマイクロ CT 細胞・空間ジオメトリー法の開発をめざして、SPRING-8 ワークショップ-SPRUC との連携 (佐用町)、2014
- III-6 峰雪芳宣 : SPRING-8 マイクロ CT を使ったミヤコグサ子葉の細胞間隙形成初期段階の3D解析、日本顕微鏡学会第69回学術講演会 (吹田市)、2013
- III-7 山内大輔・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 : ミヤコグサ子葉の通気組織形成初期過程は可逆的である、第34回種子生理生化学研究会 (箱根町)、2013
- III-8 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 : SPRING-8 マイクロ CT を使ったミヤコグサ子葉の細胞間隙形成初期段階の3D解析、日本顕微鏡学会第69回学術講演会 (吹田市)、2013
- III-9 福田安希・栗林剛正 (富山大) ・唐原一郎 (富山大) ・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) ・峰雪芳宣 : X線マイクロ CT によるシロイヌナズナ種子の細胞地図作製 - 幼根と胚軸の皮層細胞列の三次元解析 -、日本顕微鏡学会・関西支部「若手の会」設立記念講演会 (大津市)、2013
- III-10 山内大輔・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 を使ったミヤコグサ種子発芽過程の解析 : 子葉通気組織形成の初期過程は可逆的である、2014年 生体運動合同班会議 (千葉市)、2014
- III-11 唐原一郎 (富山大) ・松澤勇介 (富山大) ・坂東理史 (富山大) ・栗林剛正 (富山大) ・玉置大介・上杉健太郎 (高輝度光科学研究センター) ・山内大輔・峰雪芳宣 : イネの一次根における通気組織発達初期の X線 CT による観察、日本植物学会第77回大会 (札幌市)、2013
- III-12 栗林剛正 (富山大) ・唐原一郎 (富山大) ・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) ・峰雪芳宣 : X線マイクロ CT によるシロイヌナズナ胚の観察 - 従来の固定・包埋による光学および電子顕微鏡観察と X線 CT 観察の比較 -、植物電子顕微鏡若手ワークショップ (横浜市)、2013
- III-13 栗林剛正 (富山大) ・唐原一郎 (富山大) ・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) ・峰雪芳宣 : X線マイクロ CT によるシロイヌナズナの胚における細胞構築の三次元解析 - 従来の固定・包埋による光学および電子顕微鏡観察と X線 CT 観察の比較 -、NIPS Workshop 2013 "EM Functional Imaging for Biomedical Applications ~ Functional Imaging from Molecules to

Cells~ (岡崎市)、2013

- III-14 栗林剛正 (富山大)・福田安希・唐原一郎 (富山大)・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)・峰雪芳宣: X線マイクロCTによるシロイヌナズナの胚における細胞構築の三次元解析、公益社団法人日本顕微鏡学会第57回シンポジウム (名古屋市)、2013
- III-15 栗林剛正 (富山大)・福田安希・唐原一郎 (富山大)・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)・峰雪芳宣: X線マイクロCTによるシロイヌナズナの胚の非侵襲観察 -幼根及び胚軸における細胞構築の三次元解析-、日本植物形態学会第25回大会 (札幌市)、2013
- III-16 栗林剛正 (富山大)・唐原一郎 (富山大)・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)・峰雪芳宣: X線マイクロCTによるシロイヌナズナ胚の器官および細胞の形態の三次元解析、第55回日本植物生理学会年会 (富山市)、2014
- III-17 松澤勇介 (富山大)・唐原一郎 (富山大)・坂東理史 (富山大)・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)・峰雪芳宣: イネの一次根における通気組織形成初期のX線マイクロCTによる三次元観察、日本植物形態学会第25回大会 (札幌市)、2013
- III-18 松澤勇介 (富山大)・唐原一郎 (富山大)・坂東理史 (富山大)・栗林剛正 (富山大)・玉置大介・上杉健太郎 (高輝度光科学研究センター)・山内大輔・峰雪芳宣: イネの一次根における通気組織のX線CTによる可視化 -発達初期の観察-、第38回根研究集会 (西之表市)、2013
- III-19 松澤勇介 (富山大)・坂東理史 (富山大)・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)・峰雪芳宣・唐原一郎 (富山大): イネの一次根における通気組織形成初期のX線マイクロCTによる非侵襲観察、日本顕微鏡学会・関西支部「若手の会」設立記念講演会 (大津市)、2013
- III-20 松澤勇介 (富山大)・坂東理史 (富山大)・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)・峰雪芳宣・唐原一郎 (富山大): イネの一次根における通気組織形成初期のX線マイクロCTによる非侵襲三次元観察、第55回日本植物生理学会年会 (富山市)、2014
- III-21 後藤圭太 (富山大)・唐原一郎 (富山大)・須藤宇道 (富山大)・栗林剛正 (富山大)・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)・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)・玉置大介・山内大輔・峰雪芳宣・神阪盛一郎 (富山大): 宇宙環境下で得られたシロイヌナズナの種子のX線マイクロCTによる非侵襲観察、日本宇宙生物科学会第27回大会 (つくば市)、2013
- III-22 後藤圭太 (富山大)・唐原一郎 (富山大)・須藤宇道 (富山大)・栗林剛正 (富山大)・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)・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)・玉置大介・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」実験棟で得られたシロイヌナズナ種子のX線マイクロCTによる三次元観察、第55回日本植物生理学会年会 (富山市)、2014
- VI-1 中井朋則・呉屋俊史・竹内美由紀 (東京大)・梶村直子 (大阪大)・村田和義 (生理学研究所)・峰雪芳宣: 電子線トモグラフィ法を使った酢酸菌セルロースリボンの観察、NIPS Workshop 2013 "EM Functional Imaging for Biomedical Applications ~ Functional Imaging from Molecules to Cells ~ (岡崎市)、2013
- VI-2 呉屋俊史・中井朋則・竹内美由紀 (東京大)・梶村直子 (大阪大)・村田和義 (生理学研究所)・峰雪芳宣: 電子線トモグラフィ法による酢酸菌セルロースリボンの観察、日本顕微鏡学会・関西

支部「若手の会」設立記念講演会（大津市）、2013

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