

## 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候補 RanGAP 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ー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。その結果アクチン繊維が2本の微小管の束化に関与している過程が明らかになった。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 $\gamma$ 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。また、吸水種子の観察方法についても検討を行った。

## 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。野生株の合成するセルロースフィブリルについて、クライオ電子顕微鏡観察から得られたトモグラムを用いて、セルロースフィブリルの構造解析を進めた。

## 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 T. Yabuuchi, T. Nakai, S. Sonobe, D. Yamauchi, and Y. Mineyuki: Preprophase band formation and cortical division zone establishment: RanGAP behaves differently from microtubules during their band formation, *Plant Signal. Behav.* in press.
- I-2 M. Takeuchi (東京大), and Y. Mineyuki: Actin-microtubule interaction during preprophase band formation in onion root tips visualized by immunofluorescence microscopy, *Atlas of Plant Cell Structure*, (eds by N. Tetsuko, S. Kawano, H. Tsukaya, S. Matsunaga, A. Sakai, I. Karahara, Y. Hayashi), Springer, 132-133. (2014)
- I-3 Y. Mineyuki: Microtubule systems in the cell cycle of onion root tips visualized in 3D, *Atlas of Plant Cell Structure*, (eds by N. Tetsuko, S. Kawano, H. Tsukaya, S. Matsunaga, A. Sakai, I. Karahara, Y. Hayashi), Springer, 108-109. (2014)
- I-4 T. Yabuuchi, T. Nakai, D. Yamauchi, S. Sonobe, and Y. Mineyuki: Preprophase band development and establishment of cortical division zone: Relationships among microtubule band formation, RanGAP band formation and the progression of nuclear cycle in prophase of onion root tip cells, *The Annual Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo for the School Year of 2014*, (佐用町), 2015
- I-5 T. Yabuuchi, T. Nakai, D. Yamauchi, and Y. Mineyuki: Experimental uncoupling of preprophase band formation from the nuclear cycle in onion root-tip cells, *2nd International Picobiology Institute Symposium "Development & Destruction"*, (佐用町), 2014
- I-6 峰雪芳宣: 分裂準備帯と細胞分裂面の確立、日本植物形態学会第 26 回大会 受賞記念講演会 (川崎市)、2014
- II-1 竹内美由紀 (東京大)・唐原一郎 (富山大)・峰雪芳宣: 電子線トモグラフィー像で検出した細胞骨格間架橋構造のサイズと分布から推定した分裂準備帯形成過程におけるアクチン-微小管相互作用の変化、2015年生体運動合同班会議 (東京)、2015
- II-2 M. Takeuchi (東京大), K. Takabe (京都大), and Y. Mineyuki: Immunoelectron Microscopy of Cryofixed and Freeze-Substituted Plant Tissues, *In High Resolution Imaging of Proteins in Tissues and Cells: Light and Electron Microscopy Methods and Protocols*, (eds by S. Schwartzbach, O. Skalli), Springer, in press
- II-3 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*, 251: 1347-1357. (2014)
- II-4 M. Shimamura (広島大), and Y. Mineyuki: Microtubule organizing centers in bryophytes, *In Atlas of Plant*

- Cell Structure. (eds by N. Tetsuko, S. Kawano, H. Tsukaya, S. Matsunaga, A. Sakai, I. Karahara, Y. Hayashi), Springer, 116-117. (2014)
- II-5 I. Karahara (富山大), A. Staehelin (コロラド大), and Y. Mineyuki: Ultrastructural appearance of nuclei at different cell stages in high pressure frozen onion epidermal cells, *In Atlas of Plant Cell Structure*, (eds by N. Tetsuko, S. Kawano, H. Tsukaya, S. Matsunaga, A. Sakai, I. Karahara, Y. Hayashi), Springer, 2-3. (2014)
- II-6 I. Karahara (富山大), T. Murata (基生研), A. Staehelin (コロラド大), and Y. Mineyuki: Ultrastructural appearance of microtubules in high-pressure frozen onion epidermal cells, *In Atlas of Plant Cell Structure*, (eds by N. Tetsuko, S. Kawano, H. Tsukaya, S. Matsunaga, A. Sakai, I. Karahara, Y. Hayashi), Springer, 112-113. (2014)
- II-7 I. Karahara(富山大), and Y. Mineyuki: Microtubules and their end structures in high-pressure frozen onion epidermal cells visualized by electron tomography, *In Atlas of Plant Cell Structure*, (eds by N. Tetsuko, S. Kawano, H. Tsukaya, S. Matsunaga, A. Sakai, I. Karahara, Y. Hayashi), Springer, 114-115. (2014)
- II-8 竹内美由紀 (東京大) ・唐原一郎 (富山大) ・峰雪芳宣: 電子線トモグラフィ像で検出した細胞骨格間架橋構造のサイズと分布から推定した分裂準備帯形成過程におけるアクチン-微小管相互作用の変化、2015年生体運動合同班会議 (東京)、2015
- III-1 Y. Mineyuki: 3D image analysis of plants using electron tomography and micro-CT, *Microscopy*, 63: i8-i9. (2014)
- III-2 Y. Mineyuki, A. Fukuda, D. Yamauchi, and I. Karahara (富山大): Cell geometry in a whole Arabidopsis seed visualized by X-ray micro-CT, *In Atlas of Plant Cell Structure*, (eds by N. Tetsuko, S. Kawano, H. Tsukaya, S. Matsunaga, A. Sakai, I. Karahara, Y. Hayashi), Springer, 184-185. (2014)
- III-3 山内大輔・福田安希・中石佳那・玉置大介・佐藤繭子 (理研・CSRS) ・豊岡公徳 (理研・CSRS) ・上杉健太郎 (高輝度光科学研究センター) ・星野真人 (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による発芽吸水過程にみられる種子内部構造変化の観察、第56回日本植物生理学会年会 (東京)、2015
- III-4 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胚軸-幼根の皮層細胞分裂パターンの解析、日本顕微鏡学会第70回記念学術講演会 (千葉市)、2014
- III-5 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を使ったシロイヌナズナ乾燥種子の幼根—胚軸の3D細胞幾何解析、日本植物形態学会第26回大会 (川崎市)、2014
- III-6 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を使ったシロイヌナズナ乾燥種子の幼根—胚軸を構成する皮層の3D細胞幾何解析、日本植物学会第78回大会 (川崎市)、2014
- III-7 福田安希・橋本静佳・唐原一郎 (富山大) ・山内大輔・竹内美由紀 (東京大) ・玉置大介・星野真人 (高輝度光科学研究センター) ・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: イオン液体を用いた吸水種子のX線マイクロCT観察、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」 (NIPS Workshop 2014)、(岡崎市)、2014
- III-8 福田安希: 乾燥種子の細胞地図作製、ワークショップ SPring-8 マイクロCTの発生生物学への応

- 用と問題点、(姫路市)、2014
- III-9 橋本静佳:マイクロCT 試料作製へのイオン液体の応用、ワークショップ SPring-8 マイクロCT の発生生物学への応用と問題点(姫路市)、2014
- III-10 中石佳那:種子発芽と細胞間隙、ワークショップ SPring-8 マイクロCT の発生生物学への応用と問題点(姫路市)、2014
- III-11 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線マイクロCTを使ったシロイヌナズナ種子胚皮層の3D細胞幾何解析、第66回日本細胞生物学会大会(奈良市)、2014
- III-12 A. Fukuda, S. Hashimoto, 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: Application of ionic liquid in X-ray micro-CT observation of imbibed seeds, Opening International Symposium of Next-generation Microscopic Science of JSM "Toward Cross-disciplinary Researches Between Life & Material Sciences"(淡路市), 2014
- III-13 唐原一郎(富山大)・山内大輔・峰雪芳宣: X線マイクロCTを用いた植物の根および種子の3Dイメージング、日本植物学会第78回大会シンポジウム“植物の機能を3Dイメージングで観る”(川崎市)、2014
- III-14 峰雪芳宣:電子線トモグラフィーとマイクロCTを用いた植物の3D解析. 3D image analysis of plants using electron tomography and micro-CT、日本顕微鏡学会第58回シンポジウム“ナノとマクロを繋ぐ顕微鏡学”(福岡市)、2014
- IV-1 K. Sutoh (株ライフ・サイエンス研究所), K. Washio (北海道大), R. Imai (北海道農試), M. Wada (九州大), T. Nakai, and D. Yamauchi: An N-terminal region of a Myb-like protein is involved in its intracellular localization and activation of a gibberellin-inducible proteinase gene in germinated rice seeds, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 79: 747-759. (2015)

## 大学院生命理学研究科

博士前期課程

福田安希 : マイクロCTを使ったシロイヌナズナ種子の3D細胞幾何解析

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

公立大学法人兵庫県立大学 特別研究助成金 先導的プロジェクト研究 (平成26年度)

研究課題 SPring-8 マイクロCTを使った細胞をベースにした動植物の発生機構解析法の開発

研究代表者 峰雪芳宣

研究分担者 山内大輔・中井朋則