

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、微小管と核周期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~7 nm 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。

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イオン液体が使えるかどうか検討を行った。

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モデル化を行い、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。また本ネットワーク主催で国際ワークショップ “International Microscopy Workshop on Plant Sciences 2015” を書写記念館で開催した。

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 Signaling & Behavior*, 10 (9): e1060385 (2015)
- I-2 T. Yabuuchi, T. Nakai, S. Sonobe, D. Yamauchi, and Y. Mineyuki: Spatio-temporal differences between RanGAP and microtubule bands during the development of preprophase bands in onion root tip cells, *Microscopy*, 64 (suppl 1): i133 (2015)
- I-3 峰雪芳宣：分裂準備帯 (preprophase band) と細胞分裂面の確立、*Plant Morphology*, 27: 33-42 (2015)
- I-4 峰雪芳宣：細胞分裂面、日本植物学会、三村徹郎 (eds) 植物学の百科事典、丸善出版株式会社、598-599 (2016)
- I-5 藪内隆俊・中井朋則・山内大輔・園部誠司・峰雪芳宣：分裂準備帯形成と表層分裂面挿入予定域の確立：タマネギ根端分裂組織の分裂前期における微小管帯、RanGAP 帯形成と核周期進行の関係、第 67 回日本細胞生物学会大会 (東京)、2015
- I-6 峰雪芳宣・藪内隆俊・大塚礼己：分裂準備帯形成における微小管と核周期の進行過程は薬剤で部分的に脱共役できる、2016 年生体運動合同班会議 (京都市)、2016
- II-1 M. Takeuchi (東京大), I. Karahara (富山大), N. Kajimura (大阪大), A. Takaoka (大阪大), K. Murata (生理学研究所), K. Misaki (理研・CDB), S. Yonemura (理研・CDB), L. A. Staehelin (コロラド大), and Y. Mineyuki: Single microfilaments mediate the early steps of microtubule bundling during preprophase band formation in onion cotyledon epidermal cells, *Molecular Biology of the Cell*, 27: 1809-1820. doi: 10.1091/mbc.E15-12-0820 (2016)
- II-2 D. Tamaoki (富山大), A. Fukuda, H. Ikegaya, T. Nakai, D. Yamauchi, and Y. Mineyuki: Use of a modified glass-based dish for long-term observations of *Coleochaete* culture without dew condensation on the lid, *Plant Morphology*, 28: 55-57. (2016)
- II-3 M. Takeuchi (東京大), K. Takabe (京都大), and Y. Mineyuki: Immunoelectron microscopy of cryofixed and freeze-substituted plant tissues, *In Tissues and Cells: Light and Electron Microscopy Methods and Protocols*. (eds by S. Schwartzbach, O. Skalli, and T. Schikorski), Springer (2016)
- II-4 峰雪芳宣：顕微鏡、日本植物学会、三村徹郎 (eds) 植物学の百科事典、丸善出版株式会社、64-67、2016
- II-5 峰雪芳宣：細胞分裂—植物細胞、日本植物学会、三村徹郎 (eds) 植物学の百科事典、丸善出版株式会社、390-391、2016

- II-6 Y. Mineyuki, D. Yamauchi, and T. Nakai: Laboratory of Plant Cell and Developmental Biology, Paper presented at The Annual Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo for the School year 2015 (上郡市), 2016
- II-7 峰雪芳宣：ナノとマイクロの3Dイメージングによる細胞分裂面挿入位置の研究、2016年度（第4回）近畿植物学会講演会（大阪市）、2015
- III-1 A. Fukuda, I. Karahara (富山大), D. Yamauchi, D. Tamaoki (富山大), K. Uesugi (高輝度光科学研究センター), M. Hoshino (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: 3-D cell geometrical analysis of epidermal and cortical cells in hypocotyl-root axes in arabidopsis seeds using X-ray micro-CT, *Microscopy*, 64 (Suppl 1): i127 (2015)
- III-2 D. Yamauchi, A. Fukuda, D. Tamaoki (富山大), K. Toyooka (理研・CSRS), M. Sato (理研・CSRS), K. Uesugi (高輝度光科学研究センター), M. Hoshino (高輝度光科学研究センター), I. Karahara (富山大), and Y. Mineyuki: Distribution of intercellular spaces in plant seeds during imbibition and germination observed using X-ray micro-CT, *Microscopy*, 64 (Suppl 1): i139 (2015)
- III-3 I. Karahara (富山大), Y. Matsuzawa (富山大), T. Bando (富山大), D. Tamaoki (富山大), J. Abe (東京大), K. Uesugi (高輝度光科学研究センター), D. Yamauchi, and Y. Mineyuki: Non-destructive observation of aerenchyma development in the primary root of rice using X-ray micro-CT, *Microscopy*, 64 (Suppl 1): i66 (2015)
- III-4 I. Karahara (富山大), D. Yamauchi, K. Uesugi (高輝度光科学研究センター), and Y. Mineyuki: Three-dimensional imaging of plant tissues using X-ray micro-computed tomography, *Plant Morphology*, 27: 21-26 (2015)
- III-5 山内大輔・福田安希・唐原一郎（富山大）・峰雪芳宣：X線マイクロCTを用いた種子発芽過程の研究、*Plant Morphology*、28：3-7、2016
- III-6 福田安希：会議報告、第2回東アジア国際顕微鏡学会義（EAMC2）、顕微鏡（15）：59、2016
- III-7 A. Fukuda, I. Karahara (富山大), D. Yamauchi, D. Tamaoki (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), and Y. Mineyuki: X-ray micro-CT analysis of 3-D cell geometry in hypocotyl-root axes of arabidopsis seeds, *Young Scientists Sattelite Meeting in The 2nd EAMC2 (淡路市)*, 2015
- III-8 A. Fukuda, I. Karahara (富山大), D. Yamauchi, D. Tamaoki (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), and Y. Mineyuki: X-ray micro-CT analysis of 3-D cell geometry in hypocotyl-root axes of arabidopsis seeds, Paper presented at the The Annual Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo for the School year 2015 (上郡市), 2016
- III-9 山内大輔・唐原一郎（富山大）・峰雪芳宣：X線マイクロCTを用いた種子発芽過程の研究、日本植物学会第79回大会 シンポジウム（新潟市）、2015
- III-10 山内大輔・福田安希・玉置大介（富山大）・佐藤繭子（理研・CSRS）・豊岡公德（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を用いた種子発芽過程における細胞間隙形成パターン解析の検討、日本植物形態学会第27回総会・大会（新潟市）、2015
- III-11 山内大輔・福田安希・玉置大介（富山大）・佐藤繭子（理研・CSRS）・豊岡公德（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により観察されたミヤコグサ種子吸水過程に起こる可逆的な細胞間隙形成、日本植物学会第79回大会（新潟市）、2015

- III-12 福田安希・唐原一郎（富山大）・山内大輔・玉置大介（富山大）・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）・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皮層と表皮の3D細胞幾何学的特徴の比較、日本植物形態学会第27回総会・大会（新潟市）、2015
- III-13 福田安希・唐原一郎（富山大）・山内大輔・玉置大介（富山大）・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）・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3D細胞幾何解析による皮層と表皮の比較、日本植物学会第79回大会（新潟市）、2015
- III-14 福田安希・唐原一郎（富山大）・山内大輔・玉置大介（富山大）・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）・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皮層・表皮の3D細胞幾何学的特徴の比較、SSSEM研究部会&生理研研究会 合同ワークショップ（岡崎市）、2015
- III-15 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（富山大）・桑畑進（大阪大）・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：X線マイクロCTによるシロイヌナズナ吸水種子観察へのイオン液体の応用、日本顕微鏡学会第71回記念学術講演会（京都市）、2015
- 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, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 79: 747-759 (2015)
- VII-1 Y. Mineyuki, I. Karahara (富山大), and D. Yamauchi: International Microscopy Workshop on Plant Sciences 2015 (姫路市), 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

科学研究費補助金等

公益財団法人ひょうご科学技術協会学術研究助成金（平成27年度）

研究課題 SPring-8 マイクロCT を利用した種子発芽の研究

研究代表者 峰雪芳宣