

I ユビキチン-プロテアソーム経路反応機構の解明

X-ray structural analysis of the ubiquitin proteasome pathway

水島恒裕・中井朋則・西尾和也
Mizushima, T., Nakai, T., Nishio, K.

ユビキチンによる翻訳後修飾は、特異的タンパク質分解・DNA修復・転写・免疫応答等を調節するシグナル伝達経路の制御において中核的な役割を担っている。本経路において不要タンパク質を認識しユビキチンを付加するユビキチンリガーゼはヒトでは約600種類存在し、状況に応じ適切なシグナル伝達の役割を担う。また、ユビキチン化修飾されたタンパク質は分子量250万、66サブユニットからなる超分子複合体タンパク質26Sプロテアソームにより特異的に分解される。これら高度なシステムで機能するタンパク質群の立体構造を決定することによりその反応機構の解明を目指す。

II 病原菌エフェクタータンパク質の構造解析による感染機構の解明

Structural analysis of bacterial effector proteins to reveal the pathogenic mechanism

水島恒裕・中井朋則・西尾和也
Mizushima, T., Nakai, T., Nishio, K.

病原細菌は感染に際しエフェクターと呼ばれるタンパク質を宿主細胞に分泌し、宿主の持つ防御機構を妨げることにより感染を拡大する。その際、病原細菌エフェクターは宿主の炎症応答・細胞接着・オートファジー等を制御するタンパク質に作用し防御応答を阻害する。病原細菌エフェクターと宿主内標的タンパク質の複合体構造を、構造生物学的手法を用いて解析することにより感染機構の理解を目指す。

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・中井朋則・峰雪芳宣

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

種子は乾燥して休眠状態にあり、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を利用して種子の吸水過程を連続撮影する方法について検討を行った。また、富山大学などとの共同研究で植物のX線CTの画像解析法についても検討を行った。

VI なたまめ茶成分の解析

Analysis of peptides in a tea from roast sword bean seeds

山内大輔
Yamauchi, D.

ナタマメは漢方薬として利用され、その種子を煎って、お茶（なたまめ茶）として飲まれている。しかしながら、このお茶に含まれる成分に関する研究はほとんど行われていない。そこで、なたまめ茶を実際に作って、その中に含まれるペプチドを種子貯蔵タンパク質に対する抗体を用いて解析した。

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、ジベレリンがなくても造精器を形成する突然変異体についてジベレリンの生合成やその応答に関わる遺伝子発現の解析を行った。

VI 分裂準備帯の形成機構と機能の解析

Analyses of development and function of preprophase bands

中井朋則・山内大輔・水島恒裕・峰雪芳宣
Nakai, T., Yamauchi, D., Mizushima, T., 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、分裂前期に発現するサイクリン依存リン酸化酵素、CDKB1 について解析を行った。

Ⅶ 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

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

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～7 nm レベルでの解析を行っている。昨年度に引き続き、分裂準備帯以外のアクチンシステムの解析を行った。

Ⅷ 細菌由来セルロースの合成機構

Mechanism of cellulose production from bacteria

中井朋則・水島恒裕・峰雪芳宣
Nakai, T., Mizushima, 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。セルラーゼ遺伝子破壊株及び野生株の合成するセルロース繊維について、ネガティブ染色を行った試料から電子線トモグラムを作製し、3次元構造解析を進めている。

発表論文 List of Publications

I-1 Molecular basis for the disruption of Keap1-Nrf2 interaction via Hinge & Latch

- mechanism. Horie, Y., Suzuki, T., Iso, T., Wells, G., Moore, W. T., Mizushima, T., Dinkova-Kostova, AT., Kasai, T., Kamei, T., Koshiba, S., Yamamoto, M. *Commun Biol* **4**, Article number: 576. (2021)
- I-2 Structural insights into the targeting specificity of ubiquitin ligase for *S. cerevisiae* isocitrate lyase but not *C. albicans* isocitrate lyase. Hiragi, K., Nishio, K., Moriyama, S., Hamaguchi, T., Mizoguchi, A. Yonekura, K., Tani, K., Mizushima, T. *J. Struct. Biol.* **213**, 107748 (2021)
- I-3 Heterozygous missense variant of the proteasome subunit β -type 9 causes neonatal-onset autoinflammation and immunodeficiency Kanazawa, N., Hemmi, H., Kinjo, N., Ohnishi, H., Hamazaki, J., Mishima, H., Kinoshita, A., Mizushima, T., Hamada, S., Hamada, K., Kawamoto, N., Kadowaki, S., Honda, Y., Izawa, K., Nishikomori, T., Tsumura, M., Yamashita, Y., Tamura, S., Orimo, T., Ozasa, T., Kato, T., Sasaki I., Fukuda-Ohta, Y., Wakaki-Nishiyama, N., Inaba, Y., Kunitomo, K., Okada, S., Taketani, T., Nakanishi, K., Murata, S., Yoshiura, K., Kaisho, T. *Nat Commun. Nat Commun.* **12**, Article number: 6819. (2021)
- I-4 平木慶人・西尾和也・水島恒裕：タンパク質工学によるリンゴ酸脱水素酵素の高活性化、兵庫県立大学 知の交流シンポジウム 2021 2021年9月28日～12月31日 WEB
- I-5 西尾和也・水島恒裕：植物由来ペルオキシソーム型クエン酸合成酵素の結晶構造解析、第4回ピコバイオロジー研究会 2022年3月14日 WEB
- II-1 Active site structure of the *Shigella flexneri* effector OspI. Nishide, A., Takagi, K., Kim, M., Mizushima, T. bioRxiv (2022)
- II-2 平木慶人・西出旭・高木賢治・Kim Minsoo・水島恒裕：赤痢菌エフェクターIpaH1.4/2.5のX線結晶構造解析および機能解析、第67回日本生化学会近畿支部例会、2021年5月29日、WEB
- II-3 平木慶人・西出旭・高木賢治・岩井一宏・Kim Minsoo・水島恒裕：赤痢菌エフェクターIpaH1.4/2.5による直鎖状ポリユビキチン鎖生成酵素(LUBAC)認識機構の解析、第21回日本タンパク質科学学会年会 2021年6月16日-18日 WEB
- II-4 水島恒裕：病原菌エフェクターによる宿主防御応答阻害機構の解明 公益財団法人アステラス病態代謝研究会 第51回研究報告会 2021年10月16日 WEB
- II-5 平木慶人・西出旭・高木賢治・Kim Minsoo・水島恒裕：赤痢菌エフェクター IpaH1.4/2.5によるLUBAC複合体認識機構の解明、第4回ピコバイオロジー研究会 2022年3月14日 WEB
- III-1 山内大輔・中井朋則・玉置大介・上杉健太郎・星野真人・唐原一郎・峰雪芳宣：X線マイクロCTを用いたミヤコグサ種子吸水過程の観察：タイムラプスイメージングによる解析、第85回日本植物学会 2021年9月16日-20日 WEB
- III-2 米田早秀・山内大輔：第3回 技術・人材マッチング交流会 X線マイクロCTによるミヤコグサ種子吸水過程の3D観察 2021年12月9日 WEB
- III-3 Visualization of Arabidopsis root system architecture in 3D by refraction-contrast X-ray micro-computed tomography. Kurogane, T., Tamaoki, D., Yano, S., Tanigaki, F., Shimazu, T., Kasahara, H., Yamauchi, D., Uesugi, K., Hoshino, M., Kamisaka, S., Mineyuki, Y., Karahara, I. *Microscopy* **70**, 536-544 (2021)

- III-4 山浦遼平・玉置大介・蒲池浩之・山内大輔・峰雪芳宣・星野真人・上杉健太郎・矢野幸子・嶋津徹・笠原春夫・鎌田源司・鈴木智美・小野田雄介・久米篤・半場祐子・藤田知道・唐原一郎：ヒメツリガネゴケ仮根系の X 線 μ CT による可視化の試み、第 85 回日本植物学会 2021 年 9 月 16 日－20 日 WEB
- III-5 山浦遼平・玉置大介・蒲池浩之・山内大輔・峰雪芳宣・星野真人・上杉健太郎・嶋津徹・笠原春夫・鎌田源司・鈴木智美・久米篤・半場祐子・藤田知道・唐原一郎：ヒメツリガネゴケ仮根系の X 線マイクロ CT による可視化の試み、第 35 回日本宇宙生物科学会 2021 年 9 月 24 日－26 日 WEB
- III-6 唐原一郎・山浦遼平・黒金智文・山内大輔・峰雪芳宣・蒲池浩之・橋本博文・星野真人・上杉健太郎・谷畑昂士郎・玉置大介・西内巧・高尾泰昌・田浦太志・矢野幸子・谷垣文章・嶋津徹・笠原春夫・鎌田源司・鈴木智美・小野田雄介・久米篤・半場祐子・藤田知道・神阪盛一郎：宇宙おける植物の生活環－根系の三次元形態の評価を通じた低重力植物栽培条件の最適化を目指して－、第 35 回宇宙環境利用シンポジウム 2022 年 1 月 19 日－20 日 WEB
- VII-1 飯塚駿作・玉置大介・中井朋則・唐原一郎・峰雪芳宣：分裂準備帯成熟過程における微小管及びアクチン繊維の動態、第 33 回日本植物形態学会 2021 年 9 月 17 日 WEB
- VII-2 飯塚駿作・玉置大介・中井朋則・山内大輔・唐原一郎・峰雪芳宣：植物細胞の分裂前期に微小管帯の拡散を防ぐアクチンウォールは存在するか？、生体運動研究合同班会議 2022 年 1 月 7 日－9 日 名古屋

大学院生命理学研究科

博士後期課程

大塚礼己：核由来の分裂準備帯形成制御因子の解析

平木慶人：病原細菌エフェクターによる宿主防御経路阻害機構の解析

科学研究費補助金等

- 1 科学研究費助成事業（令和 2～令和 5 年度）基盤研究（B） 課題番号：20H03198
研究課題 病原細菌エフェクターによる NF- κ B 経路を標的とした感染機構の解析
研究代表者 水島恒裕
- 2 科学研究費助成事業（令和 2～令和 4 年度）基盤研究（B） 課題番号：20H03790
研究課題 もやもや病や脳梗塞の遺伝性リスク因子の機能解析
研究代表者 手塚徹、研究分担 水島恒裕
- 3 科学研究費助成事業（令和 2～令和 5 年度）基盤研究（B） 課題番号：20H02878
研究課題 病原因子の分解を誘導する分子標的型新規抗菌剤の開発基盤の構築
研究代表者 Kim Minsoo、研究分担 水島恒裕
- 4 科学研究費助成事業（令和元～令和 3 年度）基盤研究（C） 課題番号：19K06743
研究課題 細胞分裂面挿入予定域形成の核で進行する素過程の制御機構
研究代表者 峰雪芳宣、研究分担 中井朋則