

## 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を利用してイネ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つけて、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等について形態的な観察を行った。

## 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。現在は、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ている。

## 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 西尾和也・中務邦雄・嘉村巧・水島恒裕：X線結晶構造解析による赤痢菌エフェクター

- IpaH1.4/2.5 の LUBAC 阻害機構の解析、第 5 回ピコバイオロジー研究会 2022 年 12 月 8 日 兵庫
- II-1 Structural insight into the recognition of the linear ubiquitin assembly complex by Shigella E3 ligase IpaH1.4/2.5. Hragi, K., Nishide, A., Takagi, K., Iwai, K., \*Kim, M., Mizushima T., *J. Biochem.* **173**, 317-326. (2023)
- II-2 平木慶人・西出旭・高木賢治・Kim Minsoo・水島恒裕：X 線結晶構造解析による赤痢菌エフェクター IpaH1.4/2.5 の LUBAC 阻害機構の解析、令和 4 年度日本結晶学会年会、2022 年 11 月 26 日-27 日 兵庫
- II-3 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 基質認識ドメインの構造及び基質認識機構の解析、第 5 回ピコバイオロジー研究会 2022 年 12 月 8 日 兵庫
- III-1 山内大輔・中井朋則・金子康子・佐藤繭子・豊岡公德・上杉健太郎・星野真人・玉置大介・唐原一郎・峰雪芳宣：ミヤコグサ種子胚の細胞間隙：発芽には吸水過程でのエアースペース保持が必要、第 86 回日本植物学会 2022 年 9 月 15 日-19 日 京都
- III-2 米田早秀・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・山内大輔：X 線マイクロ CT を用いたミヤコグサ種子吸水過程における形態変化の観察：タイムラプスイメージングによる解析、日本植物形態学会第 34 回大会 2022 年 9 月 16 日 京都
- III-3 Three-dimensionally visualized rhizoid system of moss, *Physcomitrium patens*, by refraction-contrast X-ray micro-computed tomography. Yamaura, R., Tamaoki, D., Kamachi, H., Yamauchi, D., Mineyuki, Y., Uesugi, K., Hoshino, M., Suzuki, T., Shimazu, T., Kasahara, H., Kamada, M., Hanba T. Y., Kume, A., Fujita, Y., Karahara, I. *Microscopy* **71**, 364-373 (2022)
- III-4 唐原一郎・山浦遼平・若林孝尚・平井泰蔵・矢野敦也・小出みなみ・玉置大介・蒲池裕之・山内大輔・峰雪芳宣・曾我康一・藤井伸治・若林和幸・星野真人・上杉健太郎・中井勇介・中野明正・西内巧・高尾泰昌・田浦太志・嶋津徹・笠原春夫・鎌田源司・鈴木智美・小野田雄介・日渡祐二・半場祐子・久米篤・藤田知道：宇宙に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 37 回宇宙環境利用シンポジウム 2023 年 1 月 17 日-18 日 WEB
- IV-1 山内大輔・須藤慶太：なたまめ茶に含まれるコンカナバリン A およびカナバリンの免疫学的検出に関する研究、日本食生活学会誌 **33**, 199-204 (2023)
- VII-1 飯塚駿作・玉置大介・中井朋則・唐原一郎・峰雪芳宣：分裂準備帯形成過程に現れるアクチンウォールとその役割、第 34 回日本植物形態学会 2022 年 9 月 16 日 京都

## 大学院生命理学研究科

博士後期課程

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

## 生命科学専攻

博士前期課程

粕谷航平：病原細菌エフェクターの選択的基質認識機構の解析

米田早秀：ミヤコグサ塩基性 7S グロブリンの種子内局在性とその機能の解析

### 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- $\kappa$ 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