

Plant Cell and Developmental Biology 生体分子生合成

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して、その内部構造変化について解析を行なった。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、市販のお茶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分析すると、いくつかの製品でコンカナバリンAが検出されることを見出した。

V 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・水島恒裕
Yamauchi, D., Mizushima, 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。オオムギのジベレリン応答発現に関わると予想される転写因子のcDNAを単離して、それらの塩基配列を決定した。

V 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 Defective import of mitochondrial metabolic enzyme elicits ectopic metabolic stress. Nishio, K., Kawarasaki, T., Sugiura, Y., Matsumoto, S., Konoshima, A., Takano, Y., Hayashi, M., Okumura, F., Kamura, T., Mizushima, T., Nakatsukasa, K. *Sci. Adv.* (2023) eadf1956
- I-2 粕谷航平、佐藤匡史、矢木宏和、吉田雪子、加藤晃一、水島恒裕 NGLY1 欠損症の発症に寄与するユビキチンリガーゼ Fbs2 の結晶構造解析、令和 5 年度兵庫県立大学理学部 技術・人材マッチング交流会、2023 年 12 月 1 日、兵庫
- I-3 粕谷航平、佐藤匡史、矢木宏和、吉田雪子、加藤晃一、水島恒裕 NGLY1 欠損症の発症に寄与するユビキチンリガーゼ Fbs2 の結晶構造解析、第 9 回バイオダイナミクス研究科、2023 年 12 月 14 日、兵庫
- II-1 中村真唯子、平木慶人、小杉将吾、Kim Minsoo、水島恒裕 病原細菌 NEL 型ユビキチンリガーゼの反応中間体構造解析、令和 5 年度日本結晶学会年会、2023 年 10 月 27-29 日、宇部
- II-2 馬場 拓海、平木 慶人、粕谷 航平、小倉 実、西出 旭、Kim Minsoo、水島 恒裕 Legionella 菌 Cif 様タンパク質の X 線結晶構造解析、令和 5 年度日本結晶学会年会、2023 年 10 月 27-29 日、宇部
- II-3 中村真唯子、平木慶人、小杉将吾、Kim Minsoo、水島恒裕 病原細菌 NEL 型ユビキチンリガーゼの反応中間体構造解析、第 9 回バイオダイナミクス研究科、2023 年 12 月 14 日、兵庫
- II-4 馬場 拓海、平木 慶人、粕谷 航平、小倉 実、西出 旭、Kim Minsoo、水島 恒裕 Legionella 菌 Cif 様タンパク質の X 線結晶構造解析、第 9 回バイオダイナミクス研究科、2023 年 12 月 14 日、兵庫
- III-1 Three-dimensional visualization of plant tissues and organs by X-ray micro-computed tomography. Karahara, I., Yamauchi, D., Uesugi, K., Mineyuki, Y. *Microscopy* **72**, 310–324 (2023)
- III-2 唐原一郎・若林孝尚・山浦遼平・若林孝尚・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・小野田雄介・日渡祐二・久米篤・藤田知道：スペースモス宇宙実験で得たヒメツリガネゴケ仮根系の X 線マイクロ CT による 3D 可視化、日本植物学会第 87 回大会 2023 年 9 月 4 日－9 日 札幌
- III-3 松本壮史・内海ゆづ子・小塚俊明・岩村雅一・黄瀬浩一・中井朋則・山内大輔・唐原一郎・峰雪芳宣・星野真人・上杉健太郎：ミヤコグサ種子胚の細胞間隙：CT 画像を用いたキクタンニギクの花配列の推定、電子情報通信学会 2024 年 3 月 3-4 日 東広島
- III-4 荒牧輪・中井朋則・上杉健太郎・星野真人・玉置大介・唐原一郎・峰雪芳宣・山内大輔：X 線マイクロ CT を用いたイネ種子吸水過程における内部構造変化の観察：タイムラプスイメージングによる解析、第 65 回日本植物生理学会年会 2024 年 3 月 17-19 日 神戸
- VII-1 飯塚駿作・玉置大介・安原裕紀・中井朋則・唐原一郎・峰雪芳宣：分裂準備帯周縁に出現するアクチンウォールは微小管帯の拡散を防ぐ、第 34 回日本植物形態学会 2023 年 9 月 4 日 札幌

生命科学専攻

博士前期課程

粕谷航平 : ヌビキチンリガーゼ SCF^{Fbs2} 基質認識サブユニットの結晶構造解析

米田早秀 : ミヤコグサ塩基性 7S グロブリンの種子における局在性の解析

荒牧 輪 : 種子発芽条件による遺伝子発現と種子内部構造変化への影響に関する研究

後藤柊哉 : 立体構造に基づいた NAD(H)を補酵素とする脱水素酵素の高機能化方法の検討

中村真唯子 : 病原細菌 NEL 型ヌビキチンリガーゼの反応中間体構造解析による解析

馬場拓海 : 病原細菌エフェクターCif の構造解析による基質認識および反応機構の解析

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 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