

## I 液体試料微細形態観察への低温電子顕微鏡法の応用

Application of cryo-electron microscopy to the microstructure observation of liquid samples

西野有里・菓子野康浩・宮澤淳夫

Nishino, Y., Kashino, Y., Miyazawa, A.

低温電子顕微鏡法では、細胞や生体分子をはじめとした含水生物試料を非晶質に凍結して、凍結状態のまま電子顕微鏡で観察することにより、化学固定や脱水による構造アーティファクトのない、含水状態のままの微細構造を解析することができる。2種類以上の混ざり合わない液体成分から成るエマルジョン溶液や、溶媒中でコロイド状に分散した高分子化合物、無機化合物などの液体試料について、低温透過電子顕微鏡法または低温走査電子顕微鏡法を用いた微細構造観察の検討を行った。その結果、生物試料を観察するための試料調製法を応用することにより、様々な液体試料に対して幅広く、低温電子顕微鏡法により微細構造が観察できることが示された。

## II 胚性幹細胞から骨格筋細胞への分化誘導の研究

Study of inducing differentiation from embryonic stem cells into skeletal muscle cells

西野有里・菓子野康浩・宮澤淳夫

Nishino, Y., Kashino, Y., Miyazawa, A.

胚性幹細胞から様々な組織細胞への分化誘導法が知られているが、骨格筋細胞については未だに再現性の高い分化誘導法が確立されていない。これまでに、接着培養した胚様体に、スペルミンを一時的に添加して培養することにより、骨格筋を含む筋繊維シートを形成させる方法が報告されているが、シートの形成率が低く、胚様体の20~30%程度に留まっていた。そこで、この方法を最適化するために、胚様体の大きさ、スペルミンを添加するタイミングや濃度、培養日数の検討を行った。その結果、約50%の胚様体から骨格筋を含む筋繊維シートを形成させることができた。また、電子顕微鏡を用いて筋繊維シートを観察したところ、細胞内にサルコメアを確認することができた。

## III ニコチン性アセチルコリン受容体の分子局在解析に向けた標識用金コロイド粒子の研究

Study on the colloidal gold labelling for molecular localization analysis of  
nicotinic acetylcholine receptor

西野有里・菓子野康浩・宮澤淳夫

Nishino, Y., Kashino, Y., Miyazawa, A.

神経筋接合部のポストシナプス膜では、ニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) が、様々なタンパク質と相互作用しながら集積してクラスターを形成することにより、効率の良い情報伝達が行われている。クラスター形成時における nAChR の分子局在の変化を調べるために、一般的な間接抗体法より精密な分子の位置を調べる事が可能な、抗 nAChR 抗体 Fab'フラグメント結合金コロイド粒子の調製法を検討した。その結果、筋管細胞表面の nAChR を特異的に標識することが可能な金コロイド標識分子を作製することができた。

#### IV 光合成初期過程と電子伝達超複合体の構造と機能の研究

Structure and function of super complexes of photosynthetic  
electron transport systems

菓子野康浩・西野有里・宮澤淳夫

Kashino, Y., Nishino, Y., Miyazawa, A.

光合成における光エネルギーの化学的エネルギーへの変換を担う2つの光化学反応中心複合体(光化学系 I および II)のうち、光化学系 II 複合体の構築過程および構成タンパク質機能の解析を進めた。また、クロロフィル *d* を主要色素とし、可視光よりもエネルギーレベルの低い遠赤色光を使って酸素発生型光合成を行うシアノバクテリアの光化学系複合体の構造解明に向けた解析を進めた。解明した光化学系 I 複合体の構造から得られた各色素の位置情報を利用して理論計算を進め、色素間の光エネルギー伝達を解析した。南極に自生する緑藻の一種が、南極の自然環境下で遠赤色光を捕集して光合成に利用するための光捕集色素タンパク質の構造を解明した。

#### V 珪藻などの微細藻類についての生理・生化学的研究およびその利用

Physiological and biochemical study on diatom and its application

菓子野康浩・西野有里・宮澤淳夫

Kashino, Y., Nishino, Y., Miyazawa, A.

海洋の珪藻は地球の光合成の約 25% を担っている重要な光合成生物である。そのような珪藻の特質を温暖化抑止のために利用するための開発研究を進めた。そのために、珪藻の野外光下での光合

成特性を解析するとともに、社会実装を目指した野外での安定高密度大量培養技術の構築に努めた。そして、大量培養後の珪藻のバイオ燃料生産以外の利用について検討を進めた。組換え藻類の第一種利用に向けた共同研究を進めた。

## 発表論文 List of Publications

- I-1 Takeaki Shibata (東京大), Hiroki Kawana (東京大), Yuri Nishino, Yoshiko Ito, Hiroyasu Sato (東京大), Hirofumi Onishi (東京大), Kuniyuki Kano (東京大), Asuka Inoue (東北大), Yoshitaka Taketomi (東京大), Makoto Murakami (東京大), Satoshi Kofuji (東京医科歯科大), Hiroshi Nishina (東京医科歯科大), Atsuo Miyazawa, Nozomu Kono (東京大), Junken Aoki (東京大) : Abnormal male reproduction and embryonic development induced by downregulation of a phospholipid fatty acid-introducing enzyme Lpgat1 in zebrafish, *Scientific reports*, **12**, 7312 (2022)
- I-2 西野有里・田村佳穂・木下知奈美・宮澤淳夫 : クライオ SEM による含水生物試料の微細形態観察、日本顕微鏡学会第 78 回学術講演会 (福島)、2022
- I-3 西野有里・伊藤喜子・宮澤淳夫 : エマルションの安定化のための新しい調製技術と評価、第 4 章 第 12 節 クライオ電子顕微鏡法を用いたエマルションの観察法、13 節 観察試料のポイント : 非品質凍結について、技術情報協会、481-496 (2022)
- I-4 在原一樹 (日産自動車)・渡邊学 (日産自動車)・大間敦史 (日産自動車)・川本宇子 (日産アーク)・島貫 純一 (日産アーク)・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫 : LiB 用スラリーのマイクロ構造と電池性能との相関性解析、第 63 回電池討論会 (福岡)、2022
- I-5 杉浦輝 (阪本薬品)・村井卓也 (阪本薬品)・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫 : クライオ SEM 観察によるホイップクリームの保水性に関する構造的要因の検証、日本食品科学工学会第 70 回記念大会 (京都)、2022
- I-6 西野有里・伊藤喜子・宮澤淳夫 : クライオ SEM を用いた含水・液体試料の観察、顕微鏡, **57**, 139-144 (2022)
- I-7 Junichi Shimanuki (日産アーク), Hideto Imai (日産アーク), Yoshiko Ito, Yuri Nishino, Atsuo Miyazawa : Microstructural observation of the swollen catalyst layers of fuel cells by cryo-TEM, *Microscopy (Oxford, England)*, **8**, 60-63 (2023)
- II-1 木下知奈美・西野有里・宮澤淳夫 : 万能細胞から筋肉を作る～様々な組織になれる能力を持つ細胞を、筋肉にする方法の研究～、知の交流シンポジウム (姫路)、2022
- II-2 Chinami Kinoshita・Yuri Nishino・Atsuo Miyazawa : Generation of multilayer myotube sheets from mouse ES cells for an in vitro model of neuromuscular junction、日本顕微鏡学会若手研究部会 2022 年度シンポジウム (京都)、2022
- II-3 木下知奈美・西野有里・宮澤淳夫 : *In vitro* 神経筋接合部作製に向けた ES 細胞由来の筋管シートの作製、日本顕微鏡学会第 65 回シンポジウム (倉敷)、2022
- III-1 西田基・西野有里・宮澤淳夫 : 抗ニコチン性アセチルコリン受容体抗体 F(ab')<sub>2</sub> 結合金コロイド粒子の作製、日本顕微鏡学会第 65 回シンポジウム (倉敷)、2022
- III-2 西田基・西野有里・宮澤淳夫 : Preparation of colloidal immunogolds conjugated with anti-nicotinic acetylcholine receptor F(ab')<sub>2</sub>、日本顕微鏡学会若手研究部会 2022 年度シンポジウム (京都)、2022
- III-3 西田基・西野有里・宮澤淳夫 : 抗ニコチン性アセチルコリン受容体抗体 F(ab')<sub>2</sub> 結合金コロイド粒子の作製、技術・人材マッチング交流会 (赤穂郡)、2022

- IV-1 Makiko Kosugi (アストロバイオロジーセンター、基生研)・Masato Kawasaki (高エネ研)・Yutaka Shibata (東北大)・Kojiro Hara (秋田県立大)・Shinichi Takaichi (東京農大)・Toshio Moriya (高エネ研)・Naruhiko Adachi (高エネ研)・Yasuhiro Kamei (基生研)・Yasuhiro Kashino, Sakae Kudoh (極地研)・Hiroyuki Koike (中央大)・Toshiya Senda (高エネ研) (2022) Uphill energy transfer mechanism for photosynthesis in an Antarctic alga. *Nat Commun* **14**: 730 (<https://doi.org/10.1038/s41467-023-36245-1>)
- IV-2 Akihiro Kimura (名大)・Hirotaka Kitoh-Nishioka (近大)・Toshimichi Aota (名大)・Tasuku Hamaguchi (理研)・Koji Yonekura (理研)・Keisuke Kawakami (理研)・Kyoko Shinzawa-Itoh・Natsuko Inoue-Kashino・Kentaro Ifuku (京大)・Eiki Yamashita (阪大)・Yasuhiro Kashino・Shigeru Itoh (名大) (2022) Theoretical Model of the Far-Red-Light-Adapted Photosystem I Reaction Center of Cyanobacterium *Acaryochloris marina* Using Chlorophyll *d* and the Effect of Chlorophyll Exchange, *The Journal of Physical Chemistry B* **126(22)**: 4009-4021 (<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.2c00869>)
- IV-3 川上 恵典・伊藤 繁・菓子野 康浩 (2022) Chl *d* を持つ *Acaryochloris marina* の新型光化学系 I 複合体の構造；光合成研究 **32(2)**; 95-106
- IV-4 木村明洋 (名大)・鬼頭宏任 (近大)・青田俊道 (名大)・浜口祐 (理研)・米倉功治 (理研)・川上恵典 (理研)・新沢(伊藤)恭子・井上(菓子野)名津子・伊福健太郎 (京大)・菓子野康浩・山下栄樹 (阪大)・伊藤繁 (名大) (2022) クロロフィル *d* を持つ遠赤色光型反応中心 *A. marina* PSI の光捕集機構に関する理論解析:クロロフィル *a*-型 PSI との比較、日本物理学会講演概要集(CD-ROM) 7(1)
- IV-5 小杉真貴子 (アストロバイオロジーセンター、基生研)・川崎政人 (高エネ研)・柴田穰 (東北大)・原光二郎 (秋田県立大)・高市真一 (東京農大)・安達成彦 (高エネ研)・守屋俊夫 (高エネ研)・亀井保博 (基生研)・菓子野康浩・工藤栄 (極地研)・小池裕幸 (中央大)・千田俊哉 (高エネ研) (2022) ナンキョクカワノリに見つかった新規遠赤色光吸収型アンテナ蛋白質の構造と機能；第 34 回カロテノイド研究談話会、関西学院大学、2022 年 9 月 17、18 日
- IV-6 木村明洋 (名大)・鬼頭宏任 (近大)・青田俊道 (名大)・浜口祐 (理研)・米倉功治 (理研)・川上恵典 (理研)・新沢-伊藤恭子・井上-菓子野名津子・伊福健太郎 (京大)・菓子野康浩・山下栄樹 (阪大)・伊藤繁 (名大) (2022) クロロフィル *d* を持つ *A. marina* PSI に関する遠赤色光の光捕集機構解明：色素交換仮想実験による *T. elongatus* PSI との機能的差異；第 29 回「光合成セミナー2022」、2022 年 6 月 25 日、名工大 (オンライン開催)
- IV-7 小杉真貴子 (アストロバイオロジーセンター、基生研)・川崎政人 (高エネ研)・柴田穰 (東北大)・原光二郎 (秋田県立大)・高市真一 (東京農大)・安達成彦 (高エネ研)・守屋俊夫 (高エネ研)・亀井保博 (基生研)・菓子野康浩・小池裕幸 (中央大)・千田俊哉 (高エネ研) (2022) 南極藻類に見つかったアップヒル型励起エネルギー移動による遠赤色光利用メカニズム；第 22 回日本蛋白質科学会年会、2022 年 6 月 7-9 日、つくば国際会議場
- IV-8 木村明洋 (名大)・鬼頭宏任 (近大)・青田俊道 (名大)・浜口祐 (理研)・米倉功治 (理研)・川上恵典 (理研)・新沢-伊藤恭子・井上-菓子野名津子・伊福健太郎 (京大)・菓子野康浩・山下栄樹 (阪大)・伊藤繁 (名大) (2022) 遠赤色光型反応中心 *A. marina* PSI の光捕集におけるクロロフィル *d* の役割：クロロフィル *a* を持つ *T. elongatus* PSI との比較；第 12 回日本光合成学会年会およびシンポジウム、2022 年 5 月 20-21 日、東工大 (オンライン開催)

- V-1 Hidetoshi Inoue (NITE) ・ Kumiko Tajima (NITE) ・ Cristina Mitsumori (NITE) ・ Natsuko Inoue-Kashino ・ Takamasa Miura (NITE) ・ Kentaro Ifuku (京大) ・ Ryuichi Hirota (広大) ・ Yasuhiro Kashino ・ Katsutoshi Fujita (NITE) , Hiroshi Kinoshita (NITE) (2022) Biodiversity risk assessment of genetically modified *Chaetoceros gracilis* for outdoor cultivation, *The Journal of General and Applied Microbiology* **68(3)**: 151-162 (doi 10.2323/jgam.2021.11.001)
- V-2 熊沢穰 (京大) ・ 西出浩世 (基生研) ・ 長尾遼 (岡大) ・ 井上(菓子野)名津子 ・ 沈建仁 (岡大) ・ 中野雄司 (京大) ・ 内山郁夫 (基生研) ・ 菓子野康浩 ・ 伊福健太郎 (京大) (2022) 珪藻の集光性色素タンパク質の分子系統と多様性; 光合成研究 **32(1)** 18-24
- V-3 藍川晋平 (国際農林水産研) ・ 菓子野康浩 ・ 秋本誠志 (神戸大) ・ 植野嘉文 (東京理科大) ・ 和泉自泰 (九大) ・ 小杉昭彦 (国際農林水産研) (2023) 光質・光量が藍藻・微細藻の光合成におよぼす影響; 第 70 回 日本生態学会大会、2023 年 3 月 17-21 日、仙台 (オンライン開催)
- V-4 菓子野康浩 (2023) 光合成研究から発展する珪藻バイオマス産業; 鹿児島連大 分野別セミナー(農芸化学分野)、2023 年 3 月 2 日、佐賀大
- V-5 Minoru Kumazawa (京大) ・ Hiroyo Nishide (基生研) ・ Ryo Nagao (岡大) ・ Natsuko Inoue-Kashino ・ Ikuo Uchiyama (基生研) ・ Yasuhiro Kashino ・ Jian-Ren Shen (岡大) ・ Takeshi Nakano (京大) ・ Kentaro Ifuku (京大) (2022) Molecular characterization of fucoxanthin-chlorophyll a/c proteins in the diatom *Chaetoceros gracilis*: the unique diversification process of the light-harvesting complexes in red-algal lineage ; International Congress on Photosynthesis Research 2022、2022 年 7 月 31-8 月 21 日、New Zealand
- V-6 熊沢穰 (京大) ・ 石川規子 (京大) ・ 辻祥子 (京大) ・ 井上(菓子野)名津子 ・ 菓子野康浩 ・ 伊福健太郎 (京大) (2022) ゲノム編集によるツノケイソウ *Lhcx1* 遺伝子の機能破壊と表現型解析; 第 12 回日本光合成学会年会およびシンポジウム、2022 年 5 月 20-21 日、東工大 (オンライン開催)

## 生命科学専攻

### 博士後期課程

大石鴻一郎: アセチルコリン受容体の分子内運動解析

### 博士前期課程

小畑由紀子: ポストシナプスにおけるアセチルコリン受容体の分子動態解析

上野真悠子: 光化学系 II 複合体の構築過程の研究

木下知奈美: 幹細胞を用いた *in vitro* 神経筋接合部形成の研究

西田基: タンパク質標識金コロイド粒子の作製研究

## 科学研究費補助金等

### 1 文部科学省科学研究費補助金 (学術変革領域研究 (学術研究支援基盤形成))

令和 4 年度～令和 10 年度

研究課題 先端バイオイメージング支援プラットフォーム

研究代表者 鍋倉 淳一 (生理学研究所)

分担研究者 宮澤淳夫

- 2 共同研究 トヨタ自動車（株） 令和4年度  
研究課題 溶液中高分子のナノ構造観察に関する研究  
研究担当教員 宮澤淳夫、西野有里
  
- 3 共同研究 日産自動車（株） 令和4年度  
研究課題 リチウムイオン電池材料の構造観察に関する研究  
研究担当教員 宮澤淳夫、西野有里
  
- 4 共同研究 阪本薬品工業（株） 令和4年度  
研究課題 ホイップクリームの構造に及ぼすポリグリセリン脂肪酸エステルの添加効果  
研究担当教員 宮澤淳夫、西野有里
  
- 5 共同研究 日産化学（株） 令和4年度  
研究課題 幹細胞培養用培地・保存液の開発  
研究担当教員 宮澤淳夫、西野有里
  
- 6 国立極地研究所共同研究 令和4年度～令和5年度  
研究課題 極域の光合成生物の生理応答機構の解析  
研究代表者 菓子野康浩
  
- 7 独立行政法人 科学技術振興機構(JST)先端的低炭素化技術開発(ALCA) 令和元年度～  
研究課題 亜リン酸を用いたロバスト且つ封じ込めを可能とする微細藻類の培養技術開発  
研究代表者 廣田隆一（広島大学）、分担研究者 菓子野康浩
  
- 8 文部科学省科学研究費補助金（基盤B） 令和2年度～令和4年度  
研究課題 実用モデル珪藻の光環境応答・適応機構の最適化  
研究代表者 伊福健太郎（京都大学）、分担研究者 菓子野康浩
  
- 9 ひめしん研究開発支援助成金 令和4年度  
研究課題 持続可能社会実現のための珪藻由来機能性食品の開発  
研究代表者 山下和彦（ヤエガキ醗酵技研株式会社）、分担研究者 菓子野康浩
  
- 10 共同研究 （株）日本海水 令和4年度  
研究課題 珪藻を用いた事業的有用物質生産  
研究タント教員 菓子野康浩
  
- 11 兵庫県立大学 特別研究プロジェクト 令和4年度  
研究課題 藻類・水生植物バイオフィアウンダーの構築と計算科学によるそのDX促進  
研究代表者 武尾正弘（兵庫県立大学大学院工学研究科）、分担研究者 菓子野康浩