

## I 含水試料観察のための低温電子顕微鏡法に関する研究

Study of electron microscopy for observation of intracellular proteins

西野有里・福永優子・菓子野康浩・宮澤淳夫

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

組織や細胞のように水を多く含む試料の微細構造を観察するためには、試料を急速凍結して凍結状態のまま観察する低温電子顕微鏡法が有効である。現在までに報告例の少ない低温走査型電子顕微鏡法を用いた含水試料観察法の可能性について検討した結果、組織や細胞に加えて幅広い含水材料の溶液中での構造観察が可能であることが分かった。

## II 神経筋接合部における情報伝達機構の研究

Study of signal transduction at the neuromuscular junction

西野有里・福永優子・菓子野康浩・宮澤淳夫

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

ニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) は、神経筋接合部での情報伝達において重要な役割を担っているタンパク質であり、nAChR のリガンド依存的なチャンネル開閉機構を明らかにすることは神経筋接合部における情報伝達機構を解明する上で重要な課題である。そこで、アセチルコリン受容体を含むスーパーファミリーの分子内運動を、高速 X 線一分子追跡法を用いて解析し、種々の条件における受容体の分子内運動を明らかにした。

## III 中枢神経系におけるグルタミン酸受容体の細胞内局在と機能に関する研究

Localization and function of glutamate receptors in the central nervous system

福永優子・菓子野康浩・西野有里・宮澤淳夫

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

NMDA 型グルタミン酸受容体は、中枢神経系ではシナプス内・外の両方に存在している。これら局在場所の異なる NMDA 受容体は細胞運命において異なる調節作用をもつ。そこで、細胞運命

の調節機構を明らかにするため、これら受容体間の相互作用について検討を行った。その結果、これら受容体が相互作用しており、シナプス外 NMDA 受容体の刺激により、シナプス内 NMDA 受容体を介する細胞生存促進作用に可塑的变化が起こることを明らかにした。

## 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・福永優子・西野有里・宮澤淳夫

Kashino, Y., Fukunaga, 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ふた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。また光化学系 II の D1 タンパク質上の Asp-61 のアミノ酸を他のアミノ酸に置換することによる Mn クラスターへの影響を解析し、このアミノ酸の酸素発生反応に対する機能の解明を進めた。

## V 珪藻についての生理・生化学的研究

Physiological and biochemical study on diatom

菓子野康浩・福永優子・西野有里・宮澤淳夫

Kashino, Y., Fukunaga, 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が、その堅い珪酸質の被殻のために、生理生化学的研究は限定的であった。本研究では、珪藻の光合成について生理生化学的解析を進め、珪藻類が光環境に応じてアンテナを柔軟に調節することにより、ふたつの光化学系の励起バランスを調整していることが分かった。

また、珪藻類は光合成産物を油滴として蓄積する。増殖と油滴蓄積に関する各種の環境要因の影響を詳細に検討した。そして、その油滴の産業利用を目指し、蒸気エジェクターの油脂回収への効果を評価した。

### 発表論文 List of Publications

- I-1 Yoshiko Ito, Robert Ranner (Leica Microsystems), Saskia Mimietz-Oeckler (Leica Microsystems) Yuri Nishino and Atsuo Miyazawa: Development of a cryo-SEM system enabling direct observation of the cross sections of an emulsion adhesive in a moist state during the drying process. *Microscopy*, 64, 459-463 (2015)

- I-2 神垣隆道（雪印メグミルク）・砂守このみ（雪印メグミルク）・武藤高明（雪印メグミルク）・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：凍結超薄切片法を用いた電子顕微鏡による牛乳の微細構造観察、日本顕微鏡学会第 71 回学術講演会（京都）、2015 年
- I-3 島貫純一（日産アーク）・荒尾正純（日産アーク）・高橋真一（日産自動車）・佐藤和之（日産自動車）・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：Cryo-SEM 法および 3D-SEM を用いた燃料電池触媒層の微細構造解析、日本顕微鏡学会第 71 回学術講演会（京都）、2015 年
- I-4 Yoshiko Ito, Ayumi Ishihara, Yuri Nishino and Atsuo Miyazawa : Development of a cryo-SEM system enabling direct observation of the cross-sectional surface of an emulsion adhesive in frozen-hydrated state, 2nd East-Asia Microscopy Conference (姫路), 2015 年
- I-5 島貫純一（日産アーク）・高橋真一（日産自動車）・當麻肇（日産アーク）・大間敦史（日産自動車）・石原あゆみ・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：Cryo-SEM 法および Cryo-TEM 法を用いた燃料電池触媒インクの微細構造観察、第 56 回電池討論会（名古屋）、2015 年
- I-6 高橋真一（日産自動車）・島貫純一（日産アーク）・眞塩徹也（日産自動車）・大間敦史（日産自動車）・當麻肇（日産アーク）・石原あゆみ・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：燃料電池触媒インクの構造形成におけるアイオノマの影響、第 56 回電池討論会（名古屋）、2015 年
- I-7 Yoshiko Ito, Ayumi Ishihara, Yuri Nishino and Atsuo Miyazawa : Cryo-SEM workflow enabling direct observation of the wide cross-sectional surface of an emulsion adhesive in frozen-hydrated state, 日本顕微鏡学会 生体解析分科会 2015 年度研究会 (Austria Vienna), 2016 年
- II-1 関口博史（JASRI）・西野有里・Christele Huron（Pasteur Institute）、Jean-Pierre Changeux（Pasteur Institute）、池崎圭吾（東京大）、Pierre-Jean Corringer（Pasteur Institute）、久保泰（AIST）、宮澤淳夫、佐々木裕次（東京大）：X 線 1 分子追跡法による 5 量体リガンド依存性イオンチャネルの機能的分子内運動解析、第 15 回日本蛋白質科学会年会（徳島）、2015 年
- II-2 Atsuo Miyazawa, Yuri Nishino, Hiroshi Sekiguchi（JASRI）, Tai Kubo（AIST） and Yuji C. Sasaki（東京大）：Study of ligand-dependent single molecule dynamics of nicotinic acetylcholine receptor、第 38 回日本神経科学大会（神戸）、2015 年
- II-3 Hiroshi Sekiguchi（JASRI）, Yufuku Matsushita（東京大）, Yuri Nishino, Keigo Ikezaki（東京大）, Atsuo Miyazawa, Tai Kubo（AIST）, Naoto Yagi（JASRI）, Christele Huron（Pasteur Institute）, Jean-Pierre. Changeux（Pasteur Institute）, Pierre-Jean Corringer（Pasteur Institute） and Yuji C. Sasaki（東京大）：Single Molecule Motion Map of Pentameric Ligand Gated Ion Channel by Diffracted X-ray Tracking, 29th Annual Symposium of the Protein-Society（Spain Barcelona）, 2015 年
- II-4 Yuri Nishino, Hiroshi Sekiguchi（JASRI）, Atsuo Miyazawa and Yuji C. Sasaki（東京大）：Toward understanding ligand-gated ion channels -Potential of diffracted X-ray tracking and atomic resolution holography, The 53rd Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan（金沢）、2015 年
- III-1 Yuko Fukunaga, Eri Nakajima, Erika Hatano, Sayaka Itoh, Yasuhiro Kashino, Atsuo Miyazawa: Activation of NMDA receptors thickens the postsynaptic density via proteolysis. Neuroscience Research 101, 6-14 (2015)

- III-2 福永優子・豊島正之・江頭舞・菓子野康浩・西野有里・宮澤淳夫：シナプス超微細構造とシナプス NMDA 受容体を介する CREB リン酸化との関連性、第 38 回日本神経科学大会（神戸）、2015 年
- IV-1 上田和世(岡山大)・黒田洋詩(岡山大)・兒玉なつ美(岡山大)・菓子野康浩・高橋裕一郎(岡山大)：光化学系 II の D1 タンパク質上の Asp-61 の アミノ酸置換による酸素発生活性への影響の解析、第 57 回日本植物生理学会年会（盛岡）、2016 年
- V-1 Tomoko Ishihara: Functional analysis of light harvesting complexes of diatom（石原知子、学位論文）、2016 年
- V-2 Tomoko Ishihara, Kentaro Ifuku（京都大）, Eiki Yamashita（大阪大）, Yuko Fukunaga, Yuri Nishino, Atsuo Miyazawa, Yasuhiro Kashino, and Natsuko Inoue-Kashino: Utilization of light by fucoxanthin–chlorophyll-binding protein in a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis*. *Photosynthesis Research*, 126, 437-447, 2015 年
- V-3 Sakae Kudoh（国立極地研）, Kunio T. Takahashi（国立極地研）, Tomoko Ishihara, Megumu Tsujimoto（国立極地研）, Ryosuke Nakai（国立遺伝研）, Atsushi C. Suzuki（慶応大）, Yukiko Tanabe（国立極地研）, Masaki Uchida（国立極地研）, Satoshi Imura（国立極地研）： Meteorological data from ice-free areas in Yukidori Zawa, Langhovde, Kizahashi Hama, Skarvsnes and Skallen in Sôya Coast, East Antarctica during 2014–2015, JARE Data Reports, No. 339 (Terrestrial Biology 11), 1-6 (2015)
- V-4 Sakae Kudoh（国立極地研）, Kunio T. Takahashi（国立極地研）, Tomoko Ishihara, Megumu Tsujimoto（国立極地研）, Ryosuke Nakai（国立遺伝研）, Atsushi C. Suzuki（慶応大）, Yukiko Tanabe（国立極地研）, Masaki Uchida（国立極地研）, Satoshi Imura（国立極地研）： Limnological parameters in Sôya Coasts lakes between the 55th and 56th Japanese Antarctic Research Expeditions in 2014–2015 —Long-term monitoring study—, JARE Data Reports, No. 344 (Terrestrial Biology 14), 1-7 (2015)
- V-5 Yasuhiro Kashino, Renewable Energy from Micro Algae: SATREPS Special International Conference on Biomass Energy, I-site Osaka Prefecture University（大阪）, 2016 年
- V-6 福田有里（京都大）・山野隆志（京都大）・伊福健太郎（京都大）・菓子野康浩・福澤秀哉（京都大）：珪藻 *Chaetoceros gracilis* における無機炭素濃縮機構の解析、第 2 回分子珪藻研究会(大阪)、2015 年
- V-7 菓子野康浩：珪藻を用いた燃料および有用物質生産、次世代水素触媒共同研究センター平成 27 年度成果報告シンポジウム、姫路商工会議所（姫路）、2015 年
- V-8 Atsunori Masuda, Mari Sasase, Yasuhiro Kashino: Generation of Diatom Factory through Physiomics Toward a Novel Energy Source. ”Fundamental research for large scale culture technology”, SATREPS Special International Conference on Biomass Energy, I-site Osaka Prefecture University (Osaka), 2016 年
- V-9 Tomoko Ishihara, Natsuko Inoue-Kashino, Kentaro Ifuku（京都大）, Yuko Fukunaga, Yuri Nishino, Atsuo Miyazawa, Yasuhiro Kashino: Functional structure of light harvesting protein complex in *Chaetoceros gracilis*, Short Period Student Exchange Program with Dong-A University, Hyogo, 2015 年

- V-10 Yasuhiro Kashino, Ryoya Takeda, Yuko Fukunaga, Yuri Nishino and Atsuo Miyazawa: Unique kinetic process of triglyceride production in a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis*", Molecular Life of Diatoms 2015 (Seattle, USA), 2015 年
- V-11 Natsuko Inoue-Kashino, Shimpei Aikawa, Kumiko Fujimoto, Tomoko Ishihara, Kentaro Ifuku (京都大), Sakae Kudoh (国立極地研), Kazuhiko Satoh, Yuichiro Takahashi and Yasuhiro Kashino: Acclimation strategy to light/shade environments in diatom", Molecular Life of Diatoms 2015 (Seattle, USA), 2015 年
- V-12 Kentaro Ifuku (京都大), Dongyi Yan (京都大), Mado Miyahara (京都大), Natsuko Inoue-Kashino, Yoshiharu Yamamoto (京都大), Yasuhiro Kashino: A stable and efficient transformation system for the diatom *Chaetoceros gracilis*, Molecular Life of Diatoms 2015 (Seattle, USA), 2015 年
- V-13 Tomoko Ishihara, Natsuko Inoue-Kashino, Kentaro Ifuku (京都大), Yuko Fukunaga, Yuri Nishino, Atsuo Miyazawa, Yasuhiro Kashino: Functional structure of light harvesting protein complex in *Chaetoceros gracilis*, Molecular Life of Diatoms 2015 (Seattle, USA), 2015 年
- V-14 伊藤和宏・前田光治・菓子野康浩・伊福健太郎(京都大)・藤田永治(イーエス・テクノロジー社)・山本拓司・新船幸二: 珪藻由来のバイオ燃料生産に向けた蒸気エジェクターによる水熱処理、日本混相流学会混相流シンポジウム(高知)、2015 年
- V-15 樋口哲哉・伊藤和宏・菓子野康浩・伊福健太郎(京都大)・藤田永治(イーエス・テクノロジー社)・前田光治・山本拓司・新船幸二: 蒸気エジェクターの水熱反応による珪藻培養液からの油分分離、化学工学会第 47 回秋季大会(札幌)、2015 年
- V-16 樋口哲也・伊藤和宏・前田光治・山本拓司・新船幸二・菓子野康浩・伊福健太郎(京都大)・藤田永治(イーエス・テクノロジー社): 蒸気エジェクターを用いた珪藻培養液からのバイオディーゼル回収、兵庫県立大学知の交流シンポジウム(姫路)、2015 年

## 科学研究費補助金等

- 1 文部科学省科学研究費補助金(基盤研究 C) 平成 26~28 年度  
研究課題 培養シナプスモデルを用いた神経筋接合部の形態と機能に関わる分子メカニズムの解析  
研究代表者 宮澤淳夫
- 2 文部科学省科学研究費補助金(新学術領域研究(研究領域提案型)) 平成 26~30 年度  
研究課題 バイオロジーにおける 3D 活性サイト科学  
研究代表者 佐々木裕次(東京大学)、分担研究者 宮澤淳夫
- 3 共同研究 雪印メグミルク(株) 平成 27 年度  
研究課題 乳および乳製品の電子顕微鏡による微細構造観察  
研究担当教員 宮澤淳夫
- 4 共同研究 シスメックス(株) 平成 27 年度  
研究課題 電子顕微鏡を活用した免疫試薬の品質評価手法の確立  
研究担当教員 宮澤淳夫

- 5 共同研究 トヨタ自動車(株) 平成 27 年度  
研究課題 凍結観察によるスラリーサンプルの観察技術の検討  
研究担当教員 宮澤淳夫
- 6 共同研究 資生堂(株) 平成 27 年度  
研究課題 ソフトマテリアルの凍結法の検討  
研究担当教員 宮澤淳夫
- 7 公益財団法人兵庫県立大学科学技術後援財団教育研究助成 平成 27 年度  
研究課題 神経シナプスの形態変化が神経保護作用に及ぼす影響  
研究代表者 福永優子
- 8 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)  
-バイオテクノロジー分科会-  
研究課題 珪藻のフィジオロミクスに基づく褐色のエネルギー革命  
研究代表者 菓子野康浩
- 9 国立極地研究所共同研究 平成 25～27 年度 課題番号：25-24  
研究課題 好冷性微細藻類の脂質に関する研究  
研究代表者 菓子野康浩
- 10 文部科学省科学研究費補助金（基盤研究(C)） 平成 27～29 年度  
研究課題 光化学系 2 複合体の構築過程の解明  
研究代表者 菓子野康浩
- 11 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）「新エネルギーベンチャー技術革新事業」 フェーズ A 平成 26 年～27 年、フェーズ B 平成 27 年～28 年  
研究課題 「珪藻を主軸とした低炭素社会実現のための大規模培養からバイオ燃料生産に至る技術開発」  
実施機関 イーエス・テクノロジー株式会社、公立大学法人兵庫県立大学、国立大学法人京都大学  
兵庫県立大学業務管理者 菓子野康浩