

## 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・菓子野康浩・宮澤淳夫

Nishino, 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。液体窒素冷却ステージを用いた低温走査型電子顕微鏡法や液体ヘリウムを用いて 4K での観察が可能な極低温透過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を行った結果、組織や細胞だけでなく幅広い含水材料の凍結溶液中での構造観察が可能であることが分かった。

## II ニコチン性アセチルコリン受容体を介したシナプス情報伝達機構の研究

Study of synaptic signal transduction by nicotinic acetylcholine receptors

西野有里・菓子野康浩・宮澤淳夫

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

ニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) は、神経筋接合部や神経シナプスでの情報伝達に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ネル開閉機構やシナプスにおける分子局在を明らかにすることはシナプス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、神経筋接合部ポストシナプスの培養細胞モデルを用いて nAChR の分子局在を、共焦点レーザースキャン顕微鏡と走査型電子顕微鏡を利用した相関顕微鏡法によって解析し、シナプス形成時の nAChR の動態について解明を進めた。

## III 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

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。

## IV 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・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仕組みの解析を進めた。

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。その一環として、二酸化炭素は光合成の重要な基質の一つであるが、珪藻細胞の増殖速度や油脂蓄積量の二酸化炭素濃度依存性を検証した。そして、その特質を温暖化抑止に利用し、社会実装を目指して野外での大量培養技術の構築に努めるとともに、その油滴を低エネルギー投入で回収するための技術開発を行った。

### 発表論文 List of Publications

- I-1 Yuri Nishino : Improved Cryo-scanning Electron Microscopy for Hydrated Cross-sectional Imaging of Biological Specimens. RSC/UH/UL Mini-Symposium (佐用)、2016 年
- I-2 Yuri Nishino, Ayumi Ishihara, Yoshiko Ito, Atsuo Miyazawa : Technical development of cryo-SEM workflow for direct observation of a hydrated emulsion adhesive. 11th Asia-Pacific Microscopy Conference (Thailand Phuket)、2016 年
- I-3 貝瀬 瑞穂・西野 有里・伊藤 喜子・西居 加奈(資生堂)・吉川 徳信(資生堂)・宮澤 淳夫 : 含水試料をクライオ SEM で観察するための急速凍結法の検討、日本顕微鏡学会第 72 回学術講演会(仙台)、2016 年
- I-4 西野有里・宮澤淳夫 : クライオ SEM で見える新しい世界、第 27 回電顕サマースクール(京都)、2016 年
- I-5 Shinichi Takahashi (日産自動車), Junichi Shimanuki (日産アーク), Tetsuya Mashio (日産自動車), Atsushi Ohma (日産自動車), Hajime Tohma (日産アーク), Ayumi Ishihara, Yoshiko Ito, Yuri Nishino, Atsuo Miyazawa : Dispersion of ionomer in catalyst ink of polymer electrolyte fuel cell visualized by cryogenic transmission electron microscopy, PRiME 2016 (U.S.A. Honolulu)、2016 年
- I-6 Toshihiko Yoshida (東工大), Hidekazu Sugimori (技術研究組合 FC-Cubic), Atso Miyazawa, Hidetoshi Matsumoto (東工大), Yuichi Konosu (東工大), Takashi Sasabe (東工大), Suguru Uemura (東工大), Takeshi Terao (FC-Cubic), Yuki Kameya (東工大), Makoto Yamaguchi

- (FC-Cubic), Nori Iriguchi (東工大), Kazuhiko Shinohara (FC-Cubic), Shuichiro Hirai (東工大) : Time-Resolved Nanostructural Analysis of Thin-Film Formation Process from Nafion Solution by Synchrotron X-ray Scattering, PRiME 2016 (U.S.A. Honolulu)、2016年
- I-7 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:燃料電池触媒層構造形成過程の可視化および解析、第57回電池討論会(千葉)、2016年
- I-8 Shinichi Takahashi (日産自動車), Junichi Shimanuki (日産アーク), Tetsuya Mashio (日産自動車), Atsushi Ohma (日産自動車), Hajime Tohma (日産アーク), Ayumi Ishihara, Yoshiko Ito, Yuri Nishino, Atsuo Miyazawa : Observation of ionomer in catalyst ink of polymer electrolyte fuel cell using cryogenic transmission electron microscopy, *Electrochimica Acta*, 224, 178-185, 2017年
- I-9 Mizuho Kaise, Yuri Nishino, Kanako Miyazaki, Yoshiko Ito, Kana Nishii (Shiseido), Kei Kubobuchi (Shiseido), Norinobu Yoshikawa (Shiseido), Yasuhiro Kashino, Atsuo Miyazawa : Comparison of rapid freezing methods to observe hydrated specimens by cryo-electron microscopy. The Annual Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo for the School Year of 2016 (佐用)、2017年
- III-1 菓子野康浩 : 膜蛋白質と界面活性剤、第一回光合成道場、京都、2017年12月9日
- IV-1 Hiromi Tokushima, Natsuko Inoue-Kashino, Yukine Nakazato, Atsunori Masuda (玉川大学), Kentaro Ifuku (京都大学) and Yasuhiro Kashino : Advantageous characteristics of the diatom *Chaetoceros gracilis* as a sustainable biofuel producer, *Biotechnol Biofuels* 9: 235, 2016.
- IV-2 菓子野康浩 : ダイアトムファクトリー -珪藻の機能を活用するバイオフィクトリー -、BioJapan2016、横浜、2016.10.12-2016.10.14
- IV-3 Yasuhiro Kashino : Diatom Factory - Biofactory that utilize biofunction of diatom, ChemEng Seminar, Curtin University, Perth, Australia, 27 October, 2017
- IV-4 Rui Yamasaki, Yuri Nishino, Atsuo Miyazawa, Yasuhiro Kashino : Analysis of Triacylglycerol Metabolism in a Marine Centric Diatom, *Chaetoceros gracilis*, The Annual Evaluation Conference of the Leading Program, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, 13 - 14 March, 2017.
- IV-5 都筑功、伊藤和宏、菓子野康浩、伊福健太郎、山本拓司、前田光治 : ベンチュリ管式マイクロバブル発生装置が珪藻細胞の破壊と濃縮に及ぼす影響、第19回化学工学会学生発表会、大阪大学豊中キャンパス、大阪、2017年3月4日
- IV-6 伊福健太郎、閻東怡、西出浩世、山本義治、内山郁夫、菓子野康浩 : 実用珪藻 *Chaetoceros gracilis* のバイオフィクトリー化に向けた基盤技術の開発、日本農芸化学会2017年度京都大会、京都、2017年3月19日
- IV-7 出願番号 : 特願 2016-547436、出願日 : 2017年1月20日、発明の名称 : 「珪藻の新規形質転換ベクター、その含有する新規プロモーター配列」、発明者 : 「伊福健太郎、菓子野康浩、福澤秀哉、梶川昌孝、小川順」、発明者所属 : 「兵庫県立大学、京都大学生命科学研究科、京都大学農学研究科」、出願人 : 兵庫県立大学
- IV-8 出願番号 : 特願 2017-038278、出願日 : 2017年3月1日、発明の名称 : 「有用物質回収方法及び有用物質回収装置」、発明者 : 「菓子野康浩・伊藤和宏・前田光治・伊福健太郎」、発明者所属 : 「兵庫県立大学・京都大学」、出願人 : 「兵庫県立大学・京都大学」

## 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 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）学術研究支援基盤形成）  
平成 28～33 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 狩野方伸（生理学研究所）、分担研究者 宮澤淳夫
- 4 文部科学省科学研究費補助金（若手 B） 平成 28～30 年度  
研究課題 アセチルコリン受容体のリガンド依存的構造変化の動的な解明  
研究代表者 西野有里
- 5 共同研究 雪印メグミルク(株) 平成 28 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
- 6 共同研究 シスメックス(株) 平成 28 年度  
研究課題 先端バイオイメージング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
- 7 共同研究 トヨタ自動車(株) 平成 28 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
- 8 共同研究 資生堂(株) 平成 28 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
- 9 共同研究 日産自動車(株) 平成 28 年度  
研究課題 電気化学デバイス用スラリーの構造に関する研究  
研究担当教員 宮澤淳夫
- 10 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)  
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
- 11 国立極地研究所共同研究 平成 25～27 年度 課題番号：28-35

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

12 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

13 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