

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 cryo-electron microscopy for hydrated samples

西野有里・菓子野康浩・宮澤淳夫

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

細胞やタンパク質をはじめとした含水試料の微細構造を脱水による変形のない状態で観察するためには、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。様々な含水・液体試料について、低温透過型電子顕微鏡法および低温走査型電子顕微鏡法による観察の可能性を検討した結果、含水試料だけでなく、有機溶媒中のカーボン粒子や油脂結晶など、様々な液体試料についても観察できることが明らかになった。

II 神経筋接合部におけるニコチン性アセチルコリン受容体と筋特異的受容体チロシンキナーゼの分子動態解析

Molecular dynamics of nicotinic acetylcholine receptor and muscle specific kinase at the neuromuscular junction

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 (NMJ) 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) が集積して存在することにより効率の良い情報伝達が行われている。nAChR の集積機構を明らかにするために、NMJ ポストシナプスの培養細胞モデルを用いて、nAChR および nAChR の集積に関わることが知られている筋特異的受容体チロシンキナーゼ (MuSK) の蛍光タイムラプス観察を行った後、細胞内に取り込まれた nAChR と MuSK の分子局在を電子顕微鏡を用いて解析した。

III リガンド依存的なニコチン性アセチルコリン受容体の分子内運動解析

Ligand-dependent intramolecular dynamics of nicotinic acetylcholine receptor

西野有里・菓子野康浩・宮澤淳夫
Nishino, Y., Kashino, Y., Miyazawa, A.

nAChR は、NMJ 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ンネル開閉機構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。また、nAChR の活性は生体中では周囲の環境によって調節されていることが示されている。そこで、nAChR が生きている細胞に存在した状態で、リガンド依存的な分子内運動を X 線 1 分子追跡法を用いて解析し、リガンド依存的な回転運動を捉えることができた。

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。クロロフィル *d* を主要色素とする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。珪藻の光化学系 II 複合体の構造を解明した。また、光合成電子伝達によって生産される還元力を他の反応に利用する系の開発にも取り組んだ。

V 珪藻についての生理・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た。その一環として、野外の解放系で汚水を使った培養技術開発を進めるとともに、大量培養後の細胞から有用物質を回収するための低コストで簡便な技術開発にも取り組んだ。

発表論文 List of Publications

- I-1 神垣隆道 (雪印メグミルク) ・塩田誠 (雪印メグミルク) ・泉井亮太 (雪印メグミルク) ・伊藤喜子、西野有里、宮澤淳夫、クライオ透過型電子顕微鏡を用いた W/O エマルションの油脂結晶観察、第 74 回日本顕微鏡学会学術講演会 (久留米)、2018
- I-2 島貫 純一 (日産アーク) ・高橋 真一 (日産自動車) ・大間 敦史 (日産自動車) ・今井 英人 (日産アーク) ・伊藤 喜子、西野 有里、宮澤 淳夫、Cryo-SEM 法を用いた燃料電池触媒インク塗膜の乾燥過程における 微細構造解析、第 74 回日本顕微鏡学会学術講演会 (久留米)、2018
- I-3 T. Kamigaki (雪印メグミルク), Y. Ito, Y. Nishino, A. Miyazawa, Microstructural observation of casein micelles in milk by cryo-electron microscopy of vitreous sections (CEMOVIS), *Microscopy*, 67, 164-170 (2018)
- I-4 M. Shiota (雪印メグミルク), T. Kamigaki (雪印メグミルク), R. Wakui (雪印メグミルク), Y. Ito, Y. Nishino, A. Miyazawa, Nanostructured Fat Crystal and Solid Fat Content Effects on the Physical Properties of Water-in-Oil Semisolid Fat Blends, *Journal of oleo science*, 67, 829-837 (2018)
- I-5 M. Watanabe-Takahashi (同志社大), S. Yamasaki (大阪府立大), M. Murata (東京大), F. Kano (東京工業大), J. Motoyama (同志社大), J. Yamate (大阪府立大), J. Omi (同志社大), W. Sato (同志社大), H. Ukai (同志社大), K. Shimasaki (同志社大), M. Ikegawa (同志社大), M. Tamura-Nakano (国立国際医療研究所センター), R. Yanoshita (帝京平成大), Y. Nishino, A. Miyazawa, Y. Natori (岩手医療大), N. Toyama-Sorimachi (国立国際医療研究所センター), K. Nishikawa (同志社大), Exosome-associated Shiga toxin 2 is released from cells and causes severe toxicity in mice, *Scientific reports*, 8, 10776 (2018)
- I-6 T. Kamigaki (雪印メグミルク), T. Hanazawa (雪印メグミルク), Y. Ito, Y. Nishino, A. Miyazawa, Immunoelectron microscopic observation of b-lactoglobulin in paneer cheese using the Tokuyasu method, *Milk Science*, In press
- II-1 大石鴻一郎・西野有里・宮澤淳夫：大腸菌に対する金結晶標識法に向けた金処置の影響についての検討、第 74 回日本顕微鏡学会学術講演会 (久留米)、2018
- II-2 Y. Nishino, M. Kaise, A. Miyazawa, Molecular distribution analysis of nicotinic acetylcholine receptor and MuSK on the cell surface by correlative fluorescent microscopy and cryo-SEM, 19th International microscopy congress, Sydney, 2018
- II-3 Y. Noma, Y. Nishino, A. Miyazawa, Internalized molecular localization of nAChR and MuSK by CLEM, 19th International microscopy congress, Sydney, 2018
- III-1 大石鴻一郎・西野有里・宮澤淳夫：大腸菌に対する金結晶標識法に向けた金処置の影響についての検討、第 74 回日本顕微鏡学会学術講演会 (久留米)、2018
- IV -1 菓子野康浩「近赤外光利用型天然光化学系 II の構造と機能」アグリバイオ、3 (3); 259-262 (2019)
- IV -2 Ryo Nagao (岡山大), Fusamichi Akita (岡山大), Koji Kato (岡山大), Takehiro Suzuki (理研), Kentaro Ifuku (京大), Ikuo Uchiyama (基生研), Yasuhiro Kashino, Naoshi Dohmae (理研), Seiji Akimoto (神戸大), Naoyuki Miyazaki (阪大), Jian-Ren Shen (岡山大), Cryo-EM structures of diatom PSII-FCPII

supercomplexes, International Symposium on Photosynthesis and Chloroplast Biogenesis 2018, P1, 倉敷市民会館, Japan, 2018-11-7-10

- IV -3 Ryo Nagao (岡山大), Fusamichi Akita (岡山大), Koji Kato (岡山大), Takehiro Suzuki (理研), Kentaro Ifuku (京大), Ikuo Uchiyama (基生研), Yasuhiro Kashino, Naoshi Dohmae (理研), Seiji Akimoto (神戸大), Naoyuki Miyazaki (阪大), Jian-Ren Shen (岡山大), Cryo-EM structures of PSII-FCPII complexes in the diatom *Chaetocers gracilis*, 1st Asia-Oceania International Congress on Photosynthesis, S3-7, Beijing Friendship Hotel, China, 2018-8-19-23
- IV -4 長尾 遼 (岡山大)、秋田 総理 (岡山大)、加藤公児 (岡山大)、鈴木健裕 (理研)、伊福健太郎 (京大)、内山郁夫 (基生研)、菓子野康浩、堂前直 (理研)、秋本誠志 (神戸大)、宮崎直幸 (阪大)、沈建仁 (岡山大)、珪藻 PSII-FCPII 複合体のクライオ電顕構造解析、2pE06、第 60 回日本植物生理学会年会、2019 年 3 月 13-15 日
- IV -5 長尾 遼 (岡山大)、秋田 総理 (岡山大)、加藤公児 (岡山大)、鈴木健裕 (理研)、伊福健太郎 (京大)、内山郁夫 (基生研)、菓子野康浩、堂前直 (理研)、秋本誠志 (神戸大)、宮崎直幸 (阪大)、沈建仁 (岡山大)、クライオ電子顕微鏡による珪藻 PSII-FCPII 複合体の構造解析、第 26 回「光合成セミナー2018: 反応中心と色素系の多様性、O-9、神戸大学百年記念会館、2018 年 7 月 21-22 日
- IV -6 長尾 遼 (岡山大)、秋田 総理 (岡山大)、加藤公児 (岡山大)、鈴木健裕 (理研)、伊福健太郎 (京大)、内山郁夫 (基生研)、菓子野康浩、堂前直 (理研)、秋本誠志 (神戸大)、宮崎直幸 (阪大)、沈建仁 (岡山大)、珪藻の C2S2M2 型 PSII-FCPII 複合体のクライオ電顕構造解析、新学術領域研究「革新的光物質変換」第 2 回公開シンポジウム、P-55、岡山大学創立 50 周年記念会館、2019 年 1 月 13-14 日
- IV -7 前田皐臣、井上 (菓子野) 名津子、小谷弘哉、新澤 (伊藤) 恭子、山下栄樹、伊福健太郎、菓子野康浩「シアノバクテリア *Acaryochloris marina* の光化学系 II」、光合成分子機構の学理解明と時空間制御による革新的光 — 物質変換系の創製「第 2 回公開シンポジウム」、岡山、2019/01/13-14
- IV -8 長尾 遼 (岡山大)、秋田 総理 (岡山大)、加藤公児 (岡山大)、鈴木健裕 (理研)、伊福健太郎 (京大)、内山郁夫 (基生研)、菓子野康浩、堂前直 (理研)、秋本誠志 (神戸大)、宮崎直幸 (阪大)、沈建仁 (岡山大)、珪藻光化学系 II 膜タンパク質複合体の構造解析、日本光合成学会年会およびシンポジウム、P16、東北大学、2018 年 5 月 26-27 日
- IV -9 Makiko Kosugi (中央大), Shin-ichiro Ozawa (岡大), Rika Okamoto (中央大), Yurie Kubo (中央大), Mitsuo Iwadate (中央大), Yasuhiro Kamei (総研大、基生研), Sakae Kudoh (極地研), Yasuhiro Kashino, Yuichiro Takahashi (岡大), Shigeru Itoh (名大), Kojiro Hara (秋田県立大) and Hiroyuki Koike (中央大), Characterization and identification of the red-shifted chlorophyll binding protein of a terrestrial green alga, *Prasiola crispaharvested in Antarctica*, *International Conference on Microbial Photosynthesis*, 8 月 9-12, 2018, Vancouver
- IV -10 Makiko Kosugi (中央大), Shin-ichiro Ozawa (岡大), Rika Okamoto (中央大), Yurie Kubo (中央大), Mitsuo Iwadate (中央大), Yasuhiro Kamei (総研大、基生研), Sakae Kudoh (極地研), Yasuhiro Kashino, Yuichiro Takahashi (岡大), Shigeru Itoh (名大), Kojiro Hara (秋田県立大) and Hiroyuki Koike (中央大), An Antarctic terrestrial green alga, *Prasiola crista*, has an unique red-shifted chlorophyll binding protein which permits large uphill energy transfer, *The Ninth Symposium on Polar Science*, 12 月 4-7, 2018, 東京 (極地研)

- V -1 菓子野康浩、伊福健太郎（京大）、「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」のためのパイロットプラント完成、クリーンエネルギー、vol. 27, No. 9, pp 29-35, 2018.
- V -2 菓子野康浩 “Direct and rapid extraction/concentration technique of useful materials from large-scale micro-algal cultivation” JST「日中大学フェア&フォーラム in CHINA 208」（中国広東省広州市）2018/5/12
- V -3 Kazuhiro Itoh, Haruka Tanaka, Yasuhiro Kashino, Kentaro Ifuku（京大）, Kouji Maeda and Takuji Yamamoto, "Triacylglycerol Condensation from Microalga using Venturi Tube Type Microbubble Generator" The 24th International Joint Seminar between Dong-A University and University of Hyogo October 24 – 27, 2018 Himeji, Japan
- V 4 菓子野 康浩「低コストで珪藻を大量培養するための実証実験」特定非営利活動法人 21世紀水倶楽部、研究集会「下水由来のCO₂等資源活用の研究」、東京、2019/1/25
- V -5 菓子野 康浩「低炭素化に向けた実用珪藻 *Chaetoceros* 属組み換え体の大量培養プラットフォーム構築に向けた取り組み」、2018 生態工学会オーガナイズドセッション、大阪府立大学、2018/6/23
- V -6 菓子野康浩「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」、「ハイオテクノロジー」ALCA 公開シンポジウム、JST 東京本部別館、2018 年 12 月 26 日
- V -7 中筋智樹、伊藤和宏、菓子野康浩、伊福健太郎（京大）、前田光治、山本拓司「珪藻細胞のマイクロバブル濃縮に対する気泡径の寄与」第 21 回化学工学会学生発表会、京都、2019/3/2
- V -8 菓子野康浩「微細藻類のための低コスト大規模培養システム」（査読あり）JST イノベーションジャパン 2018、東京ビッグサイト、2018/8/30、31
- V -9 梶川 昌孝（京大）、本庄 智也（京大）、伊福 健太郎（京大）、小川 順（京大）、菓子野 康浩、福澤 秀哉（京大）「実用珪藻における有用不飽和脂肪酸リシノール酸の生産」第 36 回日本植物細胞分子生物学会（金沢商工会議所会館）2018 年 8 月 26-28 日

大学院生命理学研究科

博士前期過程

前田皐臣 : シアノバクテリア *Acaryochloris marina* の光化学系

宮崎加奈子 : クライオ電子顕微鏡法によるスキンケア研究へのアプローチ

野間有加里 : ニコチン性アセチルコリン受容体クラスターの分子動態解析

科学研究費補助金等

- 1 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

- 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)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

- 3 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

- 4 共同研究 トヨタ自動車(株) 平成 30 年度
研究課題 FC 電極触媒インク中のゲルダマ構造解析技術の検討
研究担当教員 宮澤淳夫

- 5 共同研究 日産自動車(株) 平成 30 年度
研究課題 全固体電池電極スラリーの構造解析に関する研究
研究担当教員 宮澤淳夫

- 6 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) 平成 23～31 年度
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

- 7 国立極地研究所共同研究 平成 28～30 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

- 8 文部科学省科学研究費補助金(新学術領域研究・公募) 平成 29～30 年度
研究課題 近赤外光利用型天然光化学系 II の構造と機能
研究代表者 菓子野康浩