

## I 低温電子顕微鏡法を用いた液体試料観察法の検討

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.

低温電子顕微鏡法では、細胞やタンパク質をはじめとした含水試料を、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、脱水による変形のない、含水状態のままの微細構造を解析することができる。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、有機溶液中でコロイド状に分散した高分子化合物やエマルジョン溶液など、様々な液体試料の観察においても、低温電子顕微鏡法が有効であ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局在解析

Molecular localization 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、足場タンパク質である rapsyn や筋特異的受容体チロシンキナーゼ (MuSK) とともに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。nAChR のクラスター形成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、クラスター形成途中および形成後の分散が始まった段階での、nAChR の分子局在を走査型電子顕微鏡を用いて調べたところ、クラスター形成途中と分散が始まった段階で、クラスター内における nAChR の分布が異なることが示された。

## 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脂質や足場タンパク質、細胞膜に対する機械刺激等周囲の環境によって調節されていることが報告されている。そこで、nAChRを本来発現しているNMJポストシナプスモデルの細胞にX線を照射して、細胞膜に発現しているnAChRの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計測し、計測後の細胞の生存状態を蛍光顕微鏡を用いて確認した。

## 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・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、光化学系 I 複合体の構造を解明した。南極のある種の緑藻が、南極の自然環境下で発現する赤外光を利用するための光捕集色素タンパク質の特性および構造を解析した。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、分子育種の基盤とするため、ゲノム解析を進めた。そして、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。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 西野有里・田村佳穂・宮澤淳夫・伊藤喜子（ライカマイクロシステムズ）：クライオSEMの特徴を活かした生物試料の観察、日本顕微鏡学会第76回学術講演会・シンポジウム「Next generation of cryo-SEM」（誌上開催）、2020年5月25 - 27日
- I-2 高橋真一（日産自動車）・大間敦史（日産自動車）・伊藤喜子（ライカマイクロシステムズ）・西野有里・宮澤淳夫：Cryo-SEMを活用した自動車用電池開発、日本顕微鏡学会第76回学術講演会・シンポジウム「Next generation of cryo-SEM」（誌上開催）、2020年5月25 - 27日
- I-3 高橋真一（日産自動車）・渡邊学（日産自動車）・大間敦史（日産自動車）・伊藤喜子（ライカマイクロシステムズ）・西野有里・宮澤淳夫：クライオ電子顕微鏡によるリチウムイオン電池電解液のマクロ構造可視化、第61回電池討論会・電池、燃料電池の反応と材料（オンライン討論会）、2020年11月18 - 20日
- II-1 永森繭・西野有里・菓子野康浩・宮澤淳夫：電子顕微鏡を用いた分子局在解析のための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76回学術講演会、誌上開催、2020年5月25 - 27日
- III-1 大石鴻一郎・西野有里・菓子野康浩・宮澤淳夫・関口博史（JASRI）・佐々木裕次（東京大学）：Ligand-dependent intramolecular motion of nAChR in living cells detected by DXT、第58回日本生物物理学会年会（オンライン開催）、2020年9月16 - 18日
- IV-1 Ryo Nagao（岡山大）、Koji Kato（岡山大）、Kentaro Ifuku（京大）、Takehiro Suzuki（理研）、Minoru Kumazawa（京大）、Ikuo Uchiyama（基生研）、Yasuhiro Kashino, Naoshi Dohmae（理研）、Seiji Akimoto（神戸大）、Jian-Ren Shen（岡山大）、Naoyuki Miyazaki（阪大） & Fusamichi Akita（岡山大）（2020）Structural basis for assembly and function of a diatom photosystem I-light-harvesting supercomplex. *Nat Commun* 11:2481 (<https://doi.org/10.1038/s41467-020-16324-3>)
- IV-2 Kousuke Kawahara（名大）、Natsuko Inoue-Kahino, Keisuke Namie（東北大）、Yuki Kato（名大）、Tatsuya Tomo（東京理科大）、Yutaka Shibata（東北大）、Yasuhiro Kashino & Takumi Noguchi（名大）（2020）A gold nanoparticle conjugate with photosystem I and photosystem II for development of a biohybrid water-splitting photocatalyst. *Biomed Spectrosc Imaging* 9: 73–81 (<https://doi.org/10.3233/BSI-200200>)
- IV-3 Makiko Kosugi（アストロバイオロジーセンター）、Fumino Maruo（中央大）、Norio Kurosawa（中央大）、Akinori Kawamata（中央大）、Yasuhiro Kamei（総研大、基生研）、Yasuhiro Kashino, Hiroyuki Koike（中央大）、Sakae Kudoh（極地研） and Satoshi Imura（極地研）、Adaptation strategy of aerial green alga, *Prasiola crispa* growing in Antarctica, The 11th Symposium of Polar Science, Tokyo, 2020年11月16日 - 12月18日
- V-1 井上祐大、井上（菓子野）名津子、伊福健太郎、北方恵美、大平猛、菓子野康浩「珪藻 *Chaetoceros gracilis* の油脂蓄積に対するナノバブルの有効性の検討」、近畿植物学会、奈良（オンライン）、2020年11月21日
- V-2 菓子野康浩、井上（菓子野）名津子、伊福健太郎 「第Ⅲ編 第5章 珪藻の産業応用に向けた基盤技術開発」、『脱石油に向けたCO<sub>2</sub>資源化技術—化学的・生物学的利用法を中心に—』（湯川英明 監修） 株式会社シーエムシー出版、2020

- V-3 熊沢穰、西出浩世、長尾遼、井上（菓子野）名津子、内山郁夫、菓子野康浩、沈建仁、中野雄司、伊福健太郎「ツノケイソウ *Chaetoceros gracilis* のゲノム解析と集光性色素タンパク質 *fucoxanthin chlorophyll a/c* -binding protein (FCP) の分子系統解析」、第62回日本植物生理学会年会、島根、2021年3月14 - 16日

## 大学院生命理学研究科

博士後期過程

大石 鴻一郎：アセチルコリン受容体の分子内運動解析

博士前期過程

永森 繭：電子顕微鏡を用いたポストシナプスタンパク質局在解析のための金粒子標識法の研究

井上祐大：大量培養技術開発を通じた珪藻の光合成機能の解析

佐藤史織：電子顕微鏡を用いたアセチルコリン受容体の構造解析

田村佳穂：皮膚角質の微細形態学的研究

藤田葉明：生物学的封じ込め微細藻類の社会実装に向けた大量培養技術開発

## 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C） 平成31～令和3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機能構造に関わる分子動態の相関顕微鏡解析  
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）学術研究支援基盤形成）平成28～令和3年度  
研究課題 先端バイオイメーキ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 共同研究 トヨタ自動車(株) 令和2年度  
研究課題 他成分系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
- 4 共同研究 日産自動車(株) 令和2年度  
研究課題 電解液の構造観察に関する共同研究  
研究担当教員 宮澤淳夫、西野有里
- 5 共同研究 阪本薬品工業(株) 令和2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添加効果  
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 平成31～令和3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