

## 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、化学固定や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。2種類の液体成分から成るエマルション溶液や、有機溶媒中でコロイド状に分散した高分子化合物、無機化合物などは、化学固定や脱水を行って本来の微細構造を観察できないことから、これらについて、低温透過型電子顕微鏡法または低温走査型電子顕微鏡法を用いた観察の検討を行った。その結果、様々な液体試料に対して幅広く、低温電子顕微鏡法を応用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、いまだに効率の良い分化誘導法が確立していない。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することによって骨格筋細胞に分化させる方法が報告されているが、再現性が低く、分化する細胞の割合が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、スペルミンを添加するタイミングを早めることにより、分化効率を約2倍に向上させることができた。

## III 筋肉型ニコチン性アセチルコリン受容体ダイマーのナノディスクへの再構成

Re-constitution of dimeric nicotinic acetylcholine receptor into nanodiscs

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

筋肉型ニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) は、4種のサブユニットで構成されたヘテロ5量体のリガンド依存性カチオンチャンネルで、少なくとも構造の異なる3つの状態(静止状態、活性化状態、脱感作状態)をとることが知られている。近年、nAChRを豊富に含むシビレエイの電気器官から精製したnAChRを試料として、リガンド結合状態でnAChRの構造が解かれたが、脱感作状態への移行メカニズムについては不明瞭なままである。また、シビレエイの電気器官ではnAChRはダイマーを形成していることが明らかにされており、ダイマーが形成されていることによってリガンドに対する感受性や反応性が增大することが推察されている。そこで、より天然に近い状態で脱感作状態への移行メカニズムを明らかにするために、ダイマー状態のままnAChRを精製し、ナノディスクに再構成する方法を検討した。

#### 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するとともに、構造解析によって得られた各色素の位置情報を利用して、色素間の光エネルギー伝達の理論計算を進めた。南極に自生するある種の緑藻が、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構造解析を行った。

#### 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・伊藤喜子・宮澤淳夫：クライオ SEM を用いた含水試料の観察、日本顕微鏡学会第 77 回学術講演会・シンポジウム「非晶質凍結した含水性試料におけるクライオ SEM 法の最前線」(筑波)、2021
- I -2 高橋真一(日産自動車)・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)・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：電気自動車用電池開発における Cryo-SEM の活用、日本顕微鏡学会第 77 回学術講演会・シンポジウム「非晶質凍結した含水性試料におけるクライオ SEM 法の最前線」(筑波)、2021
- I -3 西野有里・伊藤喜子・宮澤淳夫：クライオ電子顕微鏡法を用いた生物試料の観察とソフトマテリアルへの応用、日本顕微鏡学会学際的顕微研究領域若手研究会(オンライン)、2021
- I -4 Yuri Nishino・Kanakano Miyazaki・Mizuho Kaise・Atsuo Miyazawa: Fine cryo-SEM observation of the microstructure of emulsions frozen via high-pressure freezing, *Microscopy*, In press (2021)
- IV -1 Tasuku Hamaguchi (理研), Keisuke Kawakami (理研), Kyoko Shinzawa-Itoh, Natsuko Inoue-Kashino, Shigeru Itoh (名大), Kentaro Ifuku (京大), Eiki Yamashita (阪大), Ko Maeda, Koji Yonekura (理研) & \*Yasuhiro Kashino (2021) Structure of the far-red light utilizing photosystem I of *Acaryochloris marina*. *Nat Commun* 12: 2333 (<https://doi.org/10.1038/s41467-021-22502-8>)
- IV -2 浜口祐(理研)、川上恵典(理研)、伊藤(新澤)恭子、菓子野(井上)名津子、伊藤繁(名大)、伊福健太郎(京大)、山下栄樹(阪大)、前田皐臣、米倉功治(理研)・菓子野康浩: *Acaryochloris marina* 由来光化学系 I 複合体の立体構造解析、第 28 回光合成セミナー(2021年6月26日開催・オンライン)
- IV -3 木村 明洋(名大)・鬼頭 宏任(神戸大)・浜口 祐(理研)・米倉 功治(理研)・川上 恵典(理研)・菓子野 康浩・浅井智広(立命)・大岡宏造(阪大)・伊藤 繁(名大)：細菌と植物のもつ多様な光合成 I 型反応中心の光捕集機能に関する比較、量子生命科学会第 3 回大会(オンライン)、2021 年 9 月 16 日
- IV -4 Makiko Kosugi (アストロバイオロジーセンター), Masato Kawasaki, (高エネ研、総研大), 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 (総研大、基生研), Yasuhiro Kashino, Sakae Kudoh (極地研), Hiroyuki Koike (中央大), Toshiya Senda (高エネ研) ; Uphill energy transfer mechanism for photosynthesis in the Antarctic alga、口頭発表、The 12th Symposium on Polar Science、15 - 18 November 2021、東京(オンライン開催)
- IV -5 木村 明洋(名大)・鬼頭 宏任(神戸大)・浜口 祐(理研)・米倉 功治(理研)・川上 恵典(理研)・菓子野 康浩・伊藤 繁(名大) : *A. marina* の光化学系 I の光捕集機構 : *T. elongatus* の光化学系 I との比較、第 59 回日本生物物理学会(仙台、オンライン開催)、2021 年 11 月 25-27 日
- IV -6 木村明洋(名大)・鬼頭宏任(神戸大)・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) : 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 第 77 回年次大会 (オンライン開催)、2022 年 3 月 15 日
- IV -7 木村明洋 (名大) ・鬼頭宏任 (神戸大) ・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) : クロロフィル *d* を使い赤外光を利用するシアノバクテリア *Acaryochloris marina* の PSI 反応中心の理論モデルとクロロフィル交換モデルの作成、第63回日本植物生理学会年会、つくば国際会議場 (オンライン開催)、2022年3月24日
- IV -8 小杉真貴子 (アストロバイオロジーセンター) ・川崎政人 (高エネ研、総研大) ・柴田穰 (東北大) ・原光二郎 (秋田県立大) ・高市真一 (東京農大) ・守屋俊夫 (高エネ研) ・安達成彦 (高エネ研) ・亀井保博 (総研大、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) ; Uphill energy transfer mechanism for photosynthesis in the Antarctic alga、ポスター発表、第63回日本植物生理学会年会、2022年3月22-24日、筑波 (オンライン開催)
- V -1 Minoru Kumazawa (京大) ・Hiroyo Nishide (基生研) ・Ryo Nagao (岡大) ・Natsuko Inoue-Kashino ・Jian-Ren Shen (岡大) ・Takeshi Nakano (京大) ・Ikuo Uchiyama (基生研) ・Yasuhiro Kashino & \*Kentaro Ifuku (京大) (2022) Molecular phylogeny of fucoxanthin-chlorophyll *a/c* proteins from *Chaetoceros gracilis* and Lhcq/Lhcf diversity. *Physiol Plant* 174: e13598. (<https://doi.org/10.1111/ppl.13598>)
- V -2 Freisa M. Joaquín-Ovalle (University of Puerto Rico), Grace Guihurt (University of Puerto Rico), Vanessa Barcelo-Bovea (University of Puerto Rico), Andraous Hani-Saba (University of Puerto Rico), Nicole C. Fontanet-Gómez (University of Puerto Rico), Josell Ramirez-Paz (University of Puerto Rico), Yasuhiro Kashino, Zally Torres-Martinez (University of Puerto Rico), Katerina Doble-Cacho (University of Puerto Rico), Louis J. Delinois (University of Puerto Rico), Yamixa Delgado (San Juan Bautista School of Medicine) & Kai Griebenow (University of Puerto Rico) (2022) Oxidative stress- and autophagy-inducing effects of PSI-LHCI from *Botryococcus braunii* in breast cancer cells *BioTech* 11: 9 (<https://doi.org/10.3390/biotech11020009>)
- V -3 Hidetoshi Inoue (NITE) ・Kumiko Tajima (NITE) ・Cristina Mitsumori (NITE) ・Natsuko Inoue-Kashino N・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. *J. Gen. Appl. Microbiol.* (in press)
- V -4 廣田隆一 (広大) ・黒田章夫 (広大) ・菓子野康浩、菓子野名津子、渡部智 (東京農大) 「藍藻の培養方法および藍藻の形質転換体のスクリーニング方法」、【出願番号】特願 2021-148599、【出願日】令和 3 年 9 月 13 日 (2021.09.13)、【出願人】: 広島大学、兵庫県立大学、東京農業大学
- V -5 熊沢穰 (京大) ・西出浩世 (基生研) ・長尾遼 (岡山大) ・井上 (菓子野) 名津子・内山郁夫 (基生研) ・菓子野康浩・沈建仁 (岡山大) ・中野雄司 (京大) ・伊福健太郎 (京大) ; 集光性色素タンパク質 fucoxanthin chlorophyll *a/c*-binding protein (FCP) の紅色系統二次共生藻類における機能分担と多様性、第 11 回 日本光合成学会年会、静岡大学 (オンライン)、2021 年 5 月 29 日
- V -6 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) : Molecular phylogeny of fucoxanthin-chlorophyll *a/c* proteins in the *Chaetoceros gracilis* genome suggests the

process of their diversification in red plant lineage、Molecular Life of Diatoms 6 (MLD6) (オンライン開催)、Jul 12 - 14, 2021

- V-7 菓子野康浩：下水処理場および周辺工場からの CO<sub>2</sub> を回収し、珪藻で有用物質に変換；下水処理場を CCS 拠点化、国土交通省 第 5 回下水道スタートアップチャレンジ「脱炭素社会実現に向けた下水道資源の活用」(オンライン開催)、2021 年 8 月 18 日
- V-8 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～珪藻を軸にした太陽エネルギーにより大気中の CO<sub>2</sub> をリサイクル利用するクリーンで持続的な社会へ～、兵庫県立大学 知の交流シンポジウム(オンライン開催)、2021 年 9 月 28 日
- V-9 熊沢穰(京大)・西出浩世(基生研)・長尾遼(岡山大)・井上(菓子野)名津子・沈建仁(岡山大)・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)：ツノケイソウ *Chaetoceros gracilis* ゲノムデータベース ChaetoBase を利用した集光性色素タンパク質 fucoxanthin chlorophyll *a/c* -binding protein (FCP) の網羅的機能解析、第 63 回日本植物生理学会年会、つくば国際会議場(オンライン開催)、2022 年 3 月 22-24 日

## 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

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

小畑由紀子：神経筋接合部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

## 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 共同研究 トヨタ自動車(株) 令和 3 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

- 4 共同研究 日産自動車(株) 令和3年度  
研究課題 高分子電解質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3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
- 6 共同研究 日産化学(株) 令和3年度  
研究課題 幹細胞培養用培地の開発  
研究担当教員 宮澤淳夫、西野有里
- 7 共同研究 (株)日東分析センター 令和3年度  
研究課題 高圧凍結法および急速凍結法とクライオ電子顕微鏡観察の技術開発  
研究担当教員 宮澤淳夫、西野有里
- 8 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
- 9 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
- 10 文部科学省科学研究費補助金(基盤B) 令和2～4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
- 11 独立行政法人 科学技術振興機構(JST)研究成果展開事業社会還元加速プログラム(SCORE 拠点都市環境整備型) 令和3年度  
研究課題 持続可能社会実現のための珪藻の大量産生と販売  
研究代表者 菓子野康浩
- 12 姫路市 尾上学術振興助成事業(産学協同研究助成金) 令和3年度  
研究課題 珪藻とIoTによる栽培漁業の低コスト化、高品質化、安定化  
研究代表者 上田澄廣(産学連携・研究推進機構)、分担研究者 菓子野康浩