

## Cellular Structural Physiology

## 細胞構造学

### I 低温電子顕微鏡法を用いた液体含有試料の微細形態観察

Application of cryo-electron microscopy to the microstructure observation of various liquid-containing 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、細胞や生体分子をはじめとした含水生物試料を非晶質凍結して、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構造アーティファクトのない、含水状態のままの微細構造を解析することができる。この手法を用いると、2種類以上の混ざり合わない液体成分から成るエマルジョン溶液、高分子有機化合物または無機化合物がコロイド状に分散した液体試料についても、透過電子顕微鏡または走査電子顕微鏡での微細構造観察が可能である。この手法では、アルコール、カーボネート系溶媒、油脂をはじめとした、水以外の液体を含む試料についても観察が可能であることが実証された。水とは性質の異なるこれらの液体試料について、それぞれに適した凍結法、断面作製法、観察法の検討を行った。

### II 培養細胞を用いた骨格筋細胞への分化の研究

Study of inducing differentiation from cultured cells into skeletal muscle cells

西野有里・菓子野康浩・宮澤淳夫

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

胚性幹細胞やマウス筋原細胞である C2C12 細胞から筋管細胞への分化誘導法が知られているが、筋管細胞からさらに分化成熟の進んだ骨格筋細胞へは、未だに安定した分化誘導法が確立されていない。これまでに、胚性幹細胞から作製した胚様体にポリアミンの一種であるスペルミンを一時的に添加することにより、骨格筋細胞を含む筋繊維シートを形成させることができた。この筋繊維シートの分化の状態を調べるために、筋特異的転写因子の発現パターンを調べた結果、胚性幹細胞からスペルミンを用いて分化誘導を行った細胞と、C2C12 細胞から血清枯渇により筋管細胞へ分化させた場合で類似した発現パターンが確認された。さらに、C2C12 細胞についても、ポリアミンの添加について検討したところ、ポリアミンが細胞の増殖や分化に作用することが明らかになった。

### III ニコチン性アセチルコリン受容体の分子動態解析

Molecular dynamics of nicotinic acetylcholine receptor

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) が様々なタンパク質や脂質と相互作用しながら構造変化してチャネル活性を調節している。これら分子との相互作用は非常に弱い結合であるため、複合体として細胞から取り出して解析することは困難である。本研究では、筋管細胞に発現している本来の複合体を形成した状態にある nAChR のリガンド依存的な構造変化を、一分子追跡法を用いて分子内運動として捉えることができた。

また、nAChR が複合体を形成する機構を解析するために、一般的な間接抗体法より精密な分子の位置を調べることができ、生細胞を用いた動態解析に利用可能な、抗 nAChR 抗体 Fab'フラグメント結合金コロイド粒子の調製を検討し、精製した nAChR および筋管細胞に発現している nAChR を特異的に標識できることを示した。

#### 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2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、クロロフィル *d* を主要色素とし、可視光よりもエネルギーレベルの低い遠赤色光を使って酸素発生型光合成を行う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。解明した光化学系 I 複合体の構造から得られた知見に基づき、色素間の光エネルギー伝達を実験的に解析した。南極に自生する緑藻の一種が、南極の自然環境下で遠赤色光を捕集して光合成に利用するための光捕集色素タンパク質の構造を解明した。

#### 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のために利用するための開発研究を進めた。そのために、珪藻の野外光下での光合成特性を解析するとともに、社会実装を目指した野外での安定高密度大量培養技術の構築に努めた。そして、大量培養後の珪藻のバイオ燃料生産以外の利用について検討を進めた。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：液状材料の微細構造研究(7)：液状材料観察におけるクライオ電子顕微鏡法の進展と課題、日本顕微鏡学会第 79 回学術講演会（島根）、2023
- I-2 高橋真一・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：液状材料の微細構造研究(1)：クライオ電子顕微鏡法による燃料電池材料分散液の構造可視化、日本顕微鏡学会第 79 回学術講演会（島根）、2023
- I-3 在原一樹（日産自動車）・山本健介（日産自動車）・大間敦史（日産自動車）・川本宇子（日産アーク）・島貫純一（日産アーク）・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：液状材料の微細構造研究(3)：リチウムイオン電池性能に対するスラリー構造の影響解析、日本顕微鏡学会第 79 回学術講演会（島根）、2023
- I-4 島貫純一（日産アーク）・今井英人（FC-Cubic）・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：液状材料の微細構造研究(4)：膨潤させた燃料電池触媒層のクライオ TEM 観察、日本顕微鏡学会第 79 回学術講演会（島根）、2023
- I-5 杉浦輝・村井卓也・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：液状材料の微細構造研究(6)：クライオ SEM によるホイップクリームの構造観察、日本顕微鏡学会第 79 回学術講演会（島根）、2023
- I-6 杉浦輝（阪本薬品工業）・村井卓也（阪本薬品工業）・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：クライオ SEM 観察によるホイップクリームの保水性に関する構造的要因の検証、日本食品科学工学会第 70 回記念大会（京都）、2023
- I-7 兵頭俊輔（阪本薬品工業）・杉浦輝（阪本薬品工業）・村井卓也（阪本薬品工業）・伊藤喜子・西野有里・宮澤淳夫：クライオ SEM によるホイップクリームの構造観察、第 61 回日本油化学会年会（高知）、2023
- I-8 Yuri Nishino・Kanako Miyazaki・Mizuho Kaise・Atsuo Miyazawa：Advantages of high-pressure freezing for cryo-SEM observation of the microstructure of O/W and W/O emulsions, 20th International Microscopy Congress (Busan, Korea) , 2023
- I-9 西野有里・伊藤喜子・宮澤淳夫：クライオ SEM を用いたエマルションの観察、日本顕微鏡学会 第 66 回シンポジウム（高崎）、2023
- I-10 北井悠樹・西野有里・宮澤淳夫：クライオ走査電子顕微鏡法による液状試料の微細構造解析、技術・人材マッチング交流会（赤穂郡）、2023
- II-1 Chinami Kinoshita・Maiko Aki・Atsuo Miyazawa：Generation of structurally-matured contractile muscle fiber sheets from mouse embryonic stem cells, 20th International Microscopy Congress (Busan, Korea) , 2023
- II-2 Chinami Kinoshita・Maiko Aki・Atsuo Miyazawa：C1C12 細胞の分化誘導におけるポリアミン関連物質の影響、日本顕微鏡学会第 79 回学術講演会（島根）、2023

- II-3 山端麻祐子・西野有里・宮澤淳夫：C2C12 細胞の分化誘導におけるポリアミン関連物質の効果、技術・人材マッチング交流会（赤穂郡）、2023
- III-1 西田基・西野有里・宮澤淳夫：抗ニコチン性アセチルコリン受容体抗体 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 79 回学術講演会（島根）、2023
- III-2 Koichiro Oishi, Mayu Nagamori, Yasuhiro Kashino, Hiroshi Sekiguchi (JASRI), Yuji C. Sasaki (東京大), Atsuo Miyazawa, Yuri Nishino: Ligand-Dependent Intramolecular Motion of Native Nicotinic Acetylcholine Receptors Determined in Living Myotube Cells via Diffracted X-ray Tracking, *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 12069, 2023
- IV-1 Joris Vasco (熊大)、浜勇二郎 (熊大)、板東(魚谷)未季 (熊大、放送大)、新澤(伊藤)恭子、井上(菓子野)名津子、菓子野康浩、川上恵典 (理研)、米倉功治 (理研)、小澄大輔 (熊大)：遠赤色光利用可能な光化学系 II の光捕集機能、第 17 回分子科学討論会 (阪大)、2023
- IV-2 小杉真貴子 (基生研)、川崎政人 (高エネ研)、柴田穰 (東北大)、原光二郎 (秋田県立大)、高市真一 (東京農大)、安達成彦 (高エネ研)、守屋俊夫 (高エネ研)、亀井保博 (基生研)、工藤栄 (極地研)、菓子野康浩、小池裕幸 (中央大)、千田俊哉 (高エネ研)、大谷修司 (島根大)、豊田敦 (遺伝研)、西出浩世 (基生研)、皆川純 (基生研)：Uphill energy transfer mechanism for photosynthesis performed by far-red light in an Antarctic alga、日本生物物理学会第 61 回年会 (招待講演) (名古屋国際会議場)、2023
- IV-3 Joris Vasco (熊大)、浜勇二郎 (熊大)、板東(魚谷)未季 (熊大、放送大)、新澤(伊藤)恭子、井上(菓子野)名津子、菓子野康浩、川上恵典 (理研)、米倉功治 (理研)、小澄大輔 (熊大)：遠赤色光利用可能な光化学系 II におけるカロテノイドからクロロフィルへのエネルギー伝達、2023 年光化学討論会 (広島国際会議場)、2023
- IV-4 小杉真貴子 (基生研)、川崎政人 (高エネ研)、柴田穰 (東北大)、原光二郎 (秋田県立大)、高市真一 (東京農大)、安達成彦 (高エネ研)、守屋俊夫 (高エネ研)、亀井保博 (基生研)、工藤栄 (極地研)、菓子野康浩、小池裕幸 (中央大)、千田俊哉 (高エネ研)、大谷修司 (島根大)、豊田敦 (遺伝研)、西出浩世 (基生研)、皆川純 (基生研)：緑藻ナンキョクカワノリに見つかった赤外線利用型光合成のメカニズムと進化の道筋、日本植物学会第 87 回大会 (招待講演) (北大)、2023
- IV-5 小杉真貴子 (基生研)、川崎政人 (高エネ研)、柴田穰 (東北大)、原光二郎 (秋田県立大)、高市真一 (東京農大)、安達成彦 (高エネ研)、守屋俊夫 (高エネ研)、亀井保博 (基生研)、工藤栄 (極地研)、菓子野康浩、小池裕幸 (中央大)、千田俊哉 (高エネ研)：南極緑藻に見つかった赤外線捕集アンテナタンパク質、第 23 回 日本光生物学協会年会 (招待講演) (京都大学)、2023 年
- IV-6 小杉真貴子 (基生研)、川崎政人 (高エネ研)、柴田穰 (東北大)、原光二郎 (秋田県立大)、高市真一 (東京農大)、安達成彦 (高エネ研)、守屋俊夫 (高エネ研)、亀井保博 (基生研)、工藤栄 (極地研)、菓子野康浩、小池裕幸 (中央大)、千田俊哉 (高エネ研)、大谷修司 (島根大)、豊田敦 (遺伝研)、西出浩世 (基生研)、皆川純 (基生研)：トレブクシア藻綱における遠赤色光利用型光合成の潜在性、日本地衣学会第 22 回大会 (東京理科大)、2023
- IV-7 Miki Bando-Uotani (熊大、放送大), Kyouko Shinzawa-Itoh, Natsuko Inoue-Kashino, Yasuhiro Kashino, Keisuke Kawakami (理研), Koji Yonekura (理研), Nobuo Kamiya (大阪公立大) and Daisuke Kosumi (熊大)：Excitation energy transfer dynamics

of carotenoids in the far-red light utilizing photosystem II from *Acaryochloris marina*, 19th International Symposium on Carotenoids ( 富山国際会議場 ) , 2023

- IV-8 Keisuke Kawakami (理研) , Tasuku Hamaguchi (東北大) , Kyoko Shinzawa-Itoh, Natsuko Inoue-Kashino, Shigeru Itoh (名大) , Kentaro Ifuku (京大) , Eiki Yamashita (阪大) , Kou Maeda, Koji Yonekura (理研) , Yasuhiro Kashino : Structure of the far-red light utilizing photosystem I of *Acaryochloris marina*, 11th International Conference on Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability (招待講演) (Istanbul, Turkey) , 2023
- IV-9 川上恵典 (理研) 、新澤 (伊藤) 恭子、眞木 (米倉) さおり (理研) 、井上 (菓子野) 名津子、伊福健太郎 (京大) 、伊藤繁 (名大) 、米倉功治 (理研) 、菓子野康浩 : *Acaryochloris marina* 由来光化学系 II 複合体の構造、光合成セミナー (名工大) 、2023
- IV-10 小杉真貴子 (基生研) 、川崎政人 (高エネ研) 、柴田穰 (東北大) 、原光二郎 (秋田県立大) 、高市真一 (東京農大) 、安達成彦 (高エネ研) 、守屋俊夫 (高エネ研) 、亀井保博 (基生研) 、工藤栄 (極地研) 、菓子野康浩、小池裕幸 (中央大) 、千田俊哉 (高エネ研) 、大谷修司 (島根大) 、豊田敦 (遺伝研) 、西出浩世 (基生研) 、皆川純 (基生研) : 緑藻ナンキョクカワノリの遠赤色光吸収型 LHC の構造と分子系統学解析、第13回日本光合成学会年会 (名大) 、2023
- V-1 Minoru Kumazawa (京大) , Noriko Ishikawa (京大) , Shoko Tsuji (京大) , Natsuko Inoue-Kashino, Yasuhiro Kashino, Kentaro Ifuku (京大) : Photosynthetic properties of the lhcx1 knock-out mutant of the centric diatom *Chaetoceros gracilis* lacking energy-dependent NPQ, Molecular Life of Diatoms 7 (San Diego, California, USA), 2023

## 生命科学専攻

### 博士後期課程

大石鴻一郎 : ニコチン性アセチルコリン受容体のリガンド依存的分子内部運動の解析

### 博士前期課程

上野真悠子 : 光化学系 II 複合体の構築過程に関わる研究

木下知奈美 : 異種細胞から分化誘導した筋細胞の解析

西田 基抗 : nAChR 抗体 Fab' 結合金コロイド粒子の作製

安藝舞依子 : マウス ES 細胞から骨格筋細胞への分化誘導条件の決定

小林希実花 : ニコチン性アセチルコリン受容体複合体を含む膜断片調製法の検討

萩原奈那子 : ニコチン性アセチルコリン受容体クラスター形成のための agrin の濃度検討とクラスターの分子局在解析

東森 碧月 : ニコチン性アセチルコリン受容体ダイマーの精製およびナノディスクへの再構成条件の検討

山端麻佑子 : C2C12 細胞の分化におけるポリアミン関連物質の影響

## 科学研究費補助金等

- 1 文部科学省科学研究費補助金（学術変革領域研究（学術研究支援基盤形成））  
令和4年度～令和10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 鍋倉 淳一（生理学研究所）  
分担研究者 宮澤淳夫
  
- 2 国立極地研究所共同研究 令和4年度～令和5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
  
- 3 文部科学省科学研究費補助金（基盤C） 令和5年度～令和7年度  
研究課題 生体内環境に近い状態にあるニコチン性アセチルコリン受容体の構造と機能の解析  
研究代表者 宮澤淳夫
  
- 4 共同研究 トヨタ自動車（株） 令和5年度  
研究課題 クライオ電子顕微鏡を用いたスラリ内部構造の評価  
研究担当教員 宮澤淳夫、西野有里
  
- 5 共同研究 日産自動車（株） 令和5年度  
研究課題 リチウムイオン電池用液系材料の構造観察  
研究担当教員 宮澤淳夫、西野有里
  
- 6 共同研究 阪本薬品工業（株） 令和5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
  
- 7 共同研究 日産化学（株） 令和5年度  
研究課題 幹細胞培養用培地・保存液の開発  
研究担当教員 宮澤淳夫、西野有里
  
- 8 文部科学省科学研究費補助金（基盤B） 令和5年度～令和7年度  
研究課題 遠赤色光のエネルギーレベルで駆動されるアカリオクロリス光化学系IIの構造と機能  
研究代表者 菓子野康浩
  
- 9 国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO） 令和5年度～令和6年度  
研究課題 微細藻類由来バイオジェット燃料生産の産業化とCO<sub>2</sub>利用効率の向上に資する研究拠点及び基盤技術の整備・開発  
研究代表者 日本微細藻類技術協会