

# 九州大学 低温センターだより

No.13



2019年3月

# 目次

	ページ
<b>●巻頭言</b>	
九州大学 低温センター センター長 木村崇	(1)
<b>●研究ノート</b>	
①哺乳類における多倍体化培養細胞 九州大学 医学研究院 実験動物学分野 今井啓之	(2)
②Gene Expression Analysis of <i>CWPO-C</i> from Poplar's Isolated Cells obtained by Cryosection followed by Laser Microdissection 九州大学 農学研究院 環境農学部門 Diego Yoshikay	(6)
<b>●低温センターから</b>	
伊都キャンパスにおける寒剤配送方法について	(10)
低温センターの活動 等	(13)
低温センター運営委員	(17)
低温センターを利用した論文 (2018)	(18)

---

表紙 : 箱崎地区センター業務終了により撤去中のCEタンク (昭和45年製5000L)



## 巻頭言

本年度より、木須隆暢教授のあとを受け、センター長に就任いたしました。先人の先生方や職員の皆様のご尽力により、本センターには高性能の寒剤供給設備が整備され、本学の研究を支える重要な学内共同教育研究センターとして位置づけられています。本センターをより良く発展させることを任務と考え、最大限努力していきたくと考えております。至らぬことも多いかと思いますが、改善点など、是非、積極的にご意見頂けますと幸いです。

まずもって、本年も無事にこの低温センター便りを刊行できましたこと、寒剤ユーザーの皆様、そして、低温センターの職員の皆様のご協力に改めて感謝いたします。

今回の研究ノートでは、医学系、及び農学系の研究をご紹介します。これまでの理工系とは少し異なる大変興味深い内容になっておりますので、是非、ご一読頂けますと幸いです。このように、寒剤は広い分野で利用されており、総合大学では異分野の研究者と接する機会を持つことができます。何かの際に、寒剤ユーザーの交流が持てる会合や談話会などを開催できればと考えており、その際は、ご協力賜れますと幸いです。

報告事項ですが、本年度夏に農学研究院等の移転も終了し、伊都キャンパス全体の移転が完了しました。これに伴い低温センターでは、今年度から、キャンパス全体で一本化した新制度での寒剤配送体制をスタートしました。これにより、必要経費を大幅に削減した安全な寒剤配送が可能となりました。関連部局の皆様のご協力に感謝いたします。

また、低温センターの最重要システムであるヘリウム液化・回収システムと関連設備ですが、納入から10年以上が経過しており、また、移転に伴いユーザー数も増加しています。このような状況から、以前より概算要求などを通じて、同設備の更新と増強の必要性をアピールしておりますが、今年度も予算措置には至りませんでした。ただ、幸いにも、大学本部から、回収システムの一部を増強・更新できる程度の予算を措置して頂くこととなり、現在、それらの導入に向けた作業を進めているところです。

このように、伊都キャンパスでは、寒剤利用環境の改善にむけた取り組みを都度実施しているところですが、その一方で、箱崎分室の閉鎖により、病院キャンパスのユーザーへの寒剤供給が困難な状況となりました。加えて、一部の民間業者の寒剤価格の値上げなどもあり、ユーザーの皆様にご不便をかける状況になりつつあったのですが、この度、大学本部からのご支援と病院キャンパスの関連部局の先生方の多大なご協力により、低温センター管理の液体窒素自動供給設備を設置することになりました。関係の皆様へ、改めて感謝いたします。本システムにより、4月から供給を開始する予定ですが、ユーザーの皆様の要望を伺いながら、供給体制を改善していきたくと思いますので、忌憚のない意見をお寄せ頂けますと幸いです。また、新システム導入までの間、薬学部様から液体窒素の供給に多大なご協力を頂きました。重ねて御礼申し上げます。

最後になりましたが、本センターには、理学部所属の新技术職員が4月より着任する予定です。安全で安定した寒剤利用環境の構築に向けて、職員一丸となって努力してまいりますので、今後とも低温センターに対する一層のご支援を何卒宜しくお願い申し上げます。

低温センター長 木村 崇

## 哺乳類における多倍体化培養細胞

今井啓之

九州大学 医学研究院 実験動物学分野

### はじめに

医学や農学などの生物学分野において、細胞試料の保存は実験の再現性・バイオリソースの保存において重要である。凍結保存は $-80^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫や液体窒素が用いられる。一般的な保存方法として、培養液に10%となるようにDMSO (Dimethyl Sulfoxide)を添加した保存液を用いて、凍結チューブ内で保存する。氷晶形成を抑えて細胞膜を保護することにより凍結-解凍による細胞死を抑制することができるとされる。DMSOが幹細胞の分化に影響を与えることも報告されているため、DMSOを用いない凍結保存液も開発されている[1,2]。また、マウスなど動物の初期胚の保存においては、冷蔵庫での短期間の保存が可能であるが[3]、多くは液体窒素を用いたガラス化法凍結法が用いられている。この初期胚保存方法は臨床医療や畜産分野においても広く用いられている。以上のように生物学的試料の保存には $-80^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫や液体窒素、特に長期間にわたる保存にあたっては液体窒素が不可欠となっている。

これらの背景を踏まえた上で本稿では、筆者のこれまでの研究内容について紹介する。

### 1. 多倍体化胚の特性について

哺乳類の胚発生は、半数体の精子および卵が受精することにより2倍体受精卵となることが必須である。稀に割球の融合や不分離が起こることにより、染色体セットが倍加した多倍体胚が出現することがあり、その割合は約0.5%程度である[4]。マウスにおいて、これら多倍体胚は胚盤胞期までin vitroで培養することができるが[5]、発現遺伝子の異常などが認められ[6]、着床後には様々な組織の形成異常がみられる[7]。倍数性変動が哺乳類の初期胚発生に与える影響についてより詳細に解析するため、様々な多倍体胚を作出し、その解析を行った。

マウスはB6D2F1系統を用い、得られた胚は流動パラフィンを重ねたM16培養液ドロップ中、 $37^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ のインキュベーター内で培養した。胚の多倍体化誘導は電気融合法により行った。

マウス胚を用いて多段階にわたる多倍体化誘導を行ったところ、2倍体胚から4倍体、8倍体、16倍体胚の作出に成功した。これら作出したすべての多倍体胚は、卵割

腔を有する胚盤胞へ発生した。その一方で、倍数性の増大に従って、胚全体を構成する細胞数は減少し、特に16倍体胚では2～3個と極めて少ない細胞数で1つの胚が構成されており、将来胎子組織へ発生する内部細胞塊を欠いた(図1)。RT-PCRによる遺伝子発現解析でも同様に、16倍体胚におけるOct3/4を含む内部細胞塊マーカー遺伝子mRNAの発現が検出されなかった。

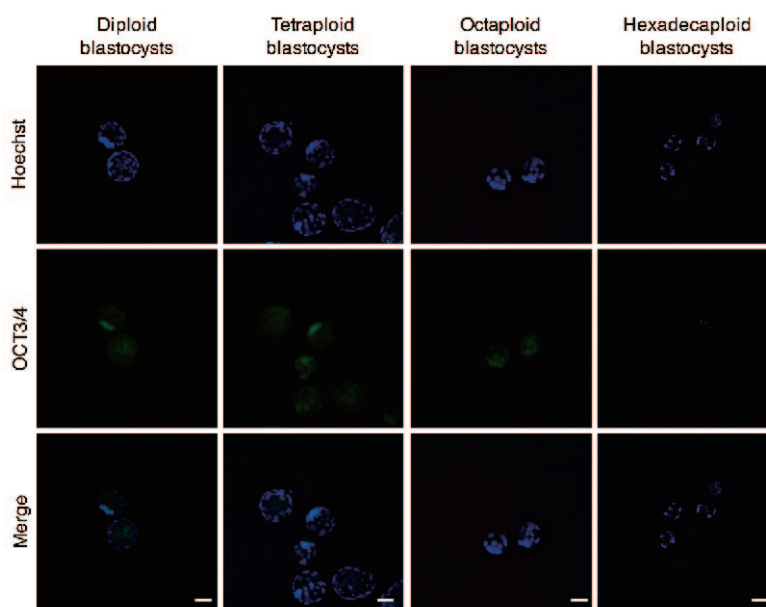


図1 多倍体胚の免疫染色像(Hoechst:核、OCT3/4:内部細胞塊)

16倍体胚はOCT3/4陽性の内部細胞塊を欠く。4倍体、8倍体胚においては内部細胞塊(緑)が形成されている。がBar: 50μm

参考文献14) Imai *et al.* より

これまでの研究から、内部細胞塊の形成には、胚盤胞期の前段階である桑実胚期の胚を構成する細胞の内側/外側の細胞極性、特にHippoシグナル経路が重要であることがわかっている[8, 9]。本研究において16倍体胚に内部細胞塊が形成されなかった原因についても、桑実胚期16倍体胚では内側極性の細胞が欠如したためであることが考えられた。

## 2. 16倍体胚における内部細胞塊形成

単独の16倍体胚では将来胎子組織へ発生する内部細胞塊が形成されなかったことを受け、レスキュー実験を行なった。前述の初期胚発生におけるHippoシグナルの関与を踏まえ、16倍体胚に内/外の極性を付与するために、細胞数の補完を試みた。

多倍体胚の作出は前述の方法に即して行った。胚を構成する細胞数の補完は、4個の16倍体胚を桑実胚期において互いに接着させて培養し、1個の集合胚とすることにより行なった。

作出した集合16倍体胚は胚盤胞期胚へ発生し、免疫染色およびRT-PCRの結果が

ら、mRNA およびタンパクレベルで内部細胞塊マーカーの発現が観察された（図2）。16倍体化に伴い消失する内部細胞塊は、胚全体の細胞数を確保することにより回復できることが明らかとなった。マウス4倍体胚における内部細胞塊数は2倍体胚と比較して少ない、または欠如するという報告があり

[10, 11]、本研究結果は多倍体胚における内部細胞塊の減少または欠如を回復する方法となりうる。また、本研究で用いた超多倍体胚で

ある16倍体胚においても正常胚様の形態を示す一方で、胚の多倍体化によりオートファジーやエピゲノムの異常が起こることから[12, 13]、着床後の発生異常の根本原因の解決にはさらに詳細な解析が必要と考える。

以上、我々の研究結果から、哺乳類初期胚は多倍体化に対して高度に可塑性を有していることが示唆され、論文として報告した[14]。この研究は、染色体異常胚の基礎研究となりうるほか、特に畜産分野などにおいて多倍体化技術の応用により優良形質家畜の増産などへ応用が期待できる。

#### 参考文献

1. Katkov II, Kim MS, Bajpai R, Altman YS, Mercola M, Loring JF, Terskikh AV, Snyder EY, Levine F. Cryopreservation by slow cooling with DMSO diminished production of Oct-4 pluripotency marker in human embryonic stem cells. *Cryobiology*. 2006; 53(2): 194-205
2. Chetty S, Pagliuca FW, Honore C, Kweudjeu A, Rezania A, Melton DA. A simple tool to improve pluripotent stem cell differentiation. *Nature Methods*. 2013; 10(6): 553-558
3. Hourcade JD, Perez-Crespo M, Serrano A, Gutierrez-Adam A, Pintado B. In vitro and in vivo development of mice morulae after in non-frozen conditions. *Reprod. Biol. Endocrinol*. 2012; 10: 62
4. Dyban A, Baranov V. Cytogenetics of mammalian embryonic development. *New*

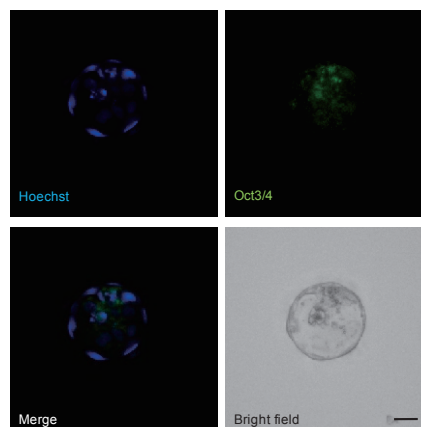


図2 集合16倍体胚における内部細胞塊形成

4個の胚を接着させて集合16倍体胚とすることで、Oct3/4陽性（緑）の内部細胞塊が形成された。Bar: 50μm

参考文献 14) Imai *et al.* より

York: Oxford University Press. 1987

5. Koizumi N, Fukuta N. Effect of insulin on in vitro development of tetraploid mouse embryos. *Exp. Anim.* 1996; 45(2): 670-675
6. Kawaguchi J, Kano K, Naito K. Expression profiling of tetraploid mouse embryos in developmental stages using a cDNA microarray analysis. *J. Reprod. Dev.* 2009; 55(6): 670-675
7. Kaufman MH. Postcranial morphological features of homozygous tetraploid mouse embryos. *J. Anat.* 1992; 180(3): 521-534
8. Hirate Y, Hirahara S, Inoue K, Suzuki A, Alarcon VB, Akimoto K, Hirai T, Hara T, Adachi M, Chida K, Ohno S, Marikawa Y, Nakao K, Shimono A, Sasaki H. Polarity-dependent distribution of angiomin localizes Hippo signaling in preimplantation embryos. *Curr. Biol.* 2013; 23(13): 1181-1194
9. Manzanares M, Rodriguez TA. Development: Hippo signaling turns the embryo inside out. *Curr. Biol.* 2013; 23(13): 559-561
10. Liu L, Czerwiec E, Keefer DL. Effect of ploidy and parent genome composition on expression of Oct-4 protein in mouse embryos. *Gene Expr. Patterns.* 2004; 4(4): 433-441
11. Wen D, Saiz N, Rosenwaks Z, Hadjantonakis AK, Rafii S. Completely ES cell-derived mice produced by tetraploid complementation using inner cell mass (ICM) deficient blastocysts. *PLoS ONE.* 2014; 9(4): e94730
12. Lei L, Guan N, Zu YN, Zhang QH, Shen JL, Jin LH. Developmental pattern of hexaploid mouse embryos produced by blastomere fusion of diploid and tetraploid embryos at the 2-cell stage. *Zygote.* 2009; 17(2): 125-130
13. Wu BJ, Zhao LX, Zhu CC, Chan YL, Wei MY, Bao SQ, Sun SC, Li XH. Altered apoptosis/ autophagy and epigenetic modifications cause the impaired postimplantation octaploid embryonic development in mice. *Cell Cycle.* 2017; 16(1): 82-90
14. Imai H, Fujii W, Kusakabe KT, Kiso Y, Kano K. Aggregation recovers developmental plasticity in mouse polyploid embryos. *Reprod. Fertil. Dev.* In press (bioRxiv: 263533)



## Gene Expression Analysis of *CWPO-C* from Poplar's Isolated Cells obtained by Cryosection followed by Laser Microdissection

Diego Yoshikay, Jun Shigeto, Yuji Tsutsumi  
Forest Chemistry and Biochemistry, School of Agriculture, Kyushu University

### 1 Introduction

A unique class III peroxidase, *CWPO-C*, which has wide substrate spectra, from Poplar (*Populus alba*), has been studied in the relation with lignification in our laboratory (1-3). The *CWPO-C* gene expression analyses by Real time PCR (RT-qPCR) at organ levels such as developing xylem, leaf and shoot, indicated some new insights about the *CWPO-C* functions besides lignification. Plant organs like stems possess different tissue types with different functions. Such in the case, xylem is composed of tracheids, vessels, parenchyma, and fibers. Therefore, it is necessary to determine the more detailed spatiotemporal expression of the gene at tissue/cell level, in order to understand the role of *CWPO-C*.

Laser microdissection (LMD) has been used to collect specific tissue and cell types widely in herbaceous plants, but it has not been used in woody perennials (4). LMD microscopy possess a cutting laser mounted over the microscope lens which enables to micro-dissect and collect the target tissue/cell. LMD is often used for transcripts studies but occasionally used for protein, enzyme and metabolite analyses. Because the gene expression analysis requires the intact preservation of transcripts through all the procedure, it is essential to keep RNase free and cold conditions when manipulating the samples. Sections must be prepared by cryo-condition prior to the microdissection. The microdissection of the cells from woody plants is a challenging step due to the rigidity of the thickened cell wall. Furthermore, the presence of proteins, phenolics and other contaminants in plant cells frequently cause blockage of the extraction and enzyme inhibition. These reasons may explain the lack in reports in terms of gene expression analyses at tissue/cell level in woody perennials so far (4-5).

Temperature while RNA being extracted and purified has a considerable effect over RNA quality and yield. During RNA manipulation samples must be handled with RNase free solutions and RNase free instruments. But, it is also essential to conduct the experiments under low temperature in order to avoid the RNA degradation by endogenous RNases localized inside the cytosol. It is known that any biological activity is stopped under cold conditions, which inhibits the activity of these enzymes at -80°C (6).

This report describes establishing a robust method to study the *CWPO-C* gene expression in specific tissues/cells in poplar plant, but it will further serve as a methodology for the gene expression studies in woody perennials.

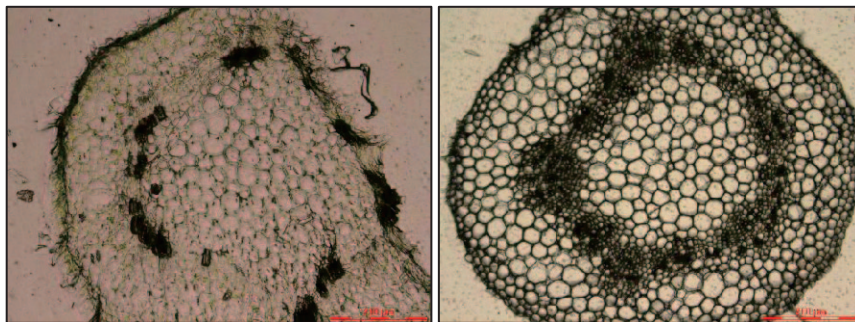
### 2 Experimental and Results

#### 2.1 Plant Material and Cryosection

Explants from two-month-old plantlets of poplar (*Populus alba*) were used, and 0.5 cm explants were processed by cryo-sectioning for laser microdissection. The stem tip and middle stem were mounted in a plastic cryomold (Tissue-Tek, The Netherlands) with embedding medium Cryomatrix (Thermo scientific, USA), snap-frozen in liquid nitrogen, then stored at -80°C for cryostat sectioning overnight. Before cryosection samples were acclimatize at -15°C for 15 minutes inside the cryostat. Twenty-five µm thick sections were made with a Thermo Scientific HM 525 Cryostat (VWR International, PA, USA) at -15°C, and mounted on PEN-membrane 2.0 µm glass slides (Leica, Germany). Glass slides were placed inside a 50 ml Falcon tube and acclimatize to room temperature to avoid dew condensation on the slides. Prior to the microdissection operations, the sections were fixed in cold RNase free 99.5 % ethanol at -20°C for 10 sec, deprived of Cryomatrix medium with RNase free water for 2 min, and refixed in cold RNase free 99.5% ethanol at -20°C for 1 minute. Subsequently the sections mounted on the glass slides were air-dried and microdissected with a LMD instrument at room temperature (6).

Despite cryosectioning is a rapid and cell conservative method to prepare plant sections without degradation of RNA, obtained sections sometimes showed inferior morphology when contrasting to traditional paraffin embedding. To avoid this problem, explants and Cryomatrix were solidified together forming a block, by “flash-freeze” immersing into liquid nitrogen. But, by cause liquid nitrogen boils irregularly, Cryomatrix occasionally freezes uniformly. However, “flash-freeze” is still prompt and simple method to perform forming block. Also, cells must be vacuum infiltrated with a cryopreservant which protects the intact morphology. A high concentration (30%) of sucrose was selected as cryopreservant agent, according to the knowledge that sucrose prevents the formation of ice crystals within the cytosol, leading to keep the cellular structure intact (Fig. 1). Cryo-sectioning is recommended to be conducted at  $-20^{\circ}\text{C}$ , but it could be changed within  $\pm 10^{\circ}\text{C}$  range depending on the stiffness of the explants, by increasing the temperature when explants are more rigid or decreasing the temperature when explants are softer. The Cryomatrix attaches better with explants, between  $-10^{\circ}\text{C}$  to  $-20^{\circ}\text{C}$ . It is considerably important to remove any bubbles from surface of explants to ensure the tight attachment of the embedding compound to keep intact morphology in the sections.

Inside the cryostat, dew condensation on the slides should be avoided by a constant cold dry air outflow current, therefore it is critical to acclimatize the RNase free slide in a close air tight container, such as a Falcon tube.



**Fig. 1.** Cryo-cross section ( $25\ \mu\text{m}$  thickness) of poplar stem. Both embedded in the Cryomatrix and flash-freeze with liquid nitrogen. Left: without 30% sucrose treatment, Right: treated with 30% sucrose and vacuum infiltration. Bar.  $200\ \mu\text{m}$ .

## 2.2 Laser microdissection

Laser microdissection (LMD) is a type of microscope that uses a cutting laser to isolate tissues/cells of interest. The most common application of laser-microdissection is for RNA isolation and transcript analysis by Real time PCR (RT-qPCR). In woody perennials, LMD has been scarcely used but it has the potential to improve the sensitivity of spatial gene expression assays.

In this study LMD was performed as described by Abbot et al. (5) with adaption to the subjected cell and tissue types. The longitudinal-cryo-sections  $25\ \mu\text{m}$  thickness from stem tip and middle stem were allowed to dry at room temperature for 5 min prior to micro-dissection with a LMD7 Laser Micro-dissection Microscope (Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar, Germany). For optimal dissection we used the maximum laser intensity and a slow cutting speed. Different micro-dissected tissues were collected individually into the cap of nuclease free 0.5 ml PCR tubes (Axygen, Union City, CA, USA) containing  $60\ \mu\text{l}$  of lysis buffer. The tubes were then closed and centrifuged at low speed (3000 rpm) for 20 s to sediment the LMD samples, additional  $20\ \mu\text{l}$  of lysis buffer was added and centrifuge for 10 s twice, to a final volume of  $100\ \mu\text{l}$ , finally the tubes were placed on liquid nitrogen.

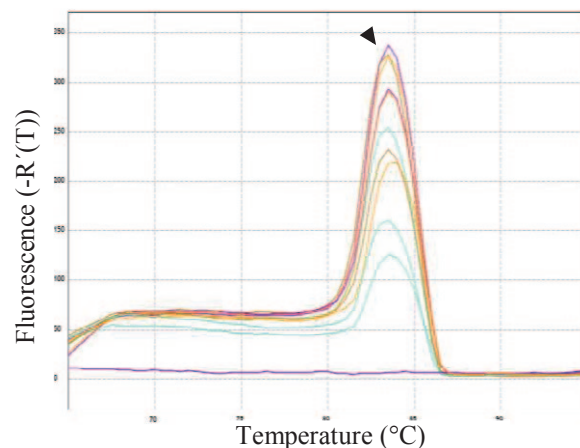
Specific tissue regions were micro-dissected from the stem tip. Cell types selected for LMD at 20x magnification for SAM (Stem apical meristem), ground meristems and pith. In addition, cambium and collenchyma were dissected at 4x magnification. The total cross-sectional area dissected from cryosections was approximately  $100 \times 10^3\ \mu\text{m}^2$  for SAM and  $1000 \times 10^3\ \mu\text{m}^2$  for ground meristem and pith. When different

cell types and tissue regions were micro-dissected from the same cross-section, dissection of one type was always completed before starting the another type to avoid cross-contamination.

The latent risk of RNase contamination increases during microdissection procedure, because the LMD microscope doesn't offer any protection from environmental RNase contamination. As our empirical rule to avoid RNA degradation, microdissection time must not exceed 1 hour/slide, all dos and don'ts for RNA manipulation are compulsory at any moment. The lysis buffer must be kept at 4°C prior to microdissection collection, and the collected dissection samples must be kept in liquid nitrogen until they are subjected to further analyses. It is also necessary to calibrate the laser beam alignment before cutting in order to conduct an accurate dissection.

### 2.3 Micro RNA extraction and Gene Expression Quantification by Real Time Polymerase Chain Reaction

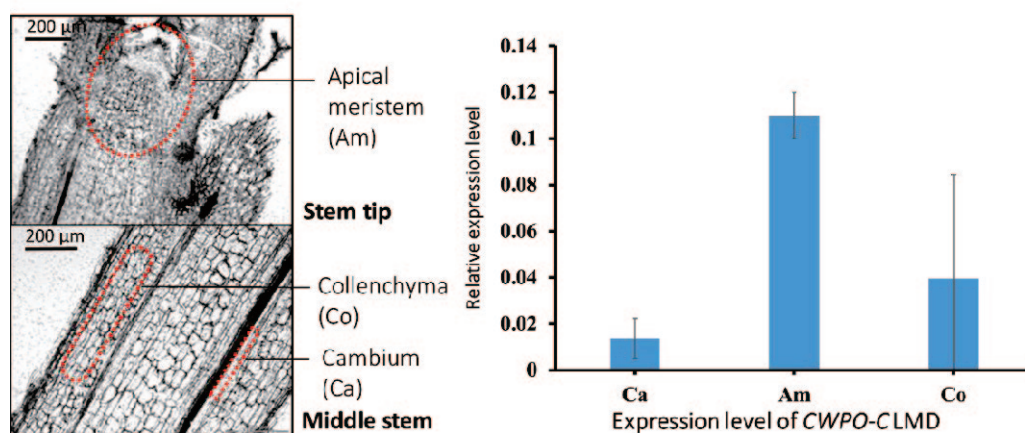
RNA was extracted independently from the candidates tissue type by following the protocol for the RNAqueous-Micro RNA Kit (Ambion, Inc., Austin, TX, USA). Special care when handling RNA tubes was taken. Samples that were transported in liquid nitrogen got successfully amplified. Because RNA was collected from a limited number of cells, it is difficult to confirm the RNA quantity by spectroscopic method. So, the downstream application, RT-qPCR, is usually performed even with the uncertain possibility that RNA is degraded in some samples during the steps between the cryo-sectioning and laser micro-dissection. However, the RNA quality can be examined by determining the melting curves of the reference gene, *ubiquitin* (*UBQ*, Genebank: BU879229), and RNA quantity can be also estimated by the fluorescence intensity of melting curves (Fig. 2).



**Fig. 2.** Melting curve analysis of RNA samples prepared from the laser micro-dissected cell in poplar tree. Amplifying reference gene *UBQ*. Black arrow: Specific amplification at specific  $T_m$  value indicates a good quantity and quality of extracted RNA for each sample.

The target genes were *UBQ* and *CWPO-C*. Amplification data was analyzed using the Agilent Mx Real time PCR software (Agilent, US). Relative transcript abundance was calculated and then normalized to *UBQ* expression (7-8). Reactions with non-discrete melting curves or other anomalies were excluded from analysis.

Low quantity of RNA extracted from tissues was used for gene expression analysis. Apical meristem, cambium and collenchyma tissue samples were compared each other in terms of *CWPO-C* relative expression. Amplification of *CWPO-C* in three different tissue types with low standard deviation values demonstrates a successful procedure in every stage, explants freeze embedding cryosection, and microdissection, unto RNA extraction and reverse transcription. The differences of *CWPO-C* expression among the collected tissue types, suggests that this method is also useful to analyze the gene expression at the tissue/cell level (Fig. 3).



**Fig. 3.** *CWPO-C* expression in the different tissues. RT-qPCR analyses were performed with the RNAs those were prepared from the different tissues collected by the LMD. LMD was conducted with the cryo-section of poplar shoot tip. Standard error represents three biological replicates. Am: Apical meristem, C: Cambium, Co: Collenchyma. Red dotted lines delimit LMD collected area. Scale bar 200  $\mu$ m.

### 3 Conclusion

Spatial expression of *CWPO-C* was determined at tissue level in woody perennial poplar tree. To analyze the gene expression in the specific cell types, special techniques and care were required. During the preparation of sections from explants, RNA protection was achieved under low temperature throughout all the procedure, fixation, embedding, and sectioning. The usage of Cryomatrix and “flash-freeze” in liquid nitrogen was effective for RNA protection. Cryo-sectioning at around  $-15^{\circ}\text{C}$  was suitable for not only RNA protection but also keeping morphology of the sample. It is also definitively required the use of liquid nitrogen for the preservation of samples, such as explants, sections, and laser micro-dissected cells. In this study, it was demonstrated the feasibility to analyze the expression of the gene of interest in the specific tissue/cell level in woody perennials like poplar. The process includes special techniques and care for cryo-fixation, -embedding, -sectioning. Therefore, it would serve as a reference for the further gene expression studies at the specific tissue/cell level in woody perennials.

### References

1. Sasaki S., Nishida T., Tsutsumi Y., Kondo R. Lignin dehydrogenative polymerization mechanism: a poplar cell wall peroxidase directly oxidizes polymer lignin and produces in vitro dehydrogenative polymer rich in  $\beta$ -O-4 linkage. (2004). *FEBS Lett.* pp. 197-201.
2. Tsutsumi Y., Sakai K., Matsui K. Substrate-Specific Peroxidases in Woody Angiosperms and Gymnosperms Participate in Regulating the Dehydrogenative Polymerization of Syringyl and Guaiacyl Type Lignins. (1998). *Holzforchung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*, Volume 52, Issue 3, pp 275–281.
3. Shigeto J., Tsutsumi Y. Diverse functions and reactions of class III peroxidases. *New phytologist.* (2015). 209:1395-1402.
4. Abbott E., Hall D., Hamberger B., Bohlmann J. Laser microdissection of conifer stem tissues: Isolation and analysis of high quality RNA, terpene synthase enzyme activity and terpenoid metabolites from resin ducts and cambial zone tissue of white spruce (*Picea glauca*). (2010) *BMC Plant Biology.* 10:106. doi: 10.1186/1471-2229-10-106.
5. Nagy NE., Sikora K., Krokene P., Hietala AM., Solheim H., Fossdal CG.. Using laser micro-dissection and qRT-PCR to analyze cell type-specific gene expression in Norway spruce phloem. (2013) *Peer J* 2:e362; DOI 10.7717/peerj.362.
6. Castro-Rodríguez V., García-Gutiérrez A., Cañas Rafael A., Belén Pascual M., Avila C., Cánovas F. Redundancy and metabolic function of the glutamine synthetase gene family in poplar. (2015). *BMC Plant Biology* 15:20 DOI 10.1186/s12870-014-0365-5.
7. Pettengill E.A., Parmentier-Line C., Coleman G.D.. Evaluation of qPCR reference genes in two genotypes of *Populus* for use in photoperiod and low-temperature studies. (2012). *BMC Research notes.* doi: 10.1186/1756-0500-5-366.
8. Brunner AM., Yakovlev IA., Strauss SH.. Validating internal controls for quantitative plant gene expression studies. (2004). *BMC Plant Biology.* doi: 10.1186/1471-2229-4-14.

## 伊都キャンパスにおける寒剤配送方法について

○上田 雄也<sup>A</sup>、佐藤 誠樹<sup>AB</sup>  
低温センター<sup>A</sup>、工学部技術部<sup>B</sup>

## 1. はじめに

九州大学低温センターでは、低温を利用する研究者に対し寒剤（液体窒素・液体ヘリウム）の供給を行っている。伊都地区センターは平成 18 年度に設立され、平成 19 年度 10 月より工学研究院・システム情報科学研究院等、平成 27 年度 10 月には理学研究院、平成 30 年度 6 月ごろには農学研究院に対し寒剤供給を開始した。

低温センターでは、年間約 20 万リットルの液体窒素、約 2～3 万リットルの液体ヘリウムを供給している。伊都キャンパスは坂道が多く、寒剤が充填された容器を運搬するには危険が伴うことから、21L 以上の寒剤容器に関しては、利用者自ら運搬することを禁止している。21L 以上の容器に関しては、配送用トラックにより、寒剤の配送サービスを行っている。

九州大学では、平成 30 年度に箱崎キャンパスから伊都キャンパスへの移転が完了した。これに伴い、この寒剤の配送サービスについて若干変更を行った。今回は、従来の配送サービスと問題点、新しい配送サービスの紹介を記述する。

## 2. 従来の配送方法について

低温センターでは寒剤発注システムを導入しており、利用者からの寒剤発注はすべてこのシステムを使用して行われる。配送パターンは A、B、C パターンの 3 つであり、A パターンは利用者自ら寒剤容器を低温センターに持ち込み、充填を受ける。B パターンは委託業者が研究室まで配送を行う。C パターンは低温センター職員が建物下まで配送を行う。（表 1 参照）

表 1 従来の寒剤配送パターン

パターン	配送者	供給可能日	対象部局	管理・運営	備考
A	利用者	週 5 日 随時	全部局	低温センター	20L 以下限定
B	委託業者	週 5 日 随時	工学部系部局	工学部事務局	研究室まで配送
C	低温センター	週 3 日 1 日 1 回	理学部系部局	低温センター	建物下まで配送

B パターンと C パターンを分ける必要性が無いように感じられるかもしれないが、実はこの B パターンは、工学部系部局独自で業者と契約を結んでいる。平成 19 年度に工学部系部局が先行移転した際に、ガスボンベの管理、ガス集中配管の管理等と同契約の中に寒剤配送も入れ契約された。この時点では、低温センターは寒剤供給のための施設であり、研究室までの配送は研究室あるいは部局が考えるべきという考えがあったためである。その後、平成 27 年度には理学系部局が移転したが、その際この工学部系部局と同様の契約を結ぶと高額であると判断され、別の方法に決着した。ガスボンベの管理については管理システムだけ導入し、注文、返却の手続きは研究室自ら行うことで費用を軽減、さらに寒剤配送については、低温センターが最大限可能な方法でサポートを行い、費用を軽減するというものであった。この低温センターが最大限可能な方法というのが C パターンである。低温センター職員が配送を行うため、他の業務に支障をきたさぬよう週 3 日（1 日 1 回）が限度であった。

### 3. 従来の配送方法の問題点

従来の配送方法で発生した問題点がいくつかある。

#### ・問題点（1）

Bパターンは「工学系部局」と書いたが、この中には先行移転部局である、工学研究院・システム情報科学研究所・カーボンニュートラル国際研究所、先導物質科学研究所などの部局が含まれる。移転が進むに伴い部局が増えていったが、事務手続きに関しては当初のまま工学部等事務部がまとめて行っており、工学部等事務部としての負担が大きくなった。

#### ・問題点（2）

Bパターンは、週5日随時対応としている。随時対応とは、発注がある度に、研究室まで行き空容器を引き取り、充填後、研究室まで配送を行う。移転が進むにつれて、随時対応では時間的に困難となりつつあり、時間制限等を考える必要があった。しかし、契約は工学部等主体であり、契約内容を低温センターで変更できるものではなかった。

#### ・問題点（3）

Cパターンは、利用者から、「研究に支障をきたすため、配送日を増やして欲しい」という意見が多く寄せられた。

#### ・問題点（4）

Bパターン、Cパターンと異なる配送パターンで運営することにより、管理業務、人員配置が効率性にかけており、大学全体として見たときにコストが高いつている。

### 4. 新しい寒剤配送方法

3. での問題点を解消するため、平成30年4月から新しい寒剤配送方法を開始した。まず、工学部系部局が業務委託している、ガスボンベの管理、ガス集中配管の管理、寒剤配送の中から、寒剤配送を抜き出し、低温センターが業務委託契約することとした。また、Cパターンを廃止し、低温センター業務委託契約の中に入れることにした。（表2参照）

表2 新しい寒剤配送パターン

パターン	配送者	供給可能日	対象部局	管理・運営	備考
A	利用者	週5日 随時	全部局	低温センター	20L以下限定
新B	委託業者	週5日 1日2回			研究室まで配送

このことにより、各部局で異なる寒剤配送方法の統一化を実現し、効率的な管理、人員配置等が行え、低温センターによる考えのもと迅速、臨機応変に配送方法等の変更が行える環境が整った。管理・運営に係る業務は低温センターが行うことで、工学部等事務部にとっても、寒剤配送に係る管理業務が手から離れ、少しは負担軽減となったと考えられる。

費用面については、低温センターでは新たに業務委託費が発生している。しかしながら、寒剤配送にかかる大学全体の費用としては低減された格好であることを大学事務局にご理解いただき、業務委託費について、ご支援いただくことができた。ただし、平成31年度以降は、利用者負担について検討する前提でのご支援であり、今後具体的に利用者負担について考えていく必要がある。

新Bパターンについては、1日2回に限定している。これにより、容器引き取り業務、充填後の配送業務が効率的に行えるようになった。具体的には下記参照。

午前	時間	作業内容
8時までの 発注について	9時15分～10時15分	空容器の引取り
	適宜	液体窒素充填
	11時00分～12時00分	充填容器の配送

午後	時間	作業内容
12時までの 発注について	13時15分～14時15分	空容器の引取り
	適宜	液体窒素充填
	15時00分～16時00分	充填容器の配送

## 5. 配送ルール

最後に、低温センターで取りまとめた、配送ルールを掲載しておく。ただし、各部局には各部局のルールがあり、干渉できない部分があるため、今後全学の統一ルールとするよう関係部署に働きかけていきたいと考えている。

### 寒剤運搬時のルール（低温センター）

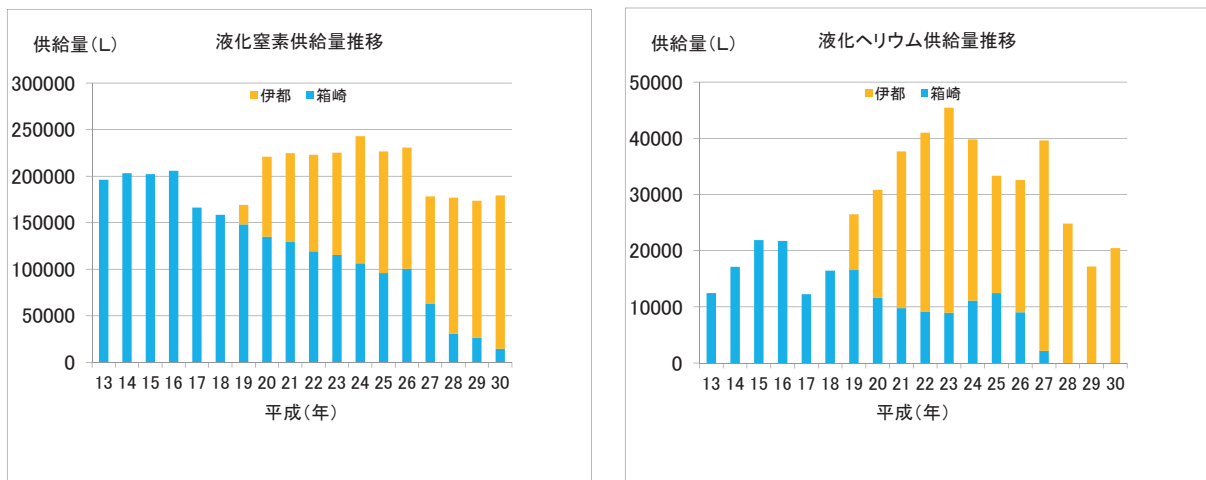
建物内	廊下	・ 建物上下方向の移動を除き、運搬可とする。
	階段	・ 危険性のない容器（小容量容器等）については、留意して運搬すること。
	エレベータ	・ 人は同乗しない。 ・ 運搬は必ず2名以上で行い、1名は先行階を押し、もう1名は目的階で受け取れるよう待機しておく。  ただし、委託業者（LCSセンター等）が、特別な安全対策（非常用呼吸器常備など）を行った上で運搬を行う場合、この限りでは無い。
道路上	手押し 手押し 台車	・ 平坦な道路であれば、容量制限なく運搬可とする。 ・ 坂道であれば、容量が単体で20L以下の容器のみとし、固定方法等に留意し、転倒防止策を講ずること。
	乗用車 の ルール	・ 容量が単体で20L以下の容器のみとする。 ・ 容量の合計が50Lを越えた場合、車両の前後に高圧ガス警戒表を貼る。 （計算は満充填の1/2以上充填している容器に限る） ・ ロープ等での固定や、凹凸のある道路を避ける等の転倒防止策を講ずる。 ・ 同空間に同乗する場合は、窓を開ける。
	トラック の ルール	・ 容量が単体で50L以上の容器を運搬する場合は、保安上必ず2名で行う。 ・ 容量が単体で25Lを超えた場合、あるいは容量の合計が50Lを越えた場合、車両の前後に高圧ガス警戒表を貼る。 （計算は満充填の1/2以上充填している容器に限る） ・ ロープ等での固定や、凹凸のある道路を避ける等の転倒防止策を講ずる。 ・ 同空間に同乗する場合は、窓を開ける。

## 低温センターの活動 等

### 1 寒剤供給量推移

伊都キャンパス移転に伴い、箱崎地区センターの業務は平成 30 年度 8 月をもって終了した。

伊都地区センター：工学研究院、理学研究院、システム情報科学研究院、水素利用技術研究センター、未来科学創造センター、先導物質化学研究所、超伝導システム科学研究センター、中央分析センター 等  
箱崎地区センター：農学研究院、医学研究院、生体防御医学研究所、アイソトープ総合センター、歯学研究院 等



寒剤供給単価	液体窒素	液体ヘリウム
	68 円/ℓ	551 円/ℓ

### 2 高圧ガス保安管理業務

低温寒剤を供給するために設置されている設備は、高圧ガス製造設備であり、伊都地区センターは第一種高圧ガス製造所として福岡市に許可申請・登録されている。高圧ガス製造設備は高圧ガス保安法により保安講習会等の実施や、保安検査・定期自主検査・開放検査などの検査が義務付けられており、これら検査に合格しなければ高圧ガスの製造を行うことができない。保安係員の監督下でこれらを実施している。

各地区センターの高圧ガス製造所保安係員、保安係員代理、保安責任者

	保安係員	保安係員代理
伊都地区センター	河江、上田	光田、稲垣、佐藤、松尾

#### 2. 1 日常点検 (3 回以上/日)

設備の運転状態について、始業時・運転時・終業時など 3 回以上頻繁に行っている。



## 2. 2 定期自主検査 (1回/年)

高圧ガス保安法の規定に基づく、耐圧検査・気密検査・安全弁検査・圧力計検査・日常記録簿検査など多項目の検査。この検査を実施しなければ、保安検査に合格しない。

平成30年 伊都地区センター4月実施

## 2. 3 開放検査 (各機器の周期に応じて)

高圧ガス保安法の規定に基づき、ヘリウム液化システムの耐圧性能を分解および非破壊検査によって確認する。また、各機器のメンテナンスや部品の交換も行う。この検査を実施しなければ、保安検査に合格しない。

平成30年 伊都地区センター11月実施(ヘリウム長尺容器、ヘリウム回収圧縮機等)

## 2. 4 保安検査 (1回/年)

高圧ガス保安法の規定に基づく、福岡市または指定保安検査機関による検査。この検査に不合格の場合は寒剤供給停止となるが、合格を継続中である。

平成30年 伊都地区センター4月合格

## 2. 5 高圧ガス製造事業所保安係員等講習会 (初回3年以内 以降5年以内)

高圧ガス保安法の規定に基づく、製造事業所の保安係員を対象とした講習会。製造保安責任者免状の交付を受けてから3年以内に、2回目以降は5年以内に受講しなければならない。

平成30年 受講者2名(河江、上田)

## 2. 6 高圧ガス製造事業所保安講習会 (1回程度/年)

高圧ガス保安協会が主催する、製造事業所対象の保安講習会。高圧ガス保安法および福岡県の保安行政、近年の事故例等の講習。

平成30年 受講者 なし

## 2. 7 寒剤の取り扱いに関する見学会 (随時)

低温センターの安全利用に関し、実際に現場で説明・実施し、教育指導を行うための見学会。具体的に寒剤の汲み出し方法や、汲み出し時のルール説明等を行う。

## 2. 8 防災訓練・消火器訓練

万が一の事故発生に際しどのような対策をしていくか、事故発生の想定のもと防災訓練を実施し、各担当間の連絡対応が速やかできるよう確認する。また火災発生時に、消火器がスムーズに使用できるよう訓練する。

平成30年 防災訓練(伊都地区センター4月)

## 2. 9 全学寒剤・高圧ガス利用者保安講習会

低温センターでは、九州大学安全衛生推進室高圧ガス部門・LCSセンターと共同で、各キャンパスにて寒剤・高圧ガス利用者保安講習会を実施している。この講習会は、全学の寒剤・高圧ガス利用者が保安に関する知識を深め、寒剤・高圧ガスによる酸欠や爆発などの事故をおこさず、安全に実験がおこなえるよう、テキストやビデオを用いて実施している。

### ◆伊都キャンパス

①H30. 6. 27 総合学習プラザ

受講者：497名

②H30. 12. 19 椎木講堂大会議室

受講者：284名

### ◆箱崎キャンパス

①H30. 6. 25 旧工学部大講義室

受講者：95名

### ◆馬出キャンパス

①H30. 6. 18 講義棟 4F 大講義室

受講者：185名

②H30. 12. 21 講義棟 4F 大講義室

受講者：56名

### ◆筑紫キャンパス

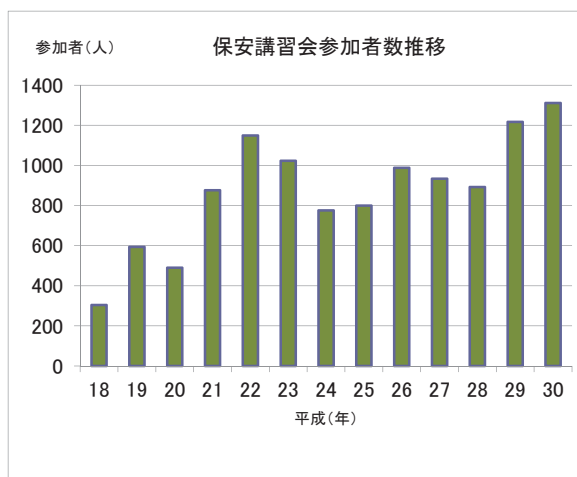
①H30. 6. 20 筑紫ホール

受講者：175名

②H30. 12. 17 筑紫ホール

受講者：19名

保安講習会の様子（伊都キャンパス）



## 3 社会的貢献

低温センターでは、オープンキャンパス等で訪れる一般の方や中高生に、寒剤供給施設の公開や液体ヘリウム・液体窒素を利用した実験のデモンストレーションなどを行っている。通常では見られない施設や現象の一般公開は、低温科学の啓発に役立つとともに、中高生たちの視野・可能性の拡大に大きく貢献している。

3月：体験入学 5月：開学記念

8月：オープンキャンパス など



オープンキャンパス(2018. 8. 4)

## 4 センターからのお知らせ

### 4. 1 センターだよりへの投稿について

低温センターだより編集部では、「低温センターだより」への投稿あるいは記事を希望される執筆者（自薦・他薦）を歓迎しております。研究に関するものに限らず、一般的に役立つような実験技術、情報等もお寄せください。

- 1) 研究ノート 最近の研究に関する報告、話題の紹介、新しい試みなど。
- 2) 技術ノート 技術面からの話題の紹介、知っておいたら役に立ちそうな事柄等。
- 3) その他 編集部よりの報告・紹介等。

投稿、推薦したい場合は、以下の内容をご連絡下さい。

- 題目・執筆者・所属・連絡先・E-mail Address・アブストラクト  
皆様からの気軽な連絡をお待ちしております。

### 4. 2 低温センターからの学内LAN利用について

パーソナル・コンピュータ（もしくはワークステーション）を学内LANに接続して利用することを希望される方、今後、学内LANの利用を検討しようとお考えの方は、LAN管理者（下記）までご連絡下さい。

連絡先 工学研究院 助教 稲垣祐次

092-802-3522（内線 伊都 3522）[inagaki.yuji.318@m.kyushu-u.ac.jp](mailto:inagaki.yuji.318@m.kyushu-u.ac.jp)

### 4. 3 寒剤の利用について

寒剤の供給を受けるためには、事前の容器登録が必要です。登録方法については、低温センターホームページをご覧ください。

◇伊都地区での寒剤利用について

「寒剤発注・管理システム」でのウェブ発注となります。事前に区管理管理者登録が必要です。

寒剤発注・管理システム <http://lrc.kyushu-u.ac.jp/kanzai/>

### 4. 4 寒剤容器貸出について

貸出容器利用方法

詳細はHPをご覧ください

#### ◆基本的なルール◆

- ・容器検査期間中や突発的な容器の故障など、数日から数週間の短期貸出を基本とします。
- ・使用者側の重大な過失により貸出容器に故障などがあった場合、修理費用は使用者負担とします。（定期的なメンテナンス費用は、低温センターが負担）
- ・貸出容器の利用には、利用日前日までに予約が必要です。

#### ◆伊都地区予約方法◆

伊都地区の貸出容器を利用される場合は、電話またはメールにてお尋ねください。

【90-8060 諸富 [morodomi@lrc.kyushu-u.ac.jp](mailto:morodomi@lrc.kyushu-u.ac.jp)】

**低温センター運営委員** (2019年3月現在)

低温センター長	理学研究院	教授	木村 崇
副低温センター長	システム情報科学研究院	教授	木須 隆暢
複担教員	理学研究院	教授	和田 裕文
複担教員	理学研究院	准教授	光田 暁弘
複担教員	工学研究院	准教授	河江 達也
	理学研究院	教授	大場 正昭
	工学研究院	准教授	清水 宗治
	システム情報科学研究院	教授	岩熊 成卓
	農学研究院	教授	堤 祐司
	薬学研究院	准教授	松永 直哉
	先導物質化学研究所	准教授	奥村 泰志
	環境安全衛生推進室 (高圧ガス)	教授	吉田 茂
	工学部等事務部	事務部長	川崎 輝之
	理学部等事務部	事務長	黒岩 由美

## 低温センターを利用した論文 (2018)

工学研究院 エネルギー量子工学部門

### 河江研究室

1. Cluster-Based Haldane State in an Edge-Shared Tetrahedral Spin-Cluster Chain: Fedotovite  $K_2Cu_3(SO_4)_3$   
M. Fujihala, T. Sugimoto, T. Tohyama, S. Mitsuda, R.A.Mole, D.H.Yu, S.Yano, Y. Inagaki, H. K. Morodomi, T. Kawae, H. Sagayama, R. Kumai, Y. Murakami, K. Tomiyasu, A. Matsuo and K. Kindo  
Phys. Rev. Lett. **120**, 077201 (2018).
2. Low-Temperature hydrogen absorption into V and Nb metals from liquid hydrogen  
H. Takada, K. Ienaga, M. Shiga, M. S. Islam, Y. Inagaki, K. Hashizume and T. Kawae  
Journal of Physics: Conference Series, **969**, 012008 (2018).
3. Impurity effects of hydrogen and deuterium in vanadium nanoconstrictions  
M. S. Islam, Y. Ueno, H. Takada, Y. Inagaki, K. Hashizume and T. Kawae  
Journal of Physics: Conference Series, **969**, 012046 (2018).
4. トンネル効果による金属内への水素吸蔵  
家永紘一郎、高田弘樹、河江達也  
固体物理 Vol.53 No.6, 317 (2018).
5. Two-dimensional triangular-lattice  $Cu(OH)Cl$ , belloite, as a magnetodielectric system  
Xu-Guang Zheng, Ichihiro Yamauchi, Shigeto Kitajima, Masayoshi Fujihala, M. Maki, Sanghyun Lee, Masato Hagihala, S. Torii, T. Kamiyama, and Tatsuya Kawae  
Physical Review Materials, **2**, 104401 (2018).
6. In situ Magnetization Measurement of Superconducting Transition in  $PdH_{0.82}$  and  $PdD_{0.79}$  Prepared by Low-Temperature Absorption  
Yuji Inagaki, Si Wen, Yousuke Kawasaki, Hiroki Takata, Yuji Furukawa, and Tatsuya Kawae  
J. Phys. Soc. Jpn. **87**, 123701 (2018).

### 前畑研究室

1. Simulation model of transmitted X-rays in polycapillary optics for TES microcalorimeter EDS system on scanning transmission electron microscope  
Akira Takano, Keisuke Maehata, Naoko Iyomoto, Toru Hara, Kazuhisa Mitsuda, Noriko Yamasaki, and Keiichi Tanaka  
IEEE Transactions on Nuclear Science, VOL. 65, 758-765, DOI: 10.1109/TNS.2017.2786703, (2018)

2. Vortex dynamics in superconducting transition edge sensors  
S. Ezaki, K. Maehata, N. Iyomoto, T. Asano, and B. Shinozaki  
Journal of Applied Physics, 123, 084504, DOI: 10.1063/1.5013624, (2018)
3. Dielectric microcalorimeter utilizing a quantum ferroelectric thermometer  
Shota Yoshimoto, Maehata Keisuke, Iyomoto Naoko, Mitsuda Kazuhisa, Yamasaki Noriko  
Journal of Nuclear Science and Technology, DOI: 10.1080/00223131.2018.1449676, (2018)
4. Development of a Dielectric Microcalorimeter with Quantum Ferroelectric Materials  
S. Yoshimoto, K. Maehata, N. Iyomoto, K. Mitsuda, N. Yamasaki  
Journal of Low Temperature Physics, DOI:10.1007/s10909-018-2066-1, (2018)
5. Spectroscopic Measurements of L X-rays with a TES Microcalorimeter for a Non-destructive Assay of Transuranium Elements  
Nakamura, K; Morishita, Y; Takasaki, K; Maehata, K; Sugimoto, T; Kiguchi, Y; Iyomoto, N; Mitsuda, K  
Journal of Low Temperature Physics, Vol. 193, 314-320, DOI: 10.1007/s10909-018-1953-9, (2018)
6. An X-ray TES Detector Head Assembly for a STEM-EDS System and Its Performance  
Hayashi, T; Muramatsu, H; Maehata, K; Yamasaki, NY; Mitsuda, K; Takano, A; Yoshimoto, S; Maehata, K; Hidaka, M; Yamamori, H  
Journal of Low Temperature Physics, Vol. 193, 1282-1286, DOI: 10.1007/s10909-018-2013-1, (2018)

工学研究院 応用化学部門

久枝研究室

1. Photocatalytic function of the B<sub>12</sub> complex with the cyclometalated iridium(III) complex as a photosensitizer under visible light irradiation  
Hui Tian, Hisashi Shimakoshi, Gyurim Park, Sinheui Kim, Youngmin You, Yoshio Hisaeda  
Dalton Trans. 47, 675-683 (2018)
2. Electrochemistry and catalytic properties of vitamin B<sub>12</sub> derivatives in nonaqueous media  
Hisashi Shimakoshi, Yoshio Hisaeda  
Cunn. Opin. Electrochem., 8, 24-30 (2018).
3. Learning from B<sub>12</sub> enzymes: biomimetic and bioinspired catalysts for eco-friendly organic synthesis  
Keishiro Tahara, Ling Pan, Toshikazu Ono, Yoshio Hisaeda  
Beilstein J. Org. Chem. 14, 2553-2567 (2018).

4. First entry into nonmetal-centered porphycenes: synthesis of a phosphorus(V) complex of octaethylporphycene  
Masaaki Abe, Hiroto Mukotaka, Taro Fujioka, Toru Okawara, Kei Umegaki, Toshikazu Ono, Yoshio Hisaeda  
Dalton Trans. 47, 2487-2491 (2018)
5. Piezofluorochromism in charge-transfer inclusion crystals: The influence of high pressure versus mechanical grinding  
Toshikazu Ono, Yoshifumi Tsukiyama, Ai Taema, Hiroyasu Sato, Hidetoshi Kiyooka, Yuma Yamaguchi, Ayumi Nagahashi, Manami Nishiyama, Yuichi Akahama, Yoshiki Ozawa, Masaaki Abe, Yoshio Hisaeda  
ChemPhotoChem, 2, 416-420 (2018)
6. Cobalt-carbon bond formation reaction via ligand reduction of porphycene-cobalt(II) complex and its noninnocent reactivity  
Taro Koide, Isao Aritome, Tatsuya Saeki, Yoshitsugu Morita, Yoshihito Shiota, Kazunari Yoshizawa, Hisashi Shimakoshi, Yoshio Hisaeda  
ACS Omega, 3, 4027-4034 (2018)
7. Synthesis of trifluoromethylated B<sub>12</sub> derivative and photolysis of cobalt(III)-trifluoromethyl bond  
Toshikazu Ono, Kosuke Wakiya, Md. Jakir Hossain, Hisashi Shimakoshi, Yoshio Hisaeda  
Chem. Lett., 247, 979-981 (2018)
8. Switching of monomer fluorescence, charge-transfer fluorescence, and room-temperature phosphorescence induced by guest inclusion in a supramolecular host  
Toshikazu Ono, Ai Taema, Aiko Goto, Yoshio Hisaeda  
Chem. Eur. J., 24, 17487-17496 (2018)
9. Gram-scale synthesis of porphycene derivatives by oxidative macrocyclization of E/Z-mixed 5,6-diaryldipyrroethenes  
Toshikazu Ono, Ning Xu, Daiki Koga, Toshihiro Ideo, Manabu Sugimoto, Yoshio Hisaeda  
RSC. Adv., 8, 39269-39273 (2018)
10. Visible light-driven, one-pot amide synthesis catalyzed by the B<sub>12</sub> model complex under aerobic conditions  
Hui Tian, Hisashi Shimakoshi, Toshikazu Ono, Yoshio Hisaeda  
ChemPlusChem., in press.
11. Redox behavior of the  $\beta$ -dihydroporphycene cobalt complex: study on the effect of hydrogenation of the ligand.  
Koichi Hashimoto, Taro Koide, Toru Okawara, Hisashi Shimakoshi, Yuta Hori, Yoshihito Shiota,

Kazunari Yoshizawa, Yoshio Hisaeda  
Dalton Trans., in press.

#### 田中研究室

1. Heterogeneous Adhesion of Cells on Polymer Surfaces with Underlying Amorphous/crystalline Phases  
H. Matsuno, S. Irie, T. Hirata, R. Matsuyama, Y. Oda, H. Masunaga, Y. Seki, S. Aoshima, K. Tanaka  
*J. Mater. Chem. B* 6(6), 903-907 (2018)
2. Design of a Well-defined Polyrotaxane Structure on a Glassy Polymer Surface  
H. Taneda, A. Shundo, H. Matsuno, K. Tanaka  
*Langmuir* 34(2), 709-714 (2018)
3. Locally Favored Two-dimensional Structures of Block Copolymer Melts on Non-neutral Surfaces  
M. Sen, N. Jiang, M. K. Endoh, T. Koga, A. Ribbe, A. Rahman, D. Kawaguchi, K. Tanaka, D.-M. Smilgies  
*Macromolecules* 51 (2), 520-528 (2018)
4. Conformational Relaxation of Poly(styrene-*co*-butadiene) Chains at Substrate Interface in Spin-coated and Solvent-Cast Films  
B. Zuo, M. Inutsuka, D. Kawaguchi, X. Wang, K. Tanaka  
*Macromolecules* 51 (6), 2180-2186 (2018)
5. Cellular Behaviors on Polymeric Scaffolds with 2D-patterned Mechanical Properties  
S. Shimomura, H. Matsuno, Y. Kinoshita, S. Fujimura, K. Tanaka  
*Polym. J.* 50(8), 737-743 (2018)
6. Mesoscopic Heterogeneity in Pore Size of Supramolecular Networks  
Y. Matsumoto, A. Shundo, M. Ohno, N. Tsuruzoe, M. Goto, K. Tanaka  
*Langmuir* 34(25), 7503-7508 (2018)
7. Enhanced Thermal Stability of Polystyrene by Interfacial Noncovalent Interactions  
Y. Hong, Y. Li, F. Wang, B. Zuo, X. Wang, L. Zhang, D. Kawaguchi, K. Tanaka  
*Macromolecules* 51(15), 5620-5627 (2018)
8. Fracture Mechanism Change at a Heterogeneous Polymer–Polymer Interface Reinforced with in Situ Graft Copolymers  
H. Kim, D. Kawaguchi, K. Tanaka, Y. Seo  
*Langmuir* 34(37), 11027-11033 (2018)



9. Direct Observation of Conformational Relaxation of Polymer Chains at Surfaces  
H. K. Nguyen, M. Inutsuka, D. Kawaguchi, K. Tanaka  
ACS Macro Lett. 7(10), 1198-1202 (2018)
10. Impact of the Solid Interface on Proton Conductivity in Nafion Thin Films  
Y. Ogata, T. Abe, S. Yonemori, N. L. Yamada, D. Kawaguchi, K. Tanaka  
Langmuir 34(50), 15483-15489 (2018)

#### 小江研究室

1. A MnI Model for the Photoinhibited Species of Oxygen-Evolving Complex.  
Yatabe, Takeshi; Tokunaga, Taisuke; Matsumoto, Takahiro; Kikkawa, Mitsuhiro; Yoon, Ki-Seok; Ogo, Seiji.\*  
Chem. Lett., 471), 34–36. (2018)
2. Multifunctional Catalysts for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-resistant Hydrogen Fuel Cells.  
Mori, Yuki; Ando, Tatsuya; Matsumoto, Takahiro; Yatabe, Takeshi; Kikkawa, Mitsuhiro; Yoon, Ki-Seok; Ogo, Seiji.\*  
Angew. Chem. Int. Ed., 57(48), 15792–15796. (2018)
3. Oxidation of Guanosine Monophosphate with O<sub>2</sub> via a Ru-peroxo Complex in Water.  
Takenaka, Makoto; Kikkawa, Mitsuhiro; Matsumoto, Takahiro; Yatabe, Takeshi; Ando, Tatsuya; Yoon, Ki-Seok; Ogo, Seiji.\*  
Chem. Asian J., 13(21), 3180–3184. (2018)
4. 酸化還元酵素を範としたエネルギー変換反応の構築  
工学府、物質創造工学専攻  
徳永 泰介 (2018)

#### 工学研究院 化学工学部門

##### 上平研究室

1. Characterization of genetically engineered mouse hepatoma cells with inducible liver functions by overexpression of liver-enriched transcription factors  
Hideaki Yamamoto, Jane Marie Tonello, Takanori Sambuichi, Yoshinori Kawabe, Akira Ito, Masamichi Kamihira  
Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 125, No. 1, pp. 131–139 (2018)
2. Targeted knock-in of an scFv-Fc antibody gene into the *hprt* locus of Chinese hamster ovary cells using CRISPR/Cas9 and CRIS-PITCh systems

Yoshinori Kawabe, Shinya Komatsu, Shodai Komatsu, Mai Murakami, Akira Ito, Tetsushi Sakuma, Takahiro Nakamura, Takashi Yamamoto, Masamichi Kamihira

Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 125, No. 5, pp. 599–605 (2018)

3. Cre-mediated transgene integration in Chinese hamster ovary cells using minicircle DNA vectors  
Xue Wang, Yoshinori Kawabe, Takeshi Hada, Akira Ito, Masamichi Kamihira  
Biotechnology Journal, Vol. 13, No. 7, 1800063 (2018)
4. Fabrication of muscle-neuron constructs with improved contractile force generation using C2C12/PC12 coculture system  
Md. Arifuzzaman, Akira Ito, Kazushi Ikeda, Yoshinori Kawabe, Masamichi Kamihira  
Tissue Engineering Part A, doi: 10.1089/ten.TEA.2018.0165 (2018)
5. Neural differentiation of mouse induced pluripotent stem cells using cadherin gene-engineered PA6 feeder cells  
Paerwen Paerhati, Akira Ito, Kantaro Yoshioka, Kaori Iwamoto, Sho Fujiwara, Masanobu Horie, Yoshinori Kawabe, Masamichi Kamihira  
Journal of Bioscience and Bioengineering, doi: 10.1016/j.jbiosc.2018.10.009 (2018)
6. 合成生物学的アプローチによる遺伝子発現システムの開発と組織工学への応用  
システム生命科学府、システム生命科学専攻  
小野 章彦 (2018 年)
7. 骨格筋ティッシュエンジニアリングにおける筋機能強化および収縮活性評価に関する研究  
システム生命科学府、システム生命科学専攻  
池田 一史 (2018 年)

### 三浦研究室

1. Regulating Detectable Optical Domain in Sensing Technology Using Metal Mesh Devices and Detection of Submicron-size Particles  
Kamba Seiji, Seto Hirokazu, Kondo Takashi, Miura Yoshiko  
ANALYTICAL SCIENCES 34(5) 547-552 (2018)
2. Self-Assembly of a Double Hydrophilic Block Glycopolymers and the Investigation of Its Mechanism  
Oh Takahiro, Nagao Masanori, Hoshino Yu, Miura Yoshiko  
LANGMUIR 34(29) 8591-8598 (2018)
3. Size-tuned hydrogel network of palladium-confining polymer particles: a highly active and durable catalyst for Suzuki coupling reactions in water and ambient temperature

Hikaru Matsumoto, Takanori Akiyoshi, Yu Hoshino, and Yoshiko Miura  
Polymer Journal 50 1179-1186 (2018)

4. Verification of the Universal Versatility of a Quantitative Protein Measurement Technique Using a Metal Mesh Device  
Kamba Seiji, Seto Hirokazu, Kondo Takashi, Miura Yoshiko  
ANALYTICAL SCIENCES 34(7) 765-770 (2018)
5. Bacterial Inhibition and Osteoblast Adhesion on Ti Alloy Surfaces Modified by Poly(PEGMA-r-Phosmer) Coating  
Cui Xinnan, Murakami Tatsuya, Tamura Yukihiko, Aoki Kazuhiro, Hoshino Yu, Miura Yoshiko  
ACS APPLIED MATERIALS & INTERFACES 10(28) 23674-23681 (2018)
6. Reversible pKa Modulation of Carboxylic Acids in Temperature-Responsive Nanoparticles through Imprinted Electrostatic Interactions  
Hoshino Y, Jibiki T, Nakamoto M, Miura Y  
ACS applied materials & interfaces 10(37) 31096-31105 (2018)
7. Controlling the lectin recognition of glycopolymers via distance arrangement of sugar blocks  
K. Jono, M. Nagao, T. Oh, S. Sonoda, Y. Hoshino, Y. Miura  
Chemical Communications 54, 82-85 (2018)

先導物質化学研究所 分子システム科学部門

高原研究室

1. Synthesis of a Bio-Inspired Catechol/Phosphorylcholine Surface Modifier and Characterization of its Surface Properties,  
Y. Zhang, T. Hirai, W. Ma, Y. Higaki, K. Kojio, A Takahara  
J. Polym. Sci. Chem. Ed., 56, 38–49 (2018).
2. Design of High-Density Helical Polymer Brush on Silica Nanoparticles for the Size Recognition of Fullerene Molecules,  
M. Sato, T. Kato, H. Shimamoto, K. Kamitani, N. Ohta, T. Hirai, A, Takahara,  
ACS Macrolett., 7, 148–152(2018).
3. Effect of Polycaprolactone Crystalline Block on Surface Reorganization of a Phosphorylcholine-Based Amphiphilic Block Copolymer Surface Modifier,  
Y. Zhang, T. Hirai, Y. Higaki, A. Takahara,  
Chem. Let., 47, 247–250 (2018).

4. Preparation of High-Density Polymer Brushes with a Multihelical Structure,  
T. Kato, M. Sato, H. Shimamoto, K. Uno, K. Yokomachi, Y. Konishi, K. Kamitani, M. Nishibori,  
N. Ohta, R. Ishige, K. L. White, N. Otozawa, T. Hirai, A. Takahara,  
Langmuir, 34(10), 3283-3288(2018).
5. Counter Anion-Specific Hydration States of Cationic Polyelectrolyte Brushes,  
Y. Higaki, Y. Inutsuka, H. Ono, N. Yamada, Y. Ikemoto, A. Takahara,  
Ind. Eng. Chem. Res., 57, 5268–5275(2018).
6. Halloysite Nanotubes: Green Nanomaterial for Functional Organic-Inorganic Nanohybrids,  
W. Ma, H. Wu, Y. Higaki, A. Takahara,  
Chemical Records, 18, 986–999 (2018).
7. Direct Hydrophilic Modification of Polymer,  
Y. Higaki, M. Kobayashi, A. Takahara,  
Chapter 9 in Surfaces via Surface-Initiated ATRP Reversible Deactivation Radical Polymerization:  
Materials and Applications, Matyjaszewski et al. Eds. ; ACS Symposium Series; American Chemical  
Society: Washington, DC, pp.158-168 (2018).
8. Preparation of polymer brushes with well-controlled stereoregularity and evaluation of their functional  
properties,  
T. Hirai, M. Sato, T. Kato, H. Shimamoto, K. Uno, N. Otozawa, A. Takahara,  
Polymer Journal, 50, 931-939(2018).
9. Organic-Inorganic Hybrid Thin Film Fabricated by Layer-by-Layer Assembly of Phosphorylated  
Cellulose Nanocrystal and Imogolite Nanotubes,  
L. Li, W. Ma, Y. Higaki, K. Kamitani, A. Takahara,  
Langmuir, 34, 13361–13367 (2018).
10. Separation of Endo-Cyclic 2-Methacryloyloxyethyl Choline Phosphate by Anion Exchange Approach,  
M. Mukai, T. Hirai, Y. Higaki, A. Takahara,  
Chem. Lett. , 47, 1508-1511 (2018).

先導物質化学研究所 物質基盤化学部門

佐藤研究室

1. Manipulating Metal to Metal Charge Transfer for Materials with Switchable Functionality  
Meng Yin-Shan, Sato Osamu, Liu Tao  
Angew. Chem. Int. Ed., 57, 12216-12226, (2018) SEP 17

2. Rhodamine 6G-Labeled Pyridyl Aroylhydrazone Fe(II) Complex Exhibiting Synergetic Spin Crossover and Fluorescence  
Yuan Juan, Wu Shu-Qi, Liu Mei-Jiao, Sato Osamu, Kou Hui-Zhong  
JACS, 140, 30, 9426-9433 (2018) AUG 1
3. Simultaneous Modulation of Magnetic and Dielectric Transition via Spin-Crossover-Tuned Spin Arrangement and Charge Distribution  
Zheng Hui, Meng Yin-Shan, Zhou Guang-Li, Duan Chun-Ying, Sato Osamu, Hayami Shinya, Luo Yi Liu, Tao  
Angew. Chem. Int. Ed. 57, 8468-8472 (2018) JUL 9
4. Paramagnetism enhancement by in situ electrochemical hole doping into a Prussian Blue thin film  
Noguchi Mariko, Nakano Motohiro, Kang Soonchul, Sato Osamu, Seki Shu  
Mater. Chem. Front. 2, 5, 1004-1008 (2018) MAY

システム情報科学研究所 電気システム工学部門

木須研究室

1. Hardware-in-the-Loop Simulation on Fault Current Limiting Operation of RE-123 Coated Conductors  
K. Higashikawa, M. Tajima, S. Urasaki, M. Inoue, Y. Fukumoto, M. Tomita, T. Kiss  
IEEE Trans. Appl. Supercond., 28, 5602405 (2018)
2. Current Capacity of Cu-Sheathed Multifilamentary Coated Conductors Under the Influence of Spatial Variation of Local Critical Currents in Each Filament  
K. Higashikawa, T. Suzuki, M. Inoue, S. Fujita, Y. Iijima, T. Kiss  
IEEE Trans. Appl. Supercond., 28, 4801205 (2018)
3. Enhancement of in-field critical current density of BaZrO<sub>3</sub> added (Y, Gd)BCO coated conductors by using a multi-coating TFA-MOD method  
T. Suzuki, S. Oomura, K. Imamura, M. Inoue, K. Higashikawa, S. Awaji, K. Nakaoka, T. Izumi, T. Kiss  
IEEE Trans. Appl. Supercond., 28, 6600504 (2018)
4. Development of Long-Length BMO-Doped REBCO Coated Conductors by Hot-Wall PLD Process  
S. Fujita, S. Muto, W. Hirata, Y. Adachi, T. Yoshida, M. Igarashi, K. Kakimoto, Y. Iijima, K. Naoe, T. Kiss, T. Okada, S. Awaji  
IEEE Trans. Appl. Supercond., 28, 6600604 (2018)
5. G. Nishijima, K. Osamura, T. Nagaishi, T. Fukushima, Y. Iijima, T. Koizumi, Y. Zhang, M. Breschi, Tapes  
X. Chaud, H.-S. Shin, T. Kiss

IEEE Trans. Appl. Supercond., 28, 6601205 (2018)

理学研究院 化学部門

1. 分子触媒化学（桑野）研究室

Ruthenium-Catalyzed Chemo- and Enantioselective Hydrogenation of Isoquinoline Carbocycles

Yushu Jin, Yusuke Makida, Tatsuya Uchida, and Ryoichi Kuwano

The Journal of Organic Chemistry, **83**, 3829–3839(2018)

1. 寺崎研究室

The role of electronegativity on the extent of nitridation of group 5 metals as revealed by reactions of tantalum cluster cations with ammonia molecules

M. Arakawa, K. Ando, S. Fujimoto, S. Mishra, G. Naresh Patwari, and A. Terasaki

Phys. Chem. Chem. Phys. **20**, 28435–28444 (2017)

2. Freezing of micrometer-sized liquid droplets of pure water evaporatively cooled in a vacuum

K. Ando, M. Arakawa, and A. Terasaki

Phys. Chem. Chem. Phys. **20**, 28435–28444 (2017)

3. Characterization of cerium and oxygen atoms in free clusters of cerium oxide by X-ray absorption spectroscopy

T. Hayakawa, M. Arakawa, S. Sarugaku, K. Ando, K. Tobita, Y. Kiyomura, T. Kawano, and A. Terasaki

Top. Catal. **61**, 119–125 (2017)

山内研究室

1. シュウ酸の電気化学還元を介したグリコール酸への直接蓄電法の開発

福嶋貴, 北野翔, 貞清正彰, 山内美穂

クリーンエネルギー, 27 (10), 12-20 (2018), 日本工業出版雑誌名、巻、ページ、(2018)

2. First-Principles Calculation of Activity and Selectivity of the Partial Oxidation of Ethylene Glycol on Fe(001), Co(0001), and Ni(111)

N. Ozawa, S. Chieda, Y. Higuchi, T. Takeguchi, M. Yamauchi, M. Kubo

J. Catal., 361, 361-369 (2018).

3. Carbon neutral energy cycles using alcohols

T. Fukushima, S. Kitano, S. Hata, M. Yamauchi

Sci. Technol. Adv. Mat., 19 (1), 142-152 (2018)

4. 酸化物ナノ触媒を使ったアルコールへの直接的蓄電法の開発  
貞清正彰・北野翔・福嶋貴・山内美穂  
触媒 (Catalysts and Catalysis) , 60 (3), 165-170 (2018)

#### 触媒有機化学研究室

1. Adsorption Behavior of Au(III) Complex Ion on Nickel Carbonate and Nickel Hydroxide Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects  
Ando, H.; Kawamoto, D.; Ohashi, H.; Honma, T.; Ishida, T.; Okaue, Y.; Tokunaga M.; Yokoyama, T.  
Colloids and Surfaces A, A537, 383-389 (2018)
2. Dynamic Kinetic Resolution of N-Protected Amino Acid Esters via Phase-Transfer Catalytic Base Hydrolysis  
Yamamoto, E.; Wakafuji, K.; Furutachi, Y.; Kobayashi, K.; Kamachi, T.; Tokunaga, M.  
ACS Catal., 8, 1150-1161. (2018)
3. Adsorption and thermal reactivity of dimethyl trisulfide on a Au(111) singlecrystal surface  
Nakamura, I.; Murayama, H.; Tokunaga, M.; Okumura, M.; Fujitani, T.  
Surf. Sci., 677, 186-192 (2018)
4. Selective adsorption of 1,3-dimethyltrisulfane (DMTS) responsible for aged odour in Japanese sake using supported gold nanoparticles  
Murayama, H.; Yamamoto, Y.; Tone, M.; Hasegawa T.; Kimura, M.; Ishida, T.; Isogai, A.; Fujii, T.; Okumura, T.; Tokunaga, M.  
Sci. Rep., 8, 16064 (2018)

#### 基幹教育院 自然科学実験系部門

##### 矢山研究室

1. Electric response induced by second sound in superfluid helium  
Hideki Yayama, Yugo Nishimura, Hiroka Uchiyama, Hiroshi Kawai, Jean-Paul van Woensel, Ali G. Hafez  
Fizika Nizkikh Temperatur, 44, 1386-1393, (2018)
2. Electric response induced by second sound in superfluid helium  
Hideki Yayama, Yugo Nishimura, Hiroka Uchiyama, Hiroshi Kawai, Jean-Paul van Woensel, Ali G. Hafez  
Low Temperature Physics, 44, 1090-1096, (2018)

九州大学 低温センターだより No.13

2019年3月発行

発行者：九州大学 低温センター  
Tel/Fax (092)802-3940 (伊都地区)

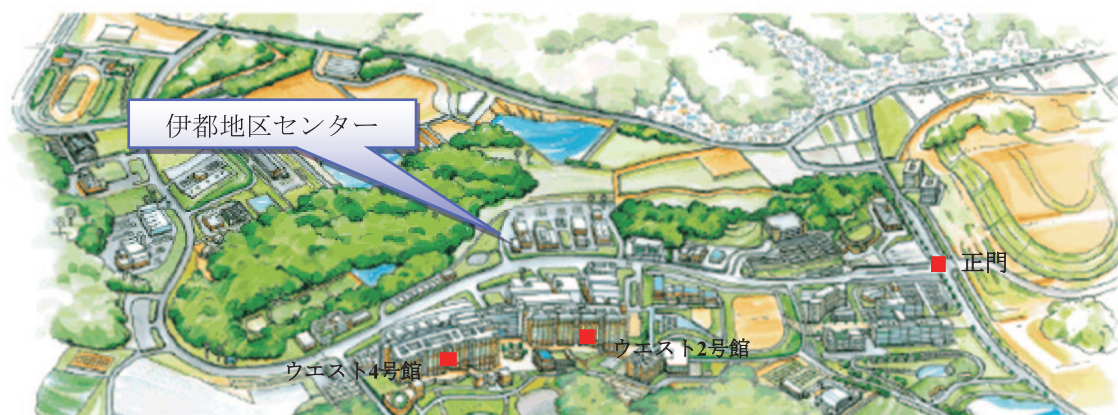
発行責任者：木村 崇

編集者：上田 雄也

印刷：よしみ工産(株)



## 伊都キャンパス



低温センター伊都地区センター  
〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡744  
TEL (FAX) 092-802-3940  
<http://www.ltc.kyushu-u.ac.jp/>