

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H05791

研究課題名(和文) シグナル因子としての生体内pH場の実証

研究課題名(英文) Elucidation of pH signals in biological systems

研究代表者

岡村 康司 (Okamura, Yasushi)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：80201987

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 30,900,000円

研究成果の概要(和文)：ミクログリアでのHv1が細胞内膜で機能することでアクチン線維の調節を動的に行っていることを明らかにした。下流候補分子も同定し、遺伝子導入実験やノックアウトマウスの解析によりHv1の下流のシグナル経路を明らかにしつつある。寿命の短いターコイズキリフィッシュについてHv1ノックアウト動物を作製したところ、寿命の延長が観察され、Hv1が局所pHシグナルを介して長期的な臓器のホメオスタシスに関わる可能性が示唆された。また休眠時に細胞内pH酸性化すること、さらにこの酸性化が休眠を誘導することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

pHは、細胞の恒常性や膜を介する電気化学勾配によるエネルギー産生を中心に研究されてきた。岡村らは貪食細胞の活性酸素産生時のpH制御因子であるHv1がミクログリア細胞内小胞上に発現し局所の「pH場」を形成し、細胞骨格の動態を調節することを見出した。また魚類の解析を通し発生や老化に伴うpH場の関与が示された。これらの成果は、pH場が発生や老化などの時系列現象の理解に繋がり、さらにこれらの変調による病態の解明や制御の戦略確立につながると期待される。また領域内連携によって有孔虫やサンゴのHv1オルソログ分子を明らかにし、今後生命環境丸ごとを盛り込んだpH場形成の仕組みと意義の解明へと進むと期待できる。

研究成果の概要(英文)：We found cultured microglia has activities of Hv1 on endosomes which were revealed by patch clamp analysis and pharmacological experiments. These activities lead to regulation of actin polymerization through pH sensitive mediating proteins. We also found that killifish deficient of Hv1 gene has a longer lifespan, suggesting that local pH regulation by Hv1 might be involved in homeostasis of tissues. In our study of diapause of killifish, we found that intracellular pH shifts to an acidic state, and this acidification induces the diapause process.

研究分野：生理学

キーワード：イオンチャンネル 濃度勾配 遺伝子組換え魚類 糖鎖 pH エンドソーム ミクログリア 酸性化

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

pH は生存に必須のパラメーターであり、その変化はストレスとなる。細胞内 pH は、従来細胞機能の恒常性維持や膜を介する電気化学勾配によるエネルギー産生を中心に研究されてきた。しかし近年 pH の動態がシグナルとして機能することが明らかになってきたが pH の動態によるシグナルの詳細な仕組みと意義は明らかではない。

### 2. 研究の目的

本研究では、細胞質局所の「pH 場」がもたらす新たなシグナル機構を解明し、細胞質局所「pH 場」の実態を発現系細胞やモデル生物の in vivo 胚などにおいて詳細に明らかにする。また胚発生や神経機能や老化などのマクロな生物現象での生理的意義を解明することで、従来のホメオスタシス調節因子としての細胞内 pH のコンセプトを超えたシグナル調節因子としての細胞内「pH 場」の概念を確立する。老化に伴う生理機能の変化(糖代謝、高次神経機能)を理解するとともに、研究分担者の荻沼らが発見した胚発生調節(発生休眠現象 diapause)での細胞質 pH 変化の仕組みと意義を解明する。また領域内の連携によって海洋環境の酸性化にともなう海産動物の適応機構についてプロトン関連分子からの端緒を得シグナルの足場としての「pH 場」という従来には無い観点から「pH 応答生物学の創成」に貢献する。

### 3. 研究の方法

研究代表者の岡村らは、貪食細胞の活性酸素産生時の pH 制御因子であるプロトンチャンネル Hv1 を解析する過程で、電位依存性プロトンチャンネル Hv1/VSOP がミクログリアの細胞内小胞上に豊富に発現し、細胞質局所の「pH 場」を形成することでアクチン細胞骨格の動態を調節する機構を見出した。また研究分担者の荻沼らは、胚発生調節(発生休眠現象 diapause)での細胞質 pH 変化を見出した。初年度に相互間での連携体制の構築をおこない、当初計画された時点からの発展内容も盛り込んで、研究体制のバージョンアップを行った。次年度からは計画に沿って2つのチームで連携し、さらに他の海産動物の計画班から情報の提供を受け、解析をコヒーレントに行った。

#### [研究代表者 岡村]

(1) MDCK などの発現系細胞に Hv1 を遺伝子導入により強制発現させ、Filament-actin が減少するかどうかを蛍光抗体法やライブイメージングなどによって解析した。Hv1 について、電流が出なくなるアミノ酸変異体分子を発現系細胞に強制発現させ上記の結果と比較した。さらに下流の分子を同定するため BiolD 法による網羅的探索を行った。(2) これまでに示された Hv1 ノックアウトマウスにおいて鬱病様症状が緩和されるメカニズムを理解するため WT マウスと KO マウスの加齢マウスからの脳サンプルについて transcriptome 解析を行い過去のデータベースと比較した。(3) 細胞内膜であるゴルジ装置での pH 調節に関わる可能性を検討するため Hv1 を安定に発現する細胞株を構築した。(4) サンゴと有孔虫から cDNA 検索を行い、Hv1 のオルソログ分子の探索を行い、配列合成した核酸を発現系細胞に導入し、電気生理学的および薬理的性質を解析した。(5) グリコシレーションされるウニ由来 Hv1 に着目し、ER や Golgi での Hv1 の機能や生合成過程を western blot 法により解析した。

#### [研究分担者 荻沼]

ターコイズキリフィッシュ胚の休眠時に観察される細胞内の pH 変動が示す意義を解明する為、(1) 共焦点顕微鏡などを用いて休眠胚の分子挙動を観察すべく、エネルギー代謝経路の代謝物 ATP (Queen2m) やオートファジー活性 (LC3-GFP) などを可視化するキリフィッシュの構築を行い、pH の関連を調べた。(2) 休眠胚における細胞内 pH 制御機構を明らかにすべく、pH を制御する Hv1 のオルソログについて、遺伝子発現パターンの検討やアミノ酸配列の相同性などを検索し、ノックアウト動物の構築をおこなった。

### 4. 研究成果

#### (1) ミクログリアでの細胞内膜 Hv1/VSOP の局所 pH シグナルの解析:

これまで我々は、脳内の免疫細胞であるミクログリアにおいて、Hv1/VSOP を欠損することで F-actin のシグナルに異常が生じることを明らかにしており、Hv1 が示す新規の役割としてこのアクチン動態に着目し、その制御機構を明らかにすることを目的とした。

初代培養ミクログリアを用いた内膜 Hv1 機能の同定:

初代培養ミクログリアにおいて、Hv1 と F-actin の共染色を行い、両者の空間的關係を調べた結

果、Hv1 がエンドソームに存在する様子が観察され、F-actin と密に相互作用を行っている様子が観察された。また、実際に F-actin の動態を薬理的に操作することによっても、Hv1 のエンドソームの動きに影響をきたすことも観察された。

実際に Hv1 がエンドソーム上で活性を有しているかを確認するため、野生型及び Hv1 欠損マウスより初代培養マイクログリアを調整し、電気生理学的手法によりエンドソーム上で Hv1 活性が見られるかを検証した。その結果、野生型由来の細胞のみに電位依存的な H<sup>+</sup>電流が観察され、エンドソームにおける Hv1 の機能を実証することができた。

Hv1 によるアクチン動態の制御には pH シグナルが重要であることは、細胞内の pH を人為的に操作する nigericin 法を用いて示されたが、細胞膜とエンドソームのどちらの Hv1 由来のシグナルがその制御に重要なのか定かではない。そこで、Hv1 の細胞外からその活性を抑制する亜鉛に着目した。亜鉛を野生型・Hv1 欠損型マウスのマイクログリアに投与することで、この影響に変化が生じるかを調べた。その結果、亜鉛存在下でも Hv1 欠損による F-actin シグナルの異常は依然として観察され、細胞膜の Hv1 がその制御に関わっている可能性は否定された。

MDCKII 細胞発現系を用いた下流分子の同定：

Hv1 が具体的にどのような分子メカニズムによって、そのアクチン動態制御を行っているかを調べるため、発現実験系として、マイクログリアと同様に微細なアクチン構造物を持つ MDCKII に着目し、Hv1 を強制的に発現させる実験を試みた。その結果、マイクログリアと同様、Hv1 の強制発現によって F-actin のシグナルに影響が及ぼされた。この現象は H<sup>+</sup>透過能を持たない Hv1 変異体では観察されなかったため、Hv1 を介した H<sup>+</sup>透過が重要であると結論した。

次に、Hv1 の下流の分子を同定する目的で、MDCKII 細胞に BioID 法を適用し、Hv1 含有エンドソームと相互作用する可能性のある複数の候補分子を得た。この中から重要な分子を選定した。実際に MDCKII において、この候補分子をノックアウトすることで、Hv1 発現による F-actin シグナルへの影響が見られなくなったことから、本分子が Hv1 の重要な標的分子であることが示された。

Hv1 下流のシグナル分子のノックアウトマウスの解析：

この分子のノックアウトマウスの解析に着手した。しかし、このノックアウトマウスは胎生致死であるため、マイクログリアや免疫細胞特異的に Cre を発現するマウスと掛け合わせ、コンディショナルノックアウトマウスを作製した。しかし、この条件でも当該マウスの生存率が極めて低いことが判明した。現在はマイクログリアでも発現導入が可能な AAV を入手し、これを用いたコンディショナルなノックアウト方法に切り換えている段階である。本研究が完成することで、エンドソームにおけるイオンチャネル活性とそれによる細胞骨格制御という従来想定されていなかった新たな機構が明らかになると期待される。

**Hv1** の欠損による加齢依存的な脳機能への影響：

Hv1 の脳機能への影響を調べるため、Hv1 欠損マウスを用いた解析を行った。これまでの我々の研究から Hv1 欠損マウスの脳における加齢に応じた酸化ストレス量の増大が明らかになっていた。今回、この作用について脳の領域特異性が存在することが新たに分かった。またこの結果に一致するように、マイクログリアの形態や脳内の遺伝子発現プロファイルのいずれにおいても加齢依存性・脳領域特異性が見られた。また、行動レベルでも Hv1 欠損マウスでは加齢依存的に不安様行動に変化が見られることが明らかとなり、生化学・形態学・遺伝学・行動学といった様々な角度から Hv1 による加齢依存的な制御を実証することが出来た。

**(2) Hv1/VSOP によるゴルジ体内腔 pH 制御の検証：**

Hv1/VSOP がゴルジ体に発現することから、ゴルジ体内腔および膜近傍局所の pH の制御を通して糖鎖修飾に関わる可能性を検討するため、正常型 Hv1 とイオンチャネル不活性型 Hv1/VSOP をそれぞれ安定に発現する 2 種類の細胞株（マクロファージ系培養細胞 RAW264.7 および神経芽細胞 Neuro2A）を作製した。そして、45 種類のレクチンを固相化したレクチンアレイで糖鎖修飾の違いを比較した（大阪大学大学院医学系研究科・三善博士、高松博士との共同研究）。しかし、2 種類の細胞株に共通した糖鎖修飾の違いは検出されなかった。

**(3) ウニ Hv1/VSOP のグリコシル化を契機としたダイマー化による ER 停留時間の調節：**

Hv1/VSOP は、イオン透過路を形成するために多量体を形成するイオンチャネルと異なり、ダイマーを形成する一方で、プロトンは 1 つ 1 つのモノマーを介して輸送される特徴を持つ。これまでダイマー化が電位依存的なプロトン透過路のゲートの調節に必須であることは知られていたが、それ以外の生理機能については分かっていなかった。ウニ Hv1/VSOP は哺乳類を含む他の生物種と異なり、グリコシル化に必須のコンセンサス配列を持つ。これまでの我々の研究により、Coiled-coil 領域を含む C 末端の細胞質領域を削るとモノマーになることが知られていた（Sakata et al., BBA 2016）。今回、我々は、ウニ Hv1/VSOP が ER においてダイマー化されるとグリコシル化され、モノマーではグリコシル化されないことを見出した。グリコシル化

のコンセンサス配列を持たないマウス Hv1/VSOP にウニのグリコシル化配列を移植するとグリコシル化される一方で、モノマーはグリコシル化されなかった。すなわち、グリコシル化配列を移植されたマウス Hv1/VSOP はウニ Hv1/VSOP と同様の表現型を示すことが分かった。モノマー型 Hv1/VSOP に ER 停留時間を延長させるアミノ酸配列(KKXX)を C 末端に付加した結果、グリコシル化されることが分かった。すなわち、モノマーがグリコシル化されない理由として、ER の停留時間が短い可能性が強く示唆された。以上の結果は、Hv1/VSOP のダイマー化は ER での停留時間を延ばし、グリコシル化を可能にするという、Hv1/VSOP のダイマー化の新たな生理的機能、すなわち、生合成過程への関与を示唆する。この結果は、Hv1/VSOP と同じく多量体を形成するが輸送はモノマー単位で行われる CLC クロライドチャネルやアクアポリン(水チャネル)の多量体化の生理的意義の理解にもつながると期待できる。

#### (4) 殻をもつ海産生物における Hv1/VSOP の解析—殻形成機構の理解から海洋酸性化問題の解決を目指して：

海洋酸性化はサンゴの白化現象に代表されるように殻をもつ生物の多様性を損なう地球規模の問題として認識されている。海洋酸性化問題の諸問題に対処するためには、殻形成の分子基盤を理解する必要がある。Hv1/VSOP は細胞内外の pH 制御を通じて、殻形成を制御する可能性がある。そこで、本学術変革グループが対象とするサンゴと有孔虫に着目し、Hv1/VSOP のオルソログを探索し、機能解析を行った。

サンゴ Hv1/VSOP：

ヒト Hv1/VSOP アミノ酸配列を参照配列として、サンゴ Hv1/VSOP のオルソログの探索を行った結果、哺乳類と異なり、サンゴには 2 つの Hv1/VSOP のオルソログの存在が推定された (type1 と 2)。それぞれの全長配列を合成し、HEK293T 細胞に発現させてパッチクランプ法による電流計測を行った結果、type1 はプロトンチャネル特有の電流を示す一方で、type2 を発現する HEK293T 細胞からは電流を記録することができなかった。すなわち、type1 はプロトンチャネルとして機能することが分かった。Type2 の電流が機能しない理由として細胞膜ターゲットの不全の可能性を検討したが細胞膜にはターゲットしていた。次にどの分子内構造が機能しない原因であるかを解明するため現在キメラ分子を作製し解析をおこなっている。

有孔虫 Hv1/VSOP：

国立科学博物館久保田博士を通じ海洋研究開発機構の豊福博士・長井博士らの協力のもと、有孔虫の cDNA ライブラリよりヒト Hv1/VSOP のオルソログの探索から Hv1/VSOP オルソログの塩基配列が得られた。cDNA を合成し HEK293T 細胞に発現させてホールセルパッチクランプ法により電流を記録した結果、Hv1/VSOP に特徴的な電流が観察され、有孔虫 Hv1/VSOP がプロトンチャネルとして機能することが分かった。有孔虫の供与を受け、現在細胞内誘導法による膜電位計測を試みている。

#### (5) キリフィッシュの pH シグナルの解析 (研究分担者 荻沼)

キリフィッシュにおける Hv1/VSOP の老化における役割：

これまで岡村らはマウスをモデルとして Hv1/VSOP が pH 制御を通して酸化ストレスを制御することを示してきた。キリフィッシュは休眠、老化研究の新たなモデル動物として注目されていることから、酸化ストレスを制御する Hv1/VSOP が休眠、老化を制御する良いモデルとなる。本学術変革グループの大阪大学微生物学研究所荻沼博士との共同研究により、キリフィッシュ Hv1/VSOP のオルソログを RT-PCR によりクローニングし、パッチクランプ法によりプロトンチャネルとして機能することを確認した。次に、Hv1/VSOP ノックアウト(KO)キリフィッシュを作製し、休眠胚や成体、更に老化過程における表現型解析を行い、pH 制御の役割を調べた。Hv1/VSOP の KO キリフィッシュの成魚において、見かけ上の形態に異常はみられなかった。一方で、生存曲線を取得したところ、Hv1/VSOP の KO キリフィッシュでは寿命が有意に延長することが確認された。休眠現象には差が見られなかった。以上の結果から、Hv1/VSOP は pH 制御を通じてキリフィッシュの老化現象に重要な役割を果たす可能性が示された。

キリフィッシュにおける休眠時における pH シグナル：

pH レポーターフィッシュを用いて、休眠胚の細胞内 pH の状態を 1 細胞レベルで解析したところ、胚の体幹部の細胞内 pH が通常時に比べ約 0.5 酸性化していた。興味深い事に、胚の周辺部の細胞内 pH は通常時と変わらず中性であった。さらに、薬剤処理によって人為的に通常発生中の胚の細胞内 pH を酸性化した結果、休眠胚と似た状態を引き起こすことができた。つまり、休眠に伴う、能動的な細胞内酸性化が休眠移行に重要な役割を果たす可能性が示された。次に、オートファジー活性を可視化するレポーターフィッシュを樹立し、その挙動を追跡した結果、休眠に伴う細胞内酸性化が起きている細胞においてオートファジーが強く活性化することを発見した。さらに、休眠時の細部内酸性化によってオートファジー受容体である p62 が液滴を形成す

ることも発見した。以上の結果から、休眠に伴う能動的な細胞内酸性化が、p62 の液滴形成を加速することでオートファジーを活性化し、そのことによって休眠胚の健康性が保たれる可能性が示された。

キリフィッシュの高速遺伝子解析法の樹立：

キリフィッシュは高速老化と発生休眠という特徴的な性質を持ち、これまでのモデル動物では解析が困難であった休眠や老化過程における pH 変動の役割を調べるのに適した魅力的な新規モデル動物である。これまでキリフィッシュにおいても CRISPA/CAS9 法を用いたノックアウト個体の作製は行われているが、遺伝子の働きが完全に欠損したホモ個体を得る為には複数回掛け合わせが必要であり、F2 世代以上で初めて遺伝学的解析が可能である。その為、解析には長い月日が必要であった。そこで、1 つの遺伝子に対して 3 ヶ所の sgRNA を設計することで F0 世代においても効率よくノックアウトホモ個体を得ることができる高速遺伝子解析法を確立した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Kawai Takafumi, Okamura Yasushi	4. 巻 13
2. 論文標題 Spotlight on the Binding Affinity of Ion Channels for Phosphoinositides: From the Study of Sperm Flagellum	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 1~5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2022.834180	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Oginuma Masayuki, Nishida Moana, Ohmura-Adachi Tomomi, Abe Kota, Ogamino Shohei, Mogi Chihiro, Matsui Hideaki, Ishitani Tohru	4. 巻 12
2. 論文標題 Rapid reverse genetics systems for <i>Nothobranchius furzeri</i> , a suitable model organism to study vertebrate aging	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1~9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-15972-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kawai Takafumi, Hashimoto Masaki, Eguchi Natsuki, Nishino Junko M., Jinno Yuka, Mori-Kreiner Risa, Aspaker Mans, Chiba Daijiro, Ohtsuka Yukio, Kawanabe Akira, Nishino Atsuo S., Okamura Yasushi	4. 巻 296
2. 論文標題 Heterologous functional expression of ascidian Nav1 channels and close relationship with the evolutionary ancestor of vertebrate Nav channels	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 100783 ~ 100783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.100783	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kawai Takafumi, Takao Keizo, Akter Sharmin, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Miyakawa Tsuyoshi, Okamura Yasushi	4. 巻 157
2. 論文標題 Heterogeneity of microglial proton channel in different brain regions and its relationship with aging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 624 ~ 641
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15292	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsutsui Hidekazu, Mizutani Natsuki, Okamura Yasushi	4. 巻 654
2. 論文標題 Engineering voltage sensing phosphatase (VSP)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods in Enzymology	6. 最初と最後の頁 85 ~ 114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.mie.2021.01.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okochi Yoshifumi, Okamura Yasushi	4. 巻 22
2. 論文標題 Regulation of Neutrophil Functions by Hv1/VSOP Voltage-Gated Proton Channels	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2620 ~ 2620
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22052620	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawai Takafumi, Kayama Kento, Tatsumi Shoki, Akter Sharmin, Miyawaki Nana, Okochi Yoshifumi, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Yamamoto Hiroyasu, Kihara Shinji, Okamura Yasushi	4. 巻 34
2. 論文標題 Regulation of hepatic oxidative stress by voltage gated proton channels (Hv1/VSOP) in Kupffer cells and its potential relationship with glucose metabolism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 15805 ~ 15821
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202001056RRR	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawai Takafumi, Okamura Yasushi	4. 巻 14
2. 論文標題 The Slo3/Lrrc52 complex is sensitive to phosphoinositides	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Channels	6. 最初と最後の頁 190 ~ 192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19336950.2020.1778393	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okochi Yoshifumi, Umemoto Eiji, Okamura Yasushi	4. 巻 107
2. 論文標題 Hv1/VSOP regulates neutrophil directional migration and ERK activity by tuning ROS production	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Leukocyte Biology	6. 最初と最後の頁 819 ~ 831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/JLB.2A0320-110RR	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawanabe Akira, Mizutani Natsuki, Polat Onur K., Yonezawa Tomoko, Kawai Takafumi, Mori Masayuki X., Okamura Yasushi	4. 巻 152
2. 論文標題 Engineering an enhanced voltage-sensing phosphatase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of General Physiology	6. 最初と最後の頁 e2019124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1085/jgp.201912491	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 KAWANABE Akira, NISHIZAWA Kazuhisa, OKAMURA Yasushi	4. 巻 60
2. 論文標題 Activation Mechanisms of Voltage Sensing Phosphatase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Seibutsu Butsuri	6. 最初と最後の頁 105 ~ 107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.60.105	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Risa Mori-Kreiner, Shunichi Sugimoto, Daisuke Yoshioka, Takafumi Kawai, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Electrophysiological study of PI(4,5)P2 sensitivity of GABAA receptor channels in Xenopus oocyte
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 Okochi Y, Junxian Zhou, Mizutani N, Shiozaki Y, Segawa H, Okamura Y
2. 発表標題 Toward understanding of transport mechanism of SLC34 Na <sup>+</sup> /Pi cotransporter
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 水谷夏希, 川鍋陽, 岡村康司
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼにおける電位センサーと細胞質内酵素領域間の直接相互作用の解析
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Zhou Junxian, Okochi Y, Mizutani N, Shiozaki Y, Segawa H, Okamura Y
2. 発表標題 Analysis of transport mechanism of SLC34 Na <sup>+</sup> /Pi cotransporter
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 周俊先、大河内善史、水谷夏希、塩崎雄治、瀬川博子、岡村康司
2. 発表標題 腎臓で機能するNa-Pi cotransporter SLC34A3のイオン輸送の仕組みの解明
3. 学会等名 第 113 回近畿生理学談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Adisorn Ratanayotha, Matsuda M, Kimura Y, Md. Israil Hossain, Higashijima S, Kawai T, Ogasawara M, Okamura Y
2. 発表標題 Voltage-Sensing Phosphatase (VSP) Promotes Endocytosis-Dependent Nutrient Absorption in Enterocytes
3. 学会等名 第 113 回近畿生理学談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 好岡大輔、岡村康司
2. 発表標題 1分子イメージングによるPIP2を介したイオンチャネル動態制御の解析
3. 学会等名 第 113 回近畿生理学談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Okamura Y, Jinno Y, Mori R
2. 発表標題 Expression pattern of ankyrin in neural cells of <i>Ciona robusta</i>
3. 学会等名 第92回日本動物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Okamura Y
2. 発表標題 How are Voltage Signal and Enzyme Coupled? : S4 approaches the hydrophobic spine of the enzyme in voltage-sensing phosphatase, VSP
3. 学会等名 The 8th international ion channel conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水谷夏希, 川鍋陽, 岡村康司
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼVSPの動作原理における膜酵素界面の疎水性部位の重要性
3. 学会等名 第67回日本生化学会近畿支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Okamura Y, Jinno Y, Mori R
2. 発表標題 カタコウレイボヤ神経系におけるアンキリン分子の分布
3. 学会等名 第92回日本動物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水谷夏希, 川鍋陽, 岡村康司
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼVSPの動作原理における膜酵素界面の疎水性部位の重要性
3. 学会等名 第67回日本生化学会近畿支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Adisorn Ratanayotha, Matsuda M, Kimura Y, Israil M. Hossain, Higashijima S, Kawai T, Okamura Y
2. 発表標題 ゼブラフィッシュの腸管における電位依存性ホスファターゼ(VSP)の機能
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Costa Paixao Ian, Kawai T, Mizutani N, Okochi Y, Okamura Y
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼの酵素作用の分子メカニズムを理解するための系統発生的アプローチ
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Okochi Y, Tsutsui H, Okamura Y
2. 発表標題 マクロファージのファゴソーム膜電位変化を可視化し、膜電位の役割を探索
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kawai T, Okamura Y
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼによる精子鞭毛におけるイノシトールリン脂質極性形成とそのメカニズム
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mizutani N, Kawanabe A, Okamura Y
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼの電位センサー S 4 の C 末端に位置する疎水性部位は酵素活性との共役に重要である
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mizutani N, Kawanabe A, Okamura Y
2. 発表標題 Central Role of the Lowest Part of S4 of Ci-VSP in Coupling Mechanism
3. 学会等名 65th Biophysical society Annual meeting
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Costa Paixao Ian, Kawai T, Mizutani N, Okochi Y, Okamura Y
2. 発表標題 Change in substrate specificity of voltage-sensing phosphatase by single amino acid mutation
3. 学会等名 14th International Conference on Protein Phosphatases
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	荻沼 政之  (Oginuma Masayuki)  (50825966)	大阪大学・微生物病研究所・助教    (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------