

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02617

研究課題名(和文)哺乳類における膜電位依存的イノシトールリン脂質シグナルの生理的役割の解明

研究課題名(英文)Physiological role of voltage-sensing phosphatase in mammals

研究代表者

岡村 康司 (Yasushi, Okamura)

大阪大学・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) 33,900,000円

研究成果の概要(和文)：これまで電位依存性ホスファターゼVSPの生理的役割は未解明だった。本研究ではノックアウトマウスを用いて、精子におけるVSPの生理機能を解析した。in vitroの受精能の低下を契機に精子機能とリン脂質の量を詳細に解析し、成熟した精子ではVSPによりイノシトールリン脂質であるPI(4,5)P2の、頭部から尾部への濃度勾配が形成され、これがKチャンネルSlo3の適度な活性につながり、細胞内へのCa流入を調節することが明らかになった。イオンチャンネルの活性はチャンネル分子そのものの分布や密度で規定されるとの従来考えと異なり、調節分子である脂質の分布が機能するチャンネル分子数を規定する新規の発見である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで膜電位シグナルは、イオンチャンネルの分布により規定されるということが教科書的な概念であったが、今回のVSPによるイノシトールリン脂質の分布によるイオンチャンネルの制御の発見は、この固定概念を覆し、イオンチャンネルの分布に加えて、脂質分子の分布が重要であることを初めて明らかにしたもので、その学術的な意義は大きい。VSPは動物種を超えて精子に発現しており、今回初めて明らかになった脂質分子の役割の理解を今後更に進めることで、不妊症の解決や創薬などを通して少子化社会の問題に資する可能性があるとともに、畜産などでの生殖技術や動物種多様性の保全などにむけた研究の基礎に資する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Voltage-sensing phosphatase is a unique protein that transduces electrical signal in membrane into chemical signal. Despite its robust and deep understandings of molecular mechanisms, physiological function of VSP has remained unclear. In this study, we analyzed sperm of VSP deficient mouse by combining electrophysiology, fluorescence measurement, molecular dynamics simulation and mass spectrometry. VSP regulates potassium channel activity on sperm flagellum membrane via regulating the level and distribution of PI(4,5)P2. This is the first report on identification of physiological role of VSP in any animal species. It also gives the first case where the absolute level and distribution of phosphoinositide in sperm was shown to be critical for regulation of cellular function.

研究分野：生理学

キーワード：イオンチャンネル 精子 電位センサー 膜電位 イノシトールリン脂質 濃度勾配 運動性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物は膜電位の変化を信号として用い、主として細胞内 Ca イオン濃度による信号に転換しシナプス伝達や筋収縮などの制御に利用している。従来これらの仕組みを担う主要な分子として、電位センサードメインとポアドメインから構成される電位依存性チャンネルが研究されてきた。申請者らはこれまでに、電位依存性チャンネルと同様な電位センサードメインを持ちながらポアドメインを欠きイノシトールリン脂質 (PIPs) を代謝するタンパク質である電位依存性ホスファターゼ VSP (Voltage-Sensing Phosphatase) を発見し、その分子動作原理を解明してきたが、哺乳類の VSP の分子特性や生理機能は未解明であり、ノックアウトマウスの詳細な解析によりその生理機能を同定することが急務となってきた。研究開始時点で、申請者らは新潟大学崎村研と共同でノックアウトマウスを作製し以下の知見を得ていた。

(1) マウス VSP はホヤ VSP と同様に PI(4,5)P₂ の 5 位の脱リン酸化活性、PI(3,4,5)P₃ の 3 位の脱リン酸化活性を有すること。

(2) ノックアウトマウスの精子で in vitro の受精能が 14% 程度にまで低下すること。

(3) 運動解析装置を用いて精子の運動の軌跡の解析において capacitation 受精能獲得溶液処理でノックアウトマウスの精子では円を描く異常な運動パターンを示し、前進移動距離が低下すること。この運動性の異常は Ca 流入機構に変化が生じたためと考えられること。

(4) 精巣上体から単離した精子での質量分析でノックアウトマウスの精子で PIP₂ が増加すること。

これらから VSP が PIPs の代謝を介し精子の運動機能を調節することが示唆されていた。

2. 研究の目的

VSP ノックアウトマウスを対象として哺乳類における VSP による PIPs を介する信号伝達の生理的意義の解明をすることを目的とした。

3. 研究の方法

発現系を用いた解析を工夫して行い、哺乳類の VSP の分子特性を明らかにするとともに、VSP ノックアウトマウスを対象として、生理学的計測法、質量分析法、免疫染色法、western blot 法などを組み合わせた。

(1) 分子特性の解明: 発現系細胞を用いた電流計測、蛍光計測などを駆使し哺乳類 VSP の分子特性の解析を行った。また当初の計画を見直して計算化学的手法を導入して VSP の膜との相互作用による調節機構を解析した。

(2) 精子における PIPs を介する VSP 活性による制御: 精子のパッチクランプ計測、細胞内イオンイメージング Western blot や蛍光顕微鏡を用いた解析により PIPs を介して VSP が膜タンパク質の分布や機能を調節する可能性を検討した。

(3) 精子での膜電位: パッチクランプ法により精子の膜電位を計測するとともに、非侵襲的に計測するため膜電位プローブの適用を検討した。

4. 研究成果

(1) ヘテロマウスとノックアウトマウス由来精子からの細胞内 Ca²⁺、pH の蛍光計測 (研究分担者 河合) Ca 感受性蛍光指示薬である Fluo3 を用いて精子尾部からの Ca²⁺濃度変化を計測した結果 VSP 欠損マウスの精子において有意なシグナルの上昇が見られた (図1)。一方で pH 感受性蛍光指示薬である BCECF を用いた pH 計測では、ヘテロマウスとノックアウトマウスで有意な差はみられなかった。このことから、VSP ノックアウトマウスでは Ca²⁺流入が精子尾部で亢進しており、その一方で proton 輸送活性をもつ sNHE 活性などには VSP の欠損は影響していないものと考えられた。

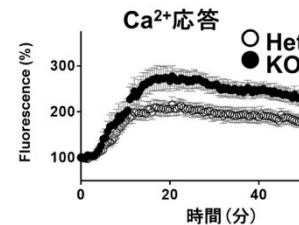


図1 精子からの細胞内 Ca²⁺濃度測定

(2) VSP のターゲットとなるイオンチャンネルの同定とシグナルの解析 (岡村、研究分担者 河合)

Fluo3 を用いた蛍光イメージングによる精子尾部からの計測

精子からのパッチクランプ法により SLO3 K⁺チャネル電流量に、ヘテロマウスとノックアウトマウスの間で活性量に違いがあることを見出した(図2)。SLO3 は PI(4,5)P₂ で活性化することが知られており、VSP ノックアウトマウスでは PI(4,5)P₂ の量が增大しているために SLO3 チャネル活性が増加していると考えられた。これまでに見出されていた精子膜を介する Ca²⁺流入の増大は、SLO3 活性の増加による Ca²⁺流入のドライビングフォース増大によって引き起こされていると考えられた。実際にバリノマイシン処理によってノックアウトマウスとヘテロマウスでの精子の機能の差が見られないこと(文献1)からも支持された。

さらに精子の主要な Ca²⁺流入経路である CatSper のチャネル活性が VSP の下流で調節される可能性を検討するため、CatSper のチャネル活性も調べたところ、CatSper 電流自体には差がみられなかった(文献1)。ただし、CatSper チャネルに PIPs 感受性があるかどうかは明確で無く、その原因として発現系細胞での機能発現実験が実現していないという状況があった。

研究分担者である筒井は CatSper alpha サブユニットの cDNA を異なる動物種からクローニングし発現系細胞で電流計測を行ったところカタウレイボヤ由来 CatSper3 の単一サブユニットからなる電位センサー領域だけで Ca²⁺透過性を示すチャネル活性を示す gating pore current を見出した(文献2)。これは想像を超える現象の発見であったが、これ以外の手法で CatSper 電流を再構成する手法がなかったため、この gating pore current 現象を用いて Xenopus oocyte で Ci-VSP を共発現させ PI(4,5)P₂ による活性調節がされるかを検討する目的で、マウス CatSper3 の gating pore current についても同様な解析を行った。その結果 Ci-CatSper3 の電位センサードメインと同様に Ca²⁺電流を検出することに成功した(図3)。活性化される膜電位の違いなどを考えると CatSper の生理的なイオン電流活性とは異なる可能性があり、gating pore current が生じる仕組みは不明であるが CatSper の分子機能を発現系細胞で初めて検出できたことになる(文献3)。

(3) 発現系でのマウス VSP の分子機能の解析(岡村、研究分担者 河合、西澤)

マウス VSP を HEK293 細胞や Xenopus oocyte に強制発現させて、PI(4,5)P₂ を減少させる活性を、電気生理学的手法、および PI(4,5)P₂ を蛍光で検出する手法を用いて検討したが、再現性の良い結果が得られなかった。その原因として細胞膜への発現がうまく行かないことが考えられた。タグ配列を用いた解析を試みたものの、細胞膜表面への発現は改善しなかった。そこで Ci-VSP との膜貫通領域を含むキメラ分子を作製し、電位依存的酵素活性を計測した結果、S1-S3 までが Ci-VSP 由来のキメラ分子が、Ci-VSP と同様な酵素活性を示すことがわかり(図4)、マウス VSP の S4 以下は電位依存的酵素機能をもつのに十分であることが明らかになった。このことは、質量分析でノックアウトマウス由来の精子では PI4P が減少し、PI(4,5)P₂ が増加するという知見とも合致した。

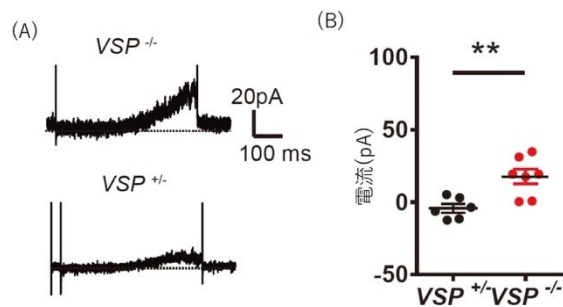


図2 精子からの電気生理学的測定

(A)精子から SLO3 電流を計測するため、SLO3 阻害剤である clofilium 感受性の成分を抽出している。(B)統計的にも有意に、VSP 欠損精子で有意な上昇が見られた。

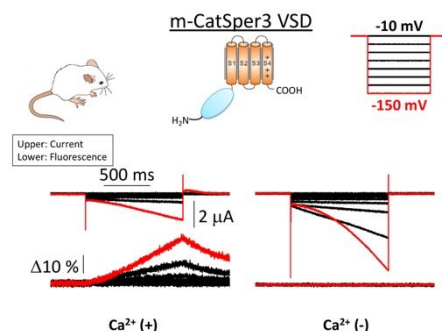


図3 マウス CatSper3 の電位センサードメインを通る gating pore current の計測

上:電位センサードメインの膜トポロジー 下左:アフリカツメガエル卵母細胞に発現させた際の細胞内 Ca 濃度変化を Fluo3 を用いて膜電位固定下で計測した結果。下右:膜電流の結果。過分極刺激により内向きに流れる電流が計測された。

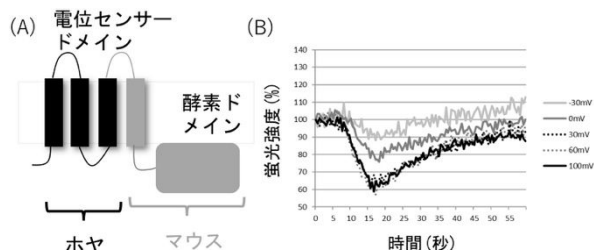


図4 ホヤ・マウスキメラ VSP の作製と機能解析

(A)ホヤ・マウスキメラ VSP の模式図。電位センサードメインを含む 4 番目の膜貫通領域からマウスの VSP に置換している。(B)ホヤ・マウスキメラ VSP の機能評価。ここでは PI(4,5)P₂ の量を PLC -GFP によりモニターし、各膜電位へと変化させたときの蛍光量変化を調べている。

更に、VSP 分子機能の調節機構を明らかにするため、研究分担者の西澤博士らが計算化学による MD シミュレーション解析を実施し、膜中へと飛び出る構造

(hydrophobic spine) がマウス VSP と Ci-VSP に共通に保存されており、これが膜と相互作用することが明らかになった(図5左)。そこで本研究費で雇用された特任助教の川鍋がこの部位のアミノ酸を様々に変更したところ、疎水性の程度に応じて電位依存的酵素活性が増強することがわかった(図5右)。Hydrophobic spine は、酵素活性そのものと電位センサーと酵素の共役の両方に関わることを明らかにした(文献4)。マウス VSP においてもこの疎水性構造は保存されていることから精子での生理機能の発現に、重要な役割を果たすと考えられる。

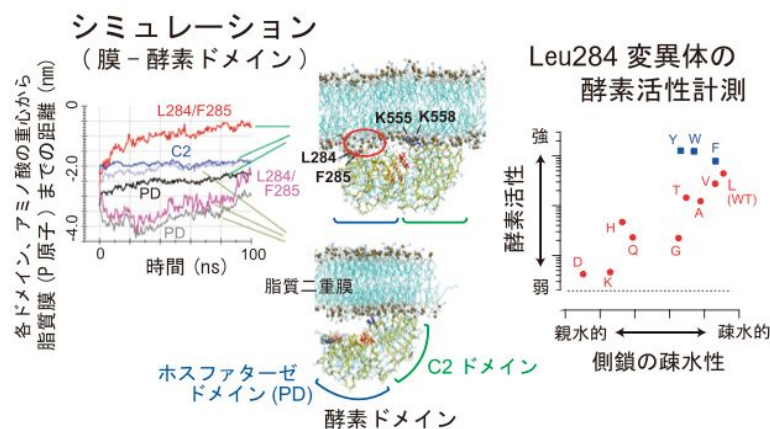


図5 VSP 酵素ドメインと膜との相互作用を MD シミュレーションで示した結果 (Kawanabe et al, eLife, 2018 より)。Leu284 のアミノ酸置換実験で疎水性アミノ酸が重要であるという実験結果(図右)と合致した。

(4) VSP を基にした膜電位可視化プローブの実用に向けた解析(研究分担者 大河内、筒井)

精子で VSP がどのような膜電位変化を感じて PIPs を介する精子運動性調節を担っているかは重要な課題であり、パッチクランプ計測による膜電位の計測を行った。これにより、いままで報告されてきた膜電位の値とほぼ同じ程度の -12 mV が得られた。しかしパッチクランプ法の限界として、長時間の計測ができないこと、成熟した精子からの計測は困難であることがあり、非侵襲的に計測する技術の適用が求められた。

そこで、これまでの研究で開発されてきた VSP を基にした膜電位プローブ Merm2(文献5)を適用することを検討するため、Merm2 を安定発現するマクロファージ系培養細胞 Raw264.7 (Merm2-RAW) を作成し、その後蛍光計測とパッチクランプ計測との同時計測のシステムを構築した。次に、個々の細胞から得られる蛍光強度から膜電位の値を推定するために、任意に固定した膜電位下において CFP と YFP の蛍光を取得し、YFP の蛍光強度を CFP の蛍光強度で割ることでレシオ値を算出し、各膜電位に対してプロットし、標準曲線を作成した(図6)。この標準曲線を用いて、生きた Merm2-RAW 細胞の蛍光強度から膜電位を測定したところ、-70 mV から -10 mV と細胞ごとに異なる膜電位の値を示すことが分かった。その中には、膜電位が一過的に約 -20 mV 変化する細胞も存在した。

このように、Merm2 蛍光プローブ分子を用いた光計測からおおよその膜電位を測定することができた。今後は信号強度が精子に適用するに十分であるか、どのような promoter を用いて強制発現させるかなどを検討する必要がある。

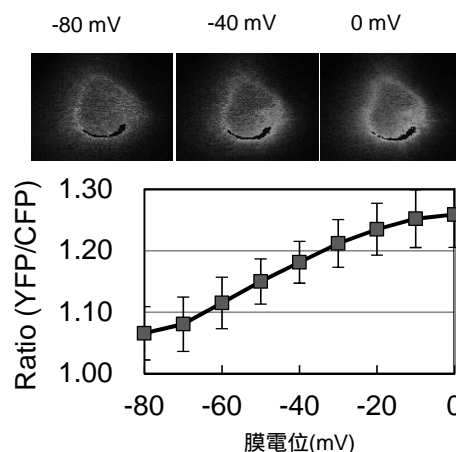


図6 膜電位に対する merm2 の蛍光レシオ (YFP/CFP) の標準曲線
上図:パッチクランプ法による各膜電位におけるレシオ画像。下図:各膜電位で得られた CFP と YFP の各蛍光強度から算出したレシオ値のグラフ。データは mean±SD, n=5。

文献

- (1) Kawai et al, **PNAS**, 116(51), 26020-26028, 2019
- (2) Arima et al, **BBA**, 1860(5), 981-990, 2018
- (3) Arima et al, **Channels**, 12(1), 240-248, 2018
- (4) Kawanabe et al, **eLife**, 7, e41653, 2018
- (5) Tsutsui, et al, **J. Physiol. J. Physiol.** 591(18):4427-37, 2013

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計31件（うち査読付論文 30件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 13件）

1. 著者名 OKAMURA Yasushi, OKOCHI Yoshifumi	4. 巻 95
2. 論文標題 Molecular mechanisms of coupling to voltage sensors in voltage-evoked cellular signals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the Japan Academy, Series B	6. 最初と最後の頁 111 ~ 135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2183/pjab.95.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kawanabe Akira, Hashimoto Masaki, Nishizawa Manami, Nishizawa Kazuhisa, Narita Hirota, Yonezawa Tomoko, Jinno Yuka, Sakata Souhei, Nakagawa Atsushi, Okamura Yasushi	4. 巻 7
2. 論文標題 The hydrophobic nature of a novel membrane interface regulates the enzyme activity of a voltage-sensing phosphatase	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e41653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.41653	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 Sanchez Colline, Berthier Christine, Allard Bruno, Perrot Jimmy, Bouvard Clement, Tsutsui Hidekazu, Okamura Yasushi, Jacquemond Vincent	4. 巻 150
2. 論文標題 Tracking the sarcoplasmic reticulum membrane voltage in muscle with a FRET biosensor	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of General Physiology	6. 最初と最後の頁 1163 ~ 1177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1085/jgp.201812035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Arima Hiroki, Tsutsui Hidekazu, Okamura Yasushi	4. 巻 12
2. 論文標題 Conservation of the Ca ²⁺ -permeability through the voltage sensor domain of mammalian CatSper subunit	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Channels	6. 最初と最後の頁 240 ~ 248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19336950.2018.1476791	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 Arima Hiroki, Tsutsui Hidekazu, Sakamoto Ayako, Yoshida Manabu, Okamura Yasushi	4. 巻 1860
2. 論文標題 Induction of divalent cation permeability by heterologous expression of a voltage sensor domain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 981 ~ 990
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2018.01.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakata Souhei, Okamura Yasushi	4. 巻 597
2. 論文標題 Dynamic structural rearrangements and functional regulation of voltage-sensing phosphatase	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 29 ~ 40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP274113	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okamura Yasushi, Kawanabe Akira, Kawai Takafumi	4. 巻 98
2. 論文標題 Voltage-Sensing Phosphatases: Biophysics, Physiology, and Molecular Engineering	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiological Reviews	6. 最初と最後の頁 2097 ~ 2131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/physrev.00056.2017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakata Souhei, Jinno Yuka, Kawanabe Akira, Okamura Yasushi	4. 巻 113
2. 論文標題 Voltage-dependent motion of the catalytic region of voltage-sensing phosphatase monitored by a fluorescent amino acid	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.	6. 最初と最後の頁 7521 ~ 7526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1604218113	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 Inagaki Shigenori, Tsutsui Hidekazu, Suzuki Kazushi, Agetsuma Masakazu, Arai Yoshiyuki, Jinno Yuka, Bai Guirong, Daniels Matthew J., Okamura Yasushi, Matsuda Tomoki, Nagai Takeharu	4. 巻 7
2. 論文標題 Genetically encoded bioluminescent voltage indicator for multi-purpose use in wide range of bioimaging	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 42398 ~ 42398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep42398	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 Okamura Yasushi	4. 巻 113
2. 論文標題 Simple scheme of lipid enzyme can explain complex lives of phosphoinositides	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA	6. 最初と最後の頁 7012 ~ 7014
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1607427113	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 該当する

1. 著者名 Souhei Sakata, Makoto Matsuda, Akira Kawanabe, Yasushi Okamura	4. 巻 14
2. 論文標題 Domain-to-domain coupling in voltage-sensing phosphatase	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biophysics and physicobiology	6. 最初と最後の頁 85 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.14.0_85	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 該当する

1. 著者名 Okamura Yasushi, Kawanabe Akira, Kawai Takafumi	4. 巻 98
2. 論文標題 Voltage-Sensing Phosphatases: Biophysics, Physiology, and Molecular Engineering	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiological Reviews	6. 最初と最後の頁 2097 ~ 2131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/physrev.00056.2017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 河合 喬文、筒井 秀和、岡村 康司	4. 巻 68
2. 論文標題 電位センサードメインを用いた膜電位プローブの進歩	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 444 ~ 445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.2425200686	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawanabe, A, Mizutani N, Polat Onur K, Yonezawa T, Kawai T, Mori M X, Okamura Y.	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 -
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawai T, Miyata H, Nakanishi H, Sakata S, Morioka S, Sasaki J, Watanabe M, Sakimura K, Fujimoto T, Sasaki T, Ikawa M, Okamura Y.	4. 巻 116
2. 論文標題 Polarized PtdIns(4,5)P ₂ distribution mediated by a voltage-sensing phosphatase (VSP) regulates sperm motility.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 26020-26028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1916867116	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 川鍋 陽, 西澤和久, 岡村康司	4. 巻 60
2. 論文標題 実験と計算の連携による電位依存性ホスファターゼVSPの活性化機構の解析	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生物物理	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 -

1. 著者名 Takafumi Kawai, Yasushi Okamura.	4. 巻 -
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 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 岡村康司、水谷夏希、大河内善史	4. 巻 269
2. 論文標題 ホスホイノシチドによるチャネル・トランスポーターの制御	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 1108-1113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計109件 (うち招待講演 32件 / うち国際学会 32件)

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Tomoko Yonezawa, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Cytoplasmic conformational changes of VSP detected by voltage clamp fluorescence spectroscopy
3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019), 第96回日本生理学会年会 合同大会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Natsuki Mizutani, Yoshifumi Okochi, Yasushi Okamura
2. 発表標題 The comparison of sensitivity between NaPi-IIa and NaPi-IIb activity to phosphoinositides
3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019), 第96回日本生理学会年会 合同大会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zhuan Zhou, Yuan Wang, Hiroki Arima, Rong Huang, Yuqi Hang, Xingyu Du, Feipeng Zhu, Zuying Chai, Changhe Wang, Yasushi Okamura
2. 発表標題 A new mechanism of Ca ²⁺ -independent voltage-dependent secretion in dorsal root ganglion neurons
3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019) , 第96回日本生理学会年会 合同大会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takafumi Kawai, Haruhiko Miyata, Hiroki Nakanishi, Souhei Sakata, Yoshifumi Okochi, Masahiko Watanabe, Kenji Sakimura, Takehiko Sasaki, Masahito Ikawa, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Functional analysis of voltage-sensing phosphatase in mouse sperm
3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019) , 第96回日本生理学会年会 合同大会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Masaki Hashimoto, Tomoko Yonezawa, Yuka Jinno, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Regulation of two-step cytoplasmic conformational changes of voltage sensing phosphatase
3. 学会等名 The 49th NIPS International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshifumi Okochi, Hidekazu Tsutsui, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Toward understanding of membrane potential in phagosomal membrane
3. 学会等名 The 49th NIPS International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川鍋 陽, 橋本 真宜, 米澤 智子, 神野 有香, 岡村 康司
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼVSPの疎水性膜界面の役割
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasushi Okamura, Akira Kawanabe, Kazuhisa Nishizawa, Takafumi Kawai
2. 発表標題 Mechanisms and physiological roles of voltage-sensing phosphatase
3. 学会等名 The 49th NIPS International Symposium (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡村 康司, 河合 喬文, 川鍋 陽, 筒井 秀和, 坂田 宗平, 佐々木 雄彦
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼVSP: 14年を経て見えたこと、見えないこと
3. 学会等名 心血管膜輸送研究会2018「心臓・血管系の頑健性と精緻な制御を支える分子基盤の統合的解明」(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡村 康司, 川鍋 陽, 坂田 宗平, 神野 有香
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼにおける膜電位変化から脱リン酸化反応の変換機構
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasushi Okamura
2. 発表標題 Coupling from electric signal to lipid signal; voltage-sensing phosphoinositide phosphatase
3. 学会等名 Institut NeuroMyoGene, LES SEMINAIRES DE L' INMG (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasushi Okamura
2. 発表標題 Ion-permeable voltage sensor domains
3. 学会等名 WCP2018 KYOTO Satellite Symposia New Insights into Ion Channel Functions and Pharmacology (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡村 康司
2. 発表標題 膜電位感受性イノシトールリン脂質ホスファターゼの動作原理とその応用
3. 学会等名 2018年 生理学研究所研究会 オルガネラ膜ナドメインの機能と動態 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川鍋陽、橋本真宜、米澤智子、神野有香、岡村康司
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼVSPの膜相互作用部位による酵素活性調節
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大河内善史、筒井秀和、岡村康司
2. 発表標題 食食細胞における食胞膜電位変化の計測
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川鍋陽, 坂田宗平, 筒井秀和, 岡村康司, 近藤寛子, 米澤康滋, 鷹野優, 成田宏隆, 中川敦史
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼの機能解析
3. 学会等名 CREST平成29年度領域会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 河合喬文、宮田治彦、中西広樹、坂田宗平、大河内善史、渡辺雅彦、崎村建司、佐々木雄彦、伊川正人、岡村康司
2. 発表標題 マウス精子における電位依存性ホスファターゼの機能
3. 学会等名 第110回 近畿生理学談話会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 川鍋陽、橋本真宜、米澤智子、神野有香、坂田宗平、岡村康司
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼVSP の膜近傍領域の役割
3. 学会等名 第110回 近畿生理学談話会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Masaki Hashimoto, Tomoko Yonezawa, Yuka Jinno, Souhei Sakata, Yasushi Okamura
2. 発表標題 The critical role of the hydrophobic membrane interacting region in voltage-sensing phosphatase (VSP)
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 川鍋陽、橋本真宜、米澤智子、神野有香、坂田宗平、岡村康司
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼVSPの酵素活性に対する膜近傍領域の役割
3. 学会等名 平成29年度生理学研究所研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shigenori Inagaki, Masakazu Agetsuma, Hidekazu Tsutsui, Shinya Ohara, Yoshiyuki Arai, Kazushi Suzuki, Yuka Jinno, Tomoki Matsuda, Toshio Iijima, Yasushi Okamura, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Development of a chemiluminescent voltage indicator applicable to brain activity recording in freely moving multiple mice
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 神田直樹、成田宏隆、岡村康司、中川敦史
2. 発表標題 がん抑制タンパク質PTENのPIP結合の際のN末端の役割
3. 学会等名 第16回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 河合 喬文、宮田 治彦、中西 広樹、坂田 宗平、大河内 善史、渡辺 雅彦、崎村 建司、佐々木 雄彦、伊川 正人、岡村 康司
2. 発表標題 精子における電位依存性ホスファターゼによるイノシトールリン脂質の制御
3. 学会等名 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasushi Okamura
2. 発表標題 Voltage-sensor domain proteins; from structural mechanisms to voltage reporter
3. 学会等名 KI-OU Joint Symposium in Neuroscience（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasushi Okamura
2. 発表標題 Coupling Mechanisms of Voltage-Sensing Phosphatase
3. 学会等名 Emerging Concepts in Ion Channel Biophysics（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasushi Okamura, Hiroki Arima, Hidekazu Tsutsui
2. 発表標題 Atypical cation conductance through voltage sensor domain
3. 学会等名 Seminar on Institute of Biotechnology National Autonomous University of Mexico（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroataka Narita, Naoki Kanda, Yasushi Okamura, Atsushi Nakagawa
2. 発表標題 Structural analysis of Voltage-sensing phosphatase (VSP) on the electrochemical coupling between the Voltage sensor domain and cytoplasmic phosphatase.
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Atsushi Nakagawa, Hiroataka Narita, Naoki Kanda, Akira Kawanabe, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Structural Studies of Voltage Sensing-Phosphatase
3. 学会等名 The 2nd Molecular and Cellular Life Sciences (MCLS2017) (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasushi Okamura, Akira Kawanabe, Kazuhisa Nishizawa, Souhei Sakata
2. 発表標題 Roles of membrane interaction in electrochemical coupling in voltage-sensing phosphatase
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Conferences Asia (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 川鍋陽、橋本真宜、米澤智子、神野有香、岡村康司
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼVSPの膜相互作用部位による酵素活性調節
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大河内善史、筒井秀和、岡村康司、
2. 発表標題 食細胞における食胞膜電位変化の計測
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河合喬文、宮田治彦、中西広樹、坂田宗平、大河内善史、渡辺雅彦、崎村建司、佐々木雄彦、伊川正人、岡村康司
2. 発表標題 精子における電位依存性ホスファターゼによるイノシトールリン脂質の制御
3. 学会等名 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河合喬文、宮田治彦、中西広樹、坂田宗平、大河内善史、渡辺雅彦、崎村建司、佐々木雄彦、伊川正人、岡村康司
2. 発表標題 マウス精子における電位依存性ホスファターゼの機能
3. 学会等名 第110回 近畿生理学談話会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 川鍋陽、橋本真宜、米澤智子、神野有香、坂田宗平、岡村康司
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼVSP の膜近傍領域の役割
3. 学会等名 第110回 近畿生理学談話会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名	Akira Kawanabe, Masaki Hashimoto, Tomoko Yonezawa, Yuka Jinno, Souhei Sakata, Yasushi Okamura
2. 発表標題	The critical role of the hydrophobic membrane interacting region in voltage-sensing phosphatase (VSP)
3. 学会等名	第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年	2017年

1. 発表者名	川鍋陽、橋本真宜、米澤智子、神野有香、坂田宗平、岡村康司
2. 発表標題	電位依存性ホスファターゼVSPの酵素活性に対する膜近傍領域の役割
3. 学会等名	平成29年度生理学研究所研究会
4. 発表年	2017年

1. 発表者名	Shigenori Inagaki, Masakazu Agetsuma, Hidekazu Tsutsui, Shinya Ohara, Yoshiyuki Arai, Kazushi Suzuki, Yuka Jinno, Tomoki Matsuda, Toshio Iijima, Yasushi Okamura, Takeharu Nagai
2. 発表標題	Development of a chemiluminescent voltage indicator applicable to brain activity recording in freely moving multiple mice
3. 学会等名	第40回日本神経科学大会
4. 発表年	2017年

1. 発表者名	Akira Kawanabe, Masaki Hashimoto, Tomoko Yonezawa, Yuka Jinno, Souhei Sakata, Yasushi Okamura
2. 発表標題	The importance of membrane interacting region in voltage-sensing phosphatase (VSP)
3. 学会等名	第94回日本生理学会大会
4. 発表年	2017年

1. 発表者名 Hiroki Arima, Hidekazu Tsutsui, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Functional analysis of the calcium-permeable voltage sensor domain
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 稲垣成矩、揚妻正和、筒井秀和、新井由之、鈴木和志、神野有香、岡村康司、松田知己、永井健治
2. 発表標題 自由行動マウスの脳活動計測を可能にする化学発光膜電位センサーの開発
3. 学会等名 第39回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Masaki Hashimoto, Tomoko Yonezawa, Yuka Jinno, Souhei Sakata, Yasushi Okamura
2. 発表標題 The role of membrane interacting region of phosphatase domain in voltage-sensing phosphatase (VSP)
3. 学会等名 第54回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Shigenori Inagaki, Masakazu Agetsuma, Hidekazu Tsutsui, Yoshiyuki Arai, Kazushi Suzuki, Yuka Jinno, Yasushi Okamura, Tomoki Matsuda, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Development of a chemiluminescent voltage indicator applicable to brain activity recording in freely moving mice
3. 学会等名 第54回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 大河内善史、岡村康司
2. 発表標題 細胞内膜の膜電位を可視化する - 貪食細胞の食胞膜電位の測定 -
3. 学会等名 第109回近畿生理学談話会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 有馬大貴、筒井秀和、吉田学、岡村康司
2. 発表標題 CatSperの電位センサードメインはカルシウムイオン透過性を持つ
3. 学会等名 第3回ホヤ研究会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Tomoko Yonezawa, Yuka Jinno, Souhei Sakata, Yasushi Okamura
2. 発表標題 The common regulation of phosphatase activity of voltage-sensing phosphatase (VSP) and PTEN by conserved putative membrane interacting region
3. 学会等名 第89回日本生化学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 川鍋陽、米澤智子、岡村康司
2. 発表標題 電位依存性ホスファターゼVSPとPTENに共通する膜との相互作用部位の重要性
3. 学会等名 第63回日本生化学会 近畿支部例会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yasushi Okamura
2. 発表標題 Voltage-sensor domain proteins; from structural mechanisms to voltage reporter
3. 学会等名 KI-OU Joint Symposium in Neuroscience (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Yuka Jinno, Souhei Sakata, Yasushi Okamura.
2. 発表標題 Coupling Mechanisms of Voltage-Sensing Phosphatase
3. 学会等名 Emerging Concepts in Ion Channel Biophysics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasushi Okamura, Hiroki Arima, Hidekazu Tsutsui
2. 発表標題 Atypical cation conductance through voltage sensor domain
3. 学会等名 Seminar on Institute of Biotechnology National Autonomous University of Mexico (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hirotaka Narita, Naoki Kanda, Yasushi Okamura, Atsushi Nakagawa
2. 発表標題 Structural analysis of Voltage-sensing phosphatase (VSP) on the electrochemical coupling between the Voltage sensor domain and cytoplasmic phosphatase.
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Atsushi Nakagawa, Hirotaka Narita, Naoki Kanda, Akira Kawanabe, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Structural Studies of Voltage Sensing-Phosphatase
3. 学会等名 The 2nd Molecular and Cellular Life Sciences (MCLS2017) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasushi Okamura, Akira Kawanabe, Kazuhisa Nishizawa, Souhei Sakata
2. 発表標題 Roles of membrane interaction in electrochemical coupling in voltage-sensing phosphatase
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Conferences Asia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasushi Okamura, Akira Kawanabe, Kazuhisa Nishizawa, Atsushi Nakagawa, Hirotaka Narita, Souhei Sakata, Yuka Jinno
2. 発表標題 Mechanisms and roles of lipid interaction in voltage-sensing phosphatase
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Atsushi Nakagawa, Hirotaka Narita, Naoki Kanda, Akira Kawanabe, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Structural studies of voltage-sensing phosphatase
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasushi Okamura
2. 発表標題 Principle and biodiversity of voltage sensor domain in channels and enzyme
3. 学会等名 Campus Asia 国際シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasushi Okamura, Akira Kawanabe, Souhei Sakata
2. 発表標題 Crossroad of electricity and lipid signaling: voltage-sensing phosphoinositide phosphatase (VSP)
3. 学会等名 第39回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yasushi Okamura
2. 発表標題 Molecular mechanisms of voltage-sensing phosphatase, VSP
3. 学会等名 2016 International Conference of Physiological Sciences (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yasushi Okamura, Souhei Sakata, Akira Kawanabe, Yuichiro Fujiwara, Yuka Jinno
2. 発表標題 How does voltage sensor domain regulate downstream effector?: lesson from voltage-sensor domain proteins
3. 学会等名 第39回日本神経科学大会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yasushi Okamura
2. 発表標題 Principle and biodiversity of voltage sensor domain proteins
3. 学会等名 Dutch Neuroscience Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Kawanabe A, Nishizawa M, Nishizawa K, Narita H, Yonezawa T, Jinno Y, Sakata S, Nakagawa A, Okamura Y.
2. 発表標題 The conformational change of the cytoplasmic region of voltage-sensing phosphatase
3. 学会等名 the 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (第97回日本生理学会大会) 誌上開催 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kawai T, Okamura Y
2. 発表標題 Regulation of phosphoinositide distribution by voltage-sensing phosphatase in mouse spermatozoa
3. 学会等名 the 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (第97回日本生理学会大会) 誌上開催 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mizutani N, Okamura Y
2. 発表標題 Alteration in the coupling between voltage sensor movement and phosphatase activity in voltage-sensing phosphatase with mutation in voltage sensor domain
3. 学会等名 the 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (第97回日本生理学会大会) 誌上開催 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mizutani N, Okamura Y
2. 発表標題 Coupling Mechanisms of VSD Mutants of Cl-VSP
3. 学会等名 64th Biophysical Society Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Okamura Y, Kawai T, Kawanabe A
2. 発表標題 Voltage sensing phosphatase: crossroad of electrical signal and lipid signal
3. 学会等名 60th International Conference on the Bioscience of Lipids (ICBL2019) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 Okamura Y.	4. 発行年 2017年
2. 出版社 Reference Module in Life Sciences, Elsevier	5. 総ページ数 24
3. 書名 Reference Module in Life Sciences, "Voltage-gated proton channels"	

1. 著者名 岡村康司、大澤匡範	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 220
3. 書名 脂質クオリティ	

〔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	河合 喬文 (Kawai Takafumi) (70614915)	大阪大学・医学系研究科・助教 (14401)	
研究分担者	筒井 秀和 (Tsutsui Hidekazu) (30392038)	北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・准教授 (13302)	
研究分担者	西澤 和久 (Nishizawa Kazuhisa) (00260935)	帝京大学・医療技術学部・教授 (32643)	
研究分担者	大河内 善史 (Okochi Yoshifumi) (90435818)	大阪大学・医学系研究科・助教 (14401)	