

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21382

研究課題名(和文)ミトコンドリアエネルギーダイナミクスを光制御する筋細胞システムの開発

研究課題名(英文)Optical control of energy dynamics in mitochondria

研究代表者

八尾 寛 (Yawo, Hiromu)

東京大学・物性研究所・特任研究員

研究者番号：00144353

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリア内膜トランスロカーゼ複合体結合タンパク質由来のTim29[1-89]を利用し、微生物由来のH⁺ポンプロドプシンをミトコンドリア内膜へターゲティングすることにより、ミトコンドリアエネルギー代謝を光依存的に制御するシステムの開発に挑戦した。Tim29[1-89]のC末にH⁺プロトンポンプのArchTを配位したタンパク質の細胞内局在は、ミトコンドリアマーカーと一致しなかった。また、細胞膜に発現し、黄色光依存的にH⁺を細胞外へ輸送した。ミトコンドリアマトリックスにおいては、光依存的なpHの変動が認められなかった。Tim291-89以外のターゲティングシグナルの探索が今後の課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミトコンドリアのエネルギー代謝によりもたらされるATPと熱産生は、生体機能にとり、普遍的かつ不可欠の要素である。また、ヒトにおいてミトコンドリアのエネルギー産生能の低下がミトコンドリア病の主要な原因だが、有効な治療法がない。本研究は、ミトコンドリアエネルギー代謝を光操作する技術の開発であり、その生理、病態生理の解明をそくしんとともに、細胞内局所のライブイメージング技術などと組み合わせることにより、新しい科学の創出が展望される。本技術を微生物・家畜・農作物に応用することにより、食糧生産を効率化するとともに、生物由来のCO₂排出量を削減し、地球温暖化を防止する科学技術の創発が見込まれる。

研究成果の概要(英文)：To express H⁺-pump rhodopsins in the mitochondrial inner membrane (MIM) and to regulate the mitochondrial energy metabolism by light, we used Tim2[91-89], a subunit of the human TIM22 translocase as one of the targeting signals for the MIM. An H⁺-pump rhodopsin, ArchT was connected to the C-terminal end of Tim2[91-89] and expressed in the culture cells such as Cos7 and ND7/23. The hybrid protein was expressed in the intracellular organelles, but was not co-localized with the mitochondrial markers. It was also expressed in the plasma membrane and transport H⁺ outwardly as naive ArchT in a manner dependent on the yellow light. We also measured pH change using fluorescent protein pH probes targeted in the mitochondrial matrix. However, their signal/noise was not enough large to measure the small pH changes. It would be necessary to optimize the targeting signals and the pH probes for the optical manipulation of mitochondrial functions using H⁺-pump rhodopsins.

研究分野：光遺伝学、神経生理学

キーワード：ミトコンドリア エネルギー オプトジェネティクス 光遺伝学 外向きH⁺ポンプ ロドプシン ターゲティングシグナル 蛍光タンパク質

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, Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

あらゆる真核細胞において、ミトコンドリアは生命活動に必須な細胞内小器官であり、その主な機能は酸化リン酸化による ATP 産生である。ミトコンドリアにおいて、ATP は以下のプロセスにより合成される。まずグルコースの酸化などにより得られた高エネルギー電子がミトコンドリアの内膜にある一連の電子伝達系に沿って伝達される。この電子伝達反応から放出されるエネルギーにより H⁺がマトリックスから膜間腔へ汲み上げられ、H⁺電気化学勾配が形成される。そして、ミトコンドリアの内膜に存在する H⁺-ATP 合成酵素が、その H⁺濃度勾配を利用することで ADP を ATP に変換する。ミトコンドリアにおける ATP 産生量は、細胞内で消費される ATP の約 95% を占めることから、ミトコンドリアは細胞の”パワープラント“とも呼ばれている(Albert et al., 2015)。

微生物型ロドプシンは、7 回膜貫通タンパク質にレチナールが共有結合した構造を有するタンパク質の巨大ファミリーである。この中には、光エネルギーを利用し、H⁺を電気化学勾配に逆らって細胞内から細胞外へ輸送する外向き H⁺ポンプ、細胞外から細胞内へ H⁺を輸送する内向き H⁺ポンプ、細胞内から細胞外へ Na⁺を輸送する外向き Na⁺ポンプ、光吸収にともなう構造変化により、陽イオンチャネルが開く陽イオンチャネルロドプシン、陰イオンチャネルが開く陰イオンチャネルロドプシンなどが含まれている(Inoue, 2021)。そこで、外向き H⁺ポンプロドプシンをミトコンドリア内膜へターゲティングすることにより、光エネルギーを用いて、内膜を挟んだ H⁺電気化学勾配を作り出し、内在の H⁺-ATP 合成酵素を駆動し、ATP 産生を機能制御することを着想した。

2. 研究の目的

本研究においては、H⁺ポンプロドプシンをミトコンドリア内膜へターゲティングさせるとともに、機能させ、ミトコンドリアエネルギーダイナミクスを光制御する *in vitro* 培養細胞システムを開発することを目的とした。

ミトコンドリア内膜に特異的な膜タンパク質の多くは、細胞質において合成され、ミトコンドリア外膜を経て内膜へ輸送される。そのプロセスにおいて、タンパク質に付与されたターゲティングシグナルが輸送機構により識別されることが重要である。たとえば、cytochrome C オキシダーゼのサブユニットの 1 つ Cox8 のミトコンドリア指向性シグナル (mitochondria targeting signal; MTS) は、その代表的なものであり、これを N 末に付加した GFP は、ミトコンドリアマトリックス特異的に分布することが知られている(Rizzuto et al., 1995)。しかし、可溶性タンパク質に比べ、膜タンパク質をミトコンドリア内膜へターゲティングする方法は確立していない。これまで、cytochrome c oxidase のサブユニット(Cox8)の 4 連結 (4×Cox8) や ATP-binding cassette subfamily B member 10 (ABCB10) がチャネルロドプシンをミトコンドリアへターゲティングするとの先行例があるが、ロドプシンなどの膜タンパク質をミトコンドリア内膜へターゲティングすることは困難とされている(Tkatch et al. 2019; Ernst et al. 2019)。われわれの先行研究においても、Cox8 を N 末に付加したロドプシンの多くは、ミトコンドリアに発現せず、細胞質内に不定形の凝集物を形成した。そこで、挑戦的研究(萌芽) (17K19437, 2017-2019)において、さまざまなターゲティングシグナルを探索し、ミトコンドリア内膜トランスロカーゼ複合体結合タンパク質の 1 つ Tim29 に着目した。ヒト Tim29 は 260 アミノ酸残基からなるタンパク質で、61-79 残基部位に単一膜貫通ヘリックスを有している(Kang et al. 2016)。先行研究において、Tim29¹⁻⁸⁹ の C 末に FLAG を結合したタンパク質を HEK293 細胞や HeLa 細胞などにトランスフェクションすると、FLAG 抗原がミトコンドリアに分布することが示されている。そこで、Tim29¹⁻⁸⁹ を用いて微生物型ロドプシンの一種である、光駆動外向き H⁺ポンプ、archaerhodopsin-T (ArchT, Han et al., 2011) をミトコンドリア内膜へターゲットできるかを検証した。Tim29¹⁻⁸⁹ は、単一膜貫通ドメインを有しているため、3 次元構造が理想的に折りたたまれば、光刺激によって、ArchT はマトリックスから膜間腔へと H⁺を汲み出すことから、ミトコンドリアの内膜を介した H⁺濃度勾配を増加させ、ATP 合成酵素を賦活化することが期待された。

3. 研究の方法

本研究においては、ミトコンドリアターゲティングシグナルとして Tim29¹⁻⁸⁹ を用い、その特性を評価するにあたり、表 1 に示すプラスミドを作製し、HEK293 細胞、Cos7 細胞、C2C12 細胞、ND7/26 細胞などに発現した。目的遺伝子の細胞内発現部位を蛍光免疫染色法で同定し、共焦点顕微鏡により観察した。

表 1 実験に使用したプラスミド

| プラスミドコンストラクト | 目的 |
|--|---|
| (1×, 2×, 4×)hCox8A-EYFP | ミトコンドリアマトリックス pH の計測 |
| 4×hCox8A-ChR2-EYFP | 他のミトコンドリアターゲティングシグナルとの比較(Tkatch et al., 2017) |
| 4×hCox8A-ChR2(C128A)-EYFP | 他のミトコンドリアターゲティングシグナルとの比較(Tkatch et al., 2017) |
| ArchT-Venus | 外向き H ⁺ ポンプ活性の照射波長依存性の検証 |
| Tim29 ¹⁻⁸⁹ -3×FLAG | Tim29 ¹⁻⁸⁹ のターゲティング機能の検証 |
| Tim29 ¹⁻⁸⁹ -EYFP | Tim29 ¹⁻⁸⁹ のターゲティング機能の検証 |
| Tim29 ¹⁻⁸⁹ -ArchT-Venus | Tim29 ¹⁻⁸⁹ -ArchT の細胞内分布 |
| Tim29 ¹⁻⁸⁹ -ArchT-3×FLAG | Tim29 ¹⁻⁸⁹ -ArchT の細胞内分布 |
| Tim29 ¹⁻⁸⁹ -ArchT-IRES2-2×Cox8-EYFP | ミトコンドリアマトリックス pH の光応答 |
| Tim29 ¹⁻⁸⁹ -ArchT-3×FLAG-IRES2-2×Cox8-EYFP | ミトコンドリアマトリックス pH の光応答 |
| Tim29 ¹⁻⁸⁹ -ArchT-3×FLAG-IRES2-2×Cox8-pHuji | ミトコンドリアマトリックス pH の光応答 |

4. 研究成果

(1) Tim29¹⁻⁸⁹-ArchT の細胞内分布

Tim29¹⁻⁸⁹ の C 末に FLAG を結合したコンストラクトからなるプラスミドをトランスフェクションした C2C12 細胞において、抗 FLAG 抗体に反応したオルガネラの分布は、ミトコンドリアマーカー抗体 (anti-ATP5A1) に反応したオルガネラの分布と類似しているものの、完全に一致しなかった。比較として、従来からミトコンドリアへターゲティングすることが報告されている Cox8-EYFP の分布も検証した。Tim29¹⁻⁸⁹-FLAG, Tim29¹⁻⁸⁹-ArchT-FLAG は、ミトコンドリアに分布しているという確証は得られなかった。

(2) Tim29¹⁻⁸⁹-ArchT の細胞膜発現

Tim29¹⁻⁸⁹ の C 末に ArchT と 3xFLAG を配位した DNA コンストラクトと 2xCox8 の C 末に EYFP を配位した DNA コンストラクトを IRES2 配列でつないだプラスミド (Tim29¹⁻⁸⁹-ArchT-3×FLAG-IRES2-2×Cox8-EYFP) を作製し、ND7/23 培養細胞に発現させた。顕微鏡下に EYFP をミトコンドリア様オルガネラに発現している細胞を同定し、ホールセルパッチクランプ法により膜電流を計測した。その結果、ホールディング電位 -100 mV から +80 mV のいずれにおいても、黄色光 (575 nm) により外向きの光電流が引き起こされた (図 1)。すなわち、Tim29¹⁻⁸⁹-ArchT が細胞膜に発現し、黄色光依存的に H⁺ を細胞外へ輸送したことが示唆される。本プラスミドを Cos7 細胞に発現させた場合においても、同様の光応答を確認した。ArchT の膜配位に逆転が認められなかったことから、Tim29¹⁻⁸⁹ が期待通りに折りたたまれず、膜に挿入されていないと考えられる。

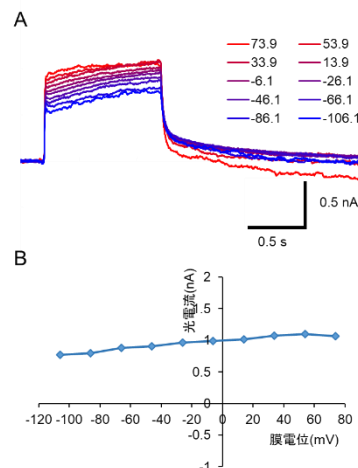


図 1 Tim29¹⁻⁸⁹-ArchT の細胞膜発現。A) ND7/23 細胞膜の光電流。B) 光電流の膜電位依存性。

(3) ミトコンドリアマトリックス pH の光応答

Tim29¹⁻⁸⁹-ArchT-3×FLAG-IRES2-2×Cox8-EYFP 導入細胞においては、EYFP がミトコンドリアマトリックスに発現する。EYFP 蛍光強度は pH に依存するので、内膜を介して H⁺ がマトリックスから膜間腔へ輸送されることにより明るくなる。倒立蛍光顕微鏡 (オリンパス) において、水浸対物レンズ (オリンパス) を介し、470-495 nm 励起、510-550 nm 蛍光を高感度 CMOS カメラ (Hamamatsu, ORCA-Flash 4.0 V2) で画像取得し、ImageJ により画像解析した。イメージングしながら ArchT 光刺激する目的で、多色光照射システム (Lumencor, Spectra X) の光を水浸対物レンズ (オリンパス) に導入し、575 nm 刺激光をサンプルに収束させ

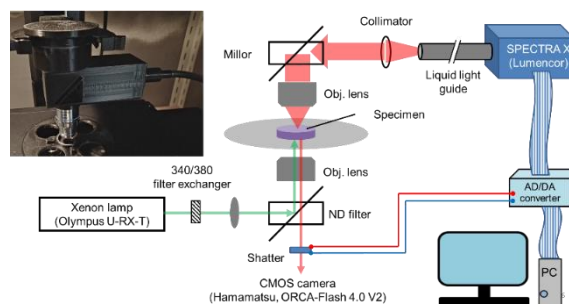


図 2 コンデンサー多色光照射システム

るコンデンサーを自作した (図 2).

画像取得中の EYFP の退色が速いうえに, pH 感受性が小さいので, 再現性の高いデータを取得できなかった. そこで, EYFP の代わりに, pH 感受性赤色蛍光タンパク質 pHuji 遺伝子をコンストラクトに組み込んだプラスミド Tim29¹⁻⁸⁹-ArchT-3×FLAG-IRES2-2×Cox8-pHuji を作製した (Shen et al., 2014). Tim29¹⁻⁸⁹-ArchT-3×FLAG-IRES2-2×Cox8-pHuji 導入細胞においては, pHuji がミトコンドリア様オルガネラに発現していた. 530-550 nm 励起, >575 nm 蛍光で画像取得し, 650 nm レーザー照射で ArchT を光刺激するシステムを作製した (図 2). 照射面でのパワーを計測したところ, 20 mW/mm² 以上だった. ArchT の最大吸収波長からは離れているが, pHuji に干渉することなく最大の活性化が見込まれる. このシステムを用いて, 各種波長の光照射に対する pHuji の蛍光を計測したところ, 励起光に用いた 530 nm 付近を境に, 短波長側で蛍光強度の増強, 長波長側で蛍光強度の減弱が引き起こされた (図 3A, B). この現象は, 乾燥させた細胞でも認められたことから, pHuji の物理化学的特性に由来することが示唆された. 赤色光 (632 nm) の照射により蛍光強度に対する干渉が引き起こされないため, この波長を用いた ArchT の活性化を検証した. しかし, 最大強度の光でも十分な活性化が認められなかった (図 3C).

(4) 展望

本研究は, いざ始めてみると, 越えなければならない高い障壁がいくつも見えてきた. これまでに, ミトコンドリアに H⁺ポンプロドプシンをターゲティングしたという報告が数編ある (Hara et al., 2013). また, 論文として発表されていないものが数多くあると推察される. しかし, これらの研究では, ミトコンドリア機能の光操作については, 十分納得の得られるエビデンスが得られていない. われわれは, ミトコンドリアの成熟が, 機能検証のカギを握っているのではないかと考えている. すなわち, これまでの研究においては, われわれの研究を含め, 培養細胞に外来性遺伝子を導入し, 数日以内に形態, 機能を検証している. しかし, ATP 合成酵素などの機能タンパク質が組み込まれ, 十分な機能を発揮するには, もっと多くの日時を有する可能性が高い. したがって, 神経幹細胞や筋芽細胞などの幹細胞に外来性の遺伝子を組み込み, ニューロン, アストロサイト, 筋細胞などに分化させたのち, その発現タンパク質の分布を検証する方法 (Asano et al., 2021) や, 線虫, ゼブラフィッシュ, マウスなど遺伝子組換え動物を作製する方法が有効である. また, Cox8 反復, ABCB10, Tim29¹⁻⁸⁹ などを用いて ArchT をミトコンドリア内膜にターゲティングした際の分子の配位がどのようになるのかが未解明である. ターゲティングされる分子がチャネルロドプシンの場合, その光依存的なイオン輸送の方向は, 配位に依存しない. しかし, H⁺ポンプの場合, 配位される方向に依存し, マトリックスがアルカリ化するか酸性化するかにより, ATP 合成は, 促進あるいは抑制される. Cox8 反復などをターゲティングシグナルにすると, ランダムに配位される可能性すらある. また哺乳類由来の発現細胞においては, ArchT などの古細菌由来のロドプシンが異常フォールディングし, ターゲティングや機能が損なわれる可能性がある. この問題は, CsR (Fudim et al., 2019) などの真核生物由来の H⁺ポンプロドプシンを用いることにより解決する可能性がある. 予備実験において, CsR が形質膜選択的に発現し, H⁺輸送が ArchT に匹敵することを確認している. また, われわれが最近同定した内向き H⁺ポンプの 1 つ, Schizorhodopsin (SzR, Inoue et al., 2020) は, イオン輸送効率が高いことを見出している. ミトコンドリア内膜においてロドプシンの配向が逆転する場合, SzR などの内向き H⁺ポンプが適している可能性がある.

ミトコンドリア内膜における光依存的な H⁺輸送を評価するにあたり, 本研究では, pH 感受性蛍光タンパク質をミトコンドリアマトリックスに発現させた. 電子伝達系の活性に依存し, マトリックス内腔の pH は 7.2 と 7.9 の間で変動し, pH 感受性蛍光タンパク質の蛍光強度が変化する (表 2). EYFP は, pKa が 7.1 なので, マトリックス内腔の pH 計測に最適ではない, 退色が速い, 励起光波長がロドプシン活性化に干渉するなどの理由で本研究の目的に最適ではない. pHuji の場合, pKa が 7.7 なので, マトリックス内腔の

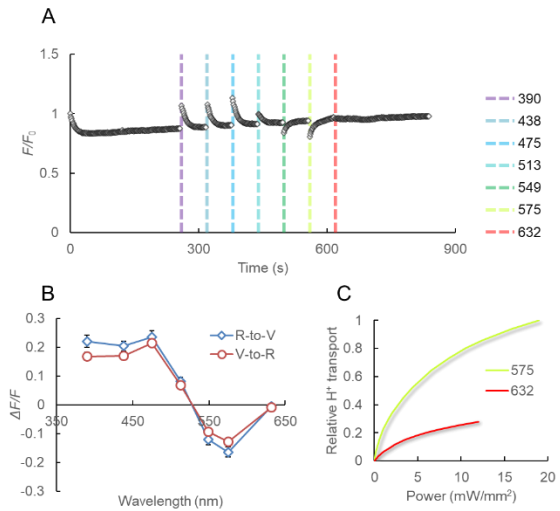


図 3 pHuji 蛍光強度に対する照射光の干渉. A) Tim29¹⁻⁸⁹-ArchT-3×FLAG-IRES2-2×Cox8-pHuji 発現細胞の蛍光強度を計測しながら, コンデンサーから各種波長の光を照射した. B) 鑑賞の波長依存性. C) ArchT 活性化の光強度依存性を 575 nm と 632 nm で比較した.

pH 計測に適しており、感度の高い計測が見込まれる。しかし、光を吸収することにより、300-600 nm の波長に依存した蛍光強度の変化が一過性に引き起こされた。ゆえに、蛍光タンパク質を pH プローブとして用いるにあたり、600 nm 付近の光により活性化される外向き H⁺ポンプロドプシンの創出あるいは探索が喫緊の課題である(Inoue et al., 2021)。あるいは、ルミネッセンスタンパク質を用いた pH プローブの開発、最適化などが今後の研究課題である(Takai et al., 2015)。

表2 ミトコンドリア pH に対する蛍光タンパク質の感受性

| | ヒル係数 | pKa | F(7.9)/F(7.2) |
|-------------------|------|-----|---------------|
| EYFP | 1.1 | 7.1 | 1.6 |
| SEP | 1.9 | 7.2 | 1.9 |
| pHuji | 1.1 | 7.7 | 2.8 |
| pHTomato | 0.51 | 7.8 | 1.6 |
| mCherryTYG | 0.73 | 7.8 | 2.0 |

参考文献

- Albert B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*, 6th edition (2015).
- Asano T, Teh DBL, Yawo H. Application of Optogenetics for Muscle Cells and Stem Cells. *Adv Exp Med Biol.* 1293:359-375 (2021).
- Ernst P, et al. Precisely control mitochondria with light to manipulate cell fate decision. *Biophys J.* 117(4):631-645 (2019).
- Fudim R, Szczepek M, Vierock J, Vogt A, Schmidt A, Kleinau G, Fischer P, Bartl F, Scheerer P, Hegemann P. Design of a light-gated proton channel based on the crystal structure of Coccomyxa rhodopsin. *Sci Signal.* 12(573):eaav4203 (2019).
- Hara KY, Wada T, Kino K, Asahi T, Sawamura N. Construction of photoenergetic mitochondria in cultured mammalian cells. *Sci Rep.* 3:1635 (2013).
- Han X, Chow BY, Zhou H, Iapoecke NC, Chuong A, Rajimehr R, Yang A, Baratta MV, Winkle J, Desimone R, Boyden ES. A High-Light Sensitivity Optical Neural Silencer: Development and Application to Optogenetic Control of Non-Human Primate Cortex. *Front Syst Neurosci.* 5: 18 (2011).
- Inoue K. Diversity, Mechanism, and Optogenetic Application of Light-Driven Ion Pump Rhodopsins. *Adv Exp Med Biol.* 1293:89-126 (2021).
- Inoue K, Tsunoda SP, Singh M, Tomida S, Hososhima S, Konno M, Nakamura R, Watanabe H, Bulzu PA, Banciu HL, Andrei AŞ, Uchihashi T, Ghai R, Béjà O, Kandori H. Schizorhodopsins: A family of rhodopsins from Asgard archaea that function as light-driven inward H⁺ pumps. *Sci Adv.* 6(15):eaaz2441 (2020).
- Inoue K, Karasuyama M, Nakamura R, Konno M, Yamada D, Mannen K, Nagata T, Inatsu Y, Yawo H, Yura K, Béjà O, Kandori H, Takeuchi I. Exploration of natural red-shifted rhodopsins using a machine learning-based Bayesian experimental design. *Commun Biol.* 4(1), 362 (2021).
- Kang Y, et al. Tim29 is a novel subunit of the human TIM22 translocase and is involved in complex assembly and stability. *Elife:* e17463. (2016).
- Rizzuto R, Brini M, Pizzo P, Murgia M, Pozzan T. Chimeric green fluorescent protein as a tool for visualizing subcellular organelles in living cells. *Curr Biol* 5(6):635-642 (1995).
- Shen Y, Rosendale M, Campbell RE, Perrais D. pHuji, a pH-sensitive red fluorescent protein for imaging of exo- and endocytosis. *J Cell Biol.* 207(3):419-432 (2014).
- Takai A, Nakano M, Saito K, Haruno R, Watanabe TM, Ohyanagi T, Jin T, Okada Y, Nagai T. Expanded palette of Nano-lanterns for real-time multicolor luminescence imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112(14):4352-4356 (2015).
- Tkatch T, et al. Optogenetic control of mitochondrial metabolism and Ca²⁺ signaling by mitochondria-targeted opsins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 114(26):E5167-E5176 (2017).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Inoue Keiichi, Karasuyama Masayuki, Nakamura Ryoko, Konno Masae, Yamada Daichi, Mannen Kentaro, Nagata Takashi, Inatsu Yu, Yawo Hiromu, Yura Kei, Beja Oded, Kandori Hideki, Takeuchi Ichiro | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 Exploration of natural red-shifted rhodopsins using a machine learning-based Bayesian experimental design | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Communications Biology | 6. 最初と最後の頁 362 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-01878-9 | 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 Mushiake Hajime, Ohshiro Tomokazu, Osawa Shin-ichiro, Hosaka Ryosuke, Katayama Norihiro, Tanaka Tetsu, Yawo Hiromu, Osanai Makoto | 4. 巻 1293 |
| 2. 論文標題 Multimodal Functional Analysis Platform: 4. Optogenetics-Induced Oscillatory Activation to Explore Neural Circuits | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Adv Exp Med Biol. | 6. 最初と最後の頁 501 ~ 509 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-15-8763-4_34 | 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 Asano Toshifumi, Teh Daniel Boon Loong, Yawo Hiromu | 4. 巻 1293 |
| 2. 論文標題 Application of Optogenetics for Muscle Cells and Stem Cells | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Adv Exp Med Biol. | 6. 最初と最後の頁 359 ~ 375 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-15-8763-4_23 | 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 Nagasaka Yujiro, Hososhima Shoko, Kubo Naoko, Nagata Takashi, Kandori Hideki, Inoue Keiichi, Yawo Hiromu | 4. 巻 17 |
| 2. 論文標題 Gate-keeper of ion transport--a highly conserved helix-3 tryptophan in a channelrhodopsin chimera, C1C2/ChRWR | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology | 6. 最初と最後の頁 59 ~ 70 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.BSJ-2020007 | 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 Kim Dongmin, Yokota Tomoyuki, Suzuki Toshiki, Lee Sunghoon, Woo Taeseong, Yukita Wakako, Koizumi Mari, Tachibana Yutaro, Yawo Hiromu, Onodera Hiroshi, Sekino Masaki, Someya Takao | 4. 巻 117 |
| 2. 論文標題 Ultraflexible organic light-emitting diodes for optogenetic nerve stimulation | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences | 6. 最初と最後の頁 21138 ~ 21146 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2007395117 | 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 Ohmichi Yusuke, Ohmichi Mika, Tashima Ryoichi, Osuka Koji, Fukushige Kaori, Kanikowska Dominika, Fukazawa Yugo, Yawo Hiromu, Tsuda Makoto, Naito Muneказu, Nakano Takashi | 4. 巻 161 |
| 2. 論文標題 Physical disuse contributes to widespread chronic mechanical hyperalgesia, tactile allodynia, and cold allodynia through neurogenic inflammation and spino-parabrachio-amygdaloid pathway activation | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Pain | 6. 最初と最後の頁 1808 ~ 1823 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/j.pain.0000000000001867 | 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 - |

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Masae Konno, Hiromu Yawo, Hideki Kandori, Keiichi Inoue |
| 2. 発表標題 光による植物細胞の膜電位制御系の開発 |
| 3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yujiro Nagasaka, Shoko Hososhima, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, Hiromu Yawo |
| 2. 発表標題 The gate-keeper role of a highly conserved helix-3 tryptophan for ion transport of the channelrhodopsin chimera, C1C2/ChRWR |
| 3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 八尾 寛 |
| 2. 発表標題 「なんでも生理学」、「問題指向」、「スクラップアンドビルド」、そして「光遺伝学」 |
| 3. 学会等名 第99回日本生理学会大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 八尾 寛 |
| 2. 発表標題 感覚の光操作 |
| 3. 学会等名 感性のセンシング・フィードバック技術分科会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計2件

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Yawo, H., Kandori, H., Koizumi, A., Kageyama, R. (Eds.) | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 Springer | 5. 総ページ数 675 |
| 3. 書名 Optogenetics - Light-Sensing Proteins and Their Applications in Neuroscience and Beyond | |

| | |
|------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 岡田 泰伸、佐久間 康夫、岡村 康司 | 4. 発行年 2022年 |
| 2. 出版社 丸善出版 | 5. 総ページ数 910 |
| 3. 書名 ギャノン生理学 原書26版 | |

〔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 | 井上 圭一 (Inoue Keiichi) (90467001) | 東京大学・物性研究所・准教授 (12601) | |

| | 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 |
|-------|----------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 久保 尚子 (Kubo Naoko) | | |
| 研究協力者 | 石塚 徹 (Ishizuka Toru) | | |
| 研究協力者 | 長坂 勇次郎 (Nagasaka Yujiro) | | |
| 研究協力者 | 永田 崇 (Nagata Takashi) | | |
| 研究協力者 | 宝本 俊輝 (Takaramoto Shunki) | | |

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 |
|---------|---------|
| | |