

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：63905

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04021

研究課題名(和文) 蛍光非天然蛍光アミノ酸導入による、イオンチャネルの機能する姿と作動機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of dynamic structural rearrangements of functioning ion channels by fluorescent unnatural amino acid

研究代表者

久保 義弘 (KUBO, YOSHIHIRO)

生理学研究所・分子細胞生理研究領域・教授

研究者番号：80211887

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：典型的膜電位センサーを有しないATP受容体チャネルP2X2の膜電位依存的ゲーティングの分子基盤の解明を目的として、蛍光非天然アミノ酸(fUAA)の分子内導入を用いた光学的解析を行った。第2膜貫通部位のAla337の位置にfUAAを導入した際、膜電位依存的蛍光強度変化が観察された。その変化は、膜電位全域でリニアであったため、fUAAのelectrochromicな性質によること、337が強い電場内に位置することが示された。ATP存在下で、第1膜貫通部位のPhe44がAla337の近傍に位置するため、強い電場内における両者の相互作用が、膜電位依存性の基盤であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ATP受容体チャネルP2X2は、典型的な膜電位センサーが無いにも関わらず、未知のメカニズムにより膜電位依存的ゲーティングを示す。本研究では、この根源的な謎にアプローチした。本研究の特徴として、非天然蛍光アミノ酸を分子内に導入し、膜電位固定下で蛍光測光を行い、膜電位依存的構造変化等を捉える革新的な方法論を用いた点があげられる。本研究で得られた知見、および確立した方法論は、今後、膜タンパク質研究に広く敷衍しうる可能性を有する。

研究成果の概要(英文)：ATP receptor channel P2X2 shows voltage-dependent gating, in spite of the absence of canonical voltage-sensor in the molecule. We approached the molecular mechanisms by voltage-clamp fluorometry analysis using unnatural Fluorescent Amino Acid (fUAA). When fUAA was introduced at Ala337 by mutagenesis in the transmembrane domain 2 (TM2), voltage dependent fluorescence change was observed. As the change was linear in the recorded voltage range, it was shown that it is not due to conformational change of P2X2 protein but due to an electrochromic effect of fUAA, and that 337 position is located at a converged electric field. As it is known Phe44 in TM1 is close to Ala337 in the presence of ATP, and as we showed the importance of the interaction between Ala337 and Phe44 for activation by mutagenesis, it was suggested that the interaction between them in the strong electric field is voltage-dependent and that it underlies the voltage-dependent gating of P2X2.

研究分野：分子生理学

キーワード：ATP受容体チャネル 蛍光非天然アミノ酸 動的構造変化

### 1. 研究開始当初の背景

近年、イオンチャネル等の膜タンパク質を対象とした構造解析が急速に進み、静止画像（スナップショット）に関する情報が蓄積している。現在の研究動向は、より動的な側面の理解に向かっており、作動時の姿（ムービー）を知ることが重要になってきている。

ATP 受容体チャネル P2X2 は、ATP によって活性化されるイオンチャネルである。我々は、これまでに、P2X2 チャネルが、分子内に典型的な膜電位センサーを有しないにも関わらず、膜電位依存的活性化を示すことを見出した。変異体の解析等により膜電位依存的ゲーティングの分子基盤にアプローチしてきたが、未解明であった。

膜電位等に依存する膜タンパク質の動的構造変化を解析する手段として、蛍光物質を分子内にラベルし、構造変化に伴う蛍光強度の変化を、膜電位固定下で観察する研究手法（Voltage-Clamp Fluorometry, VCF）がある。ラベリングに、蛍光非天然アミノ酸（fluorescent Unnatural Amino Acid, fUAA）を用いた手法は極めて有用だが、膜タンパク質を対象とした先行研究は限定的で、方法論が確立されているとはいえなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では、イオンチャネル等の膜タンパク質の動的構造変化、多様な機能修飾、およびそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。主たる対象とする分子は、以下の3つであった。

#### (1) ATP 受容体チャネル (P2X2)

P2X2 チャネルの膜電位依存的ゲーティングの分子メカニズムを、fUAA を用いた VCF 法を確立して適用することにより解明することを目的とした。

#### (2) Two Pore Na<sup>+</sup> チャネル (TPC3)

我々は、これまでに、TPC3 チャネルの活性が、長い脱分極により「誘導」されること、そして脱分極による PI(3,5)P2 の産生と TPC3 への結合が関与することを見出した。本研究では、その結合の分子基盤を明らかにし、結合により膜電位依存的活性化が促進される機構を理解することを目的とした。

#### (3) G タンパク質結合型内向き整流性 K<sup>+</sup>チャネル (GIRK)

GIRK チャネルは、G タンパク質 beta gamma サブユニットによって活性化されるイオンチャネルで、アルコール等の種々の化学物質によっても活性化することが知られている。本研究では、GIRK チャネルの機能修飾物質の探索を行い、また、その作用メカニズムを明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 本研究は、アフリカツメガエル卵母細胞を *in vitro* 発現系として用いて行った。多数の変異体チャネルを作成し、野生型もしくは変異体を卵母細胞に発現させ、高スループットの電気生理学的手法である二電極膜電位固定法により、性質の変化を解析した。

(2) 併せて、膜タンパク質の動的構造変化にアプローチする光生理学的手法である、膜電位固定下蛍光測光法（VCF法）を適用した。

その際、通常の、チャネルに点変異により Cys 残基を導入し、maleimide 基を付加した化学蛍光物質を反応させてラベルする方法では、膜貫通部位、細胞内等にはラベルが困難であり、またラベルの効率および特異性にも問題がある。そこで、アンバーコドン(UAG)を用いて蛍光を発する天然アミノ酸 fUAA(化学物質名 Anap)を翻訳（タンパク質合成）時に取り込ませる手法を用いることにした（図 1）。この手法によれば、分子内のいかなる場所にも導入可能で、ラベルの効率および特異性も極めて高い。人工 tRNA と Anap tRNA synthetase を発現させるプラスミド DNA、Anap、イオンチャネルの cRNA を、どのタイミングでどのくらいの量比で、卵母細胞のどの位置に注入するかが鍵を握る。そのため、詳細な条件検討を行い、最適化を行った上で、P2X2 チャネル、および TPC3 チャネルを対象とした本実験を行った。

(3) 卵母細胞を用いた光学的解析においては、細胞質の Yolk の発する自家蛍光の混入が、シグナル/ノイズ比を下げるため問題となる。そこで、SIK inhibitor (a small molecule kinase inhibitor)を投与することにより、メラニン合成による卵母細胞の黒化を促進させ、細胞質からの自家蛍光を低減させた。

(4) VCF 実験については、正立蛍光顕微鏡下で、二電極膜電位固定記録を行い、同時に、卵母細胞頭頂部から、20x 対物レンズと光電管を用いて、高い時間分解能で 440 nm と 500 nm の蛍光強度を同時記録することにより実施した。

(5) TPC3 チャネルの動的構造変化については、Cys accessibility 解析を行った。点変異により

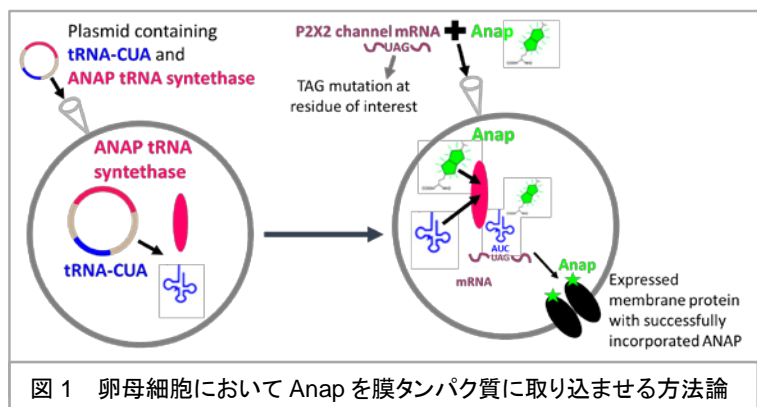


図 1 卵母細胞において Anap を膜タンパク質に取り込ませる方法論

目的箇所 Cys 残基を導入し、MTSET 等の Cys 残基に結合する物質を投与し、結合による電流の変化の速度を二電極膜電位固定法によりモニターする。変化の速度は、Cys 修飾の速度を反映するものであり、2 条件で速度が異なる場合には、2 条件で異なる構造をとっていることが示唆される。

#### 4. 研究成果

##### (1) P2X2 チャンネルを対象とする成果

ATP 受容体チャンネル P2X2 の特徴的な性質のひとつとして、細胞外 ATP による活性化に加え、典型的な膜電位センサーを分子内に有しないにもかかわらず、膜電位依存的活性化を示すことがある。P2X の受容体の ATP 非存在下 (P2X4)、および存在下 (P2X4, P2X3) での構造は既に解かれている。ATP 結合状態の P2X4 と P2X3 の構造に相違があるため、最終的な理解には至っていないものの、ATP による活性化の分子機構は明らかにされつつある。一方、P2X2 受容体の異なる電位での構造に関する情報は皆無で、膜電位依存的活性化の動的構造変化、そしてその分子メカニズムは未解明であった。本研究では、fUAA を用いた VCF 法により、ラット P2X2 受容体の膜電位依存的構造変化の検出に取り組み、以下の結果を得た。

① イオンチャンネル電流と蛍光シグナルを同時記録する予備実験により、Anap が、計画した通りに P2X2 タンパク質中に取り込まれ、ATP と膜電位に依存する電流を示す、野生型に酷似するチャンネル機能を有する分子が作られていることが確認された。すなわち、発現実験の最適化が達成され、実験系が確立できた。

② SIK inhibitor 処理により、細胞内からの自家蛍光シグナルが減弱し、シグナルノイズ比の改善が見られた。そのため、その後の実験はすべて SIK inhibitor 処理を行って実施した。

③ 膜貫通部位、細胞内領域を含む 96 カ所に、1 回に 1 カ所ずつ Anap を導入し、膜電位依存的蛍光強度の変化の有無をひとつひとつ測定した。その結果、96 カ所中、第 2 膜貫通部位の Ala337 と Ile341 の 2 カ所でのみ、膜電位依存的蛍光強度の変化が検出された (図 2)。

④ その変化は、測定した全膜電位領域でリニアに変化し、また、膜電位のステップパルス後、極めて早い時間経過

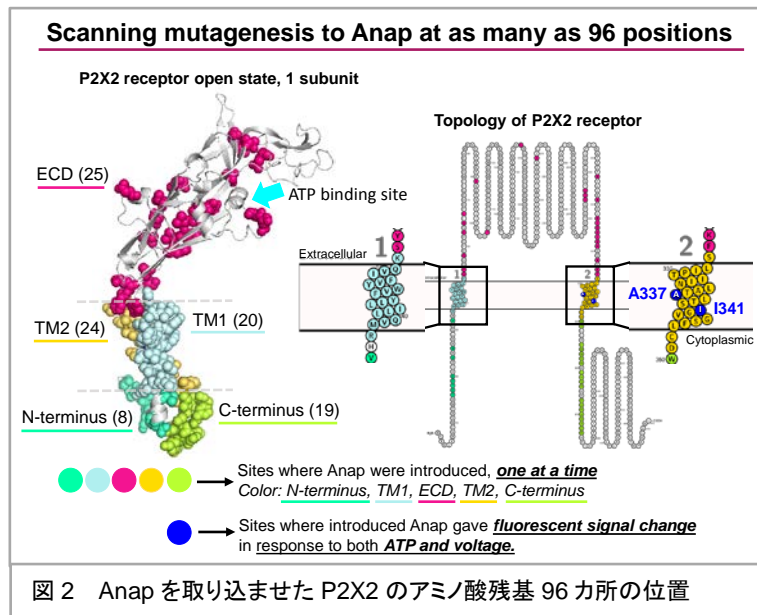


図 2 Anap を取り込ませた P2X2 のアミノ酸残基 96 カ所の位置

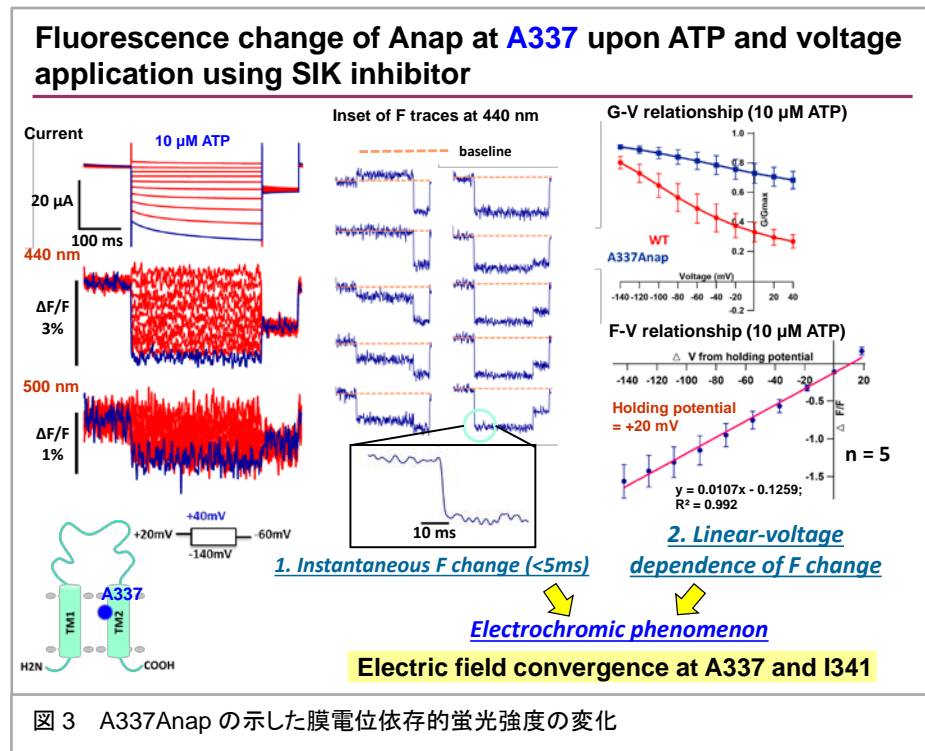


図 3 A337Anap の示した膜電位依存的蛍光強度の変化

で変化した (図 3)。そのため、この膜電位依存的蛍光強度の変化は、(本来の検出目的であった) 過分極電位で緩徐な活性化を示す P2X2 タンパク質の膜電位依存的活性化に伴う構造変化を反映するものではないと考えられた。速い時間変化とリニアな性質から、適する解釈としては、

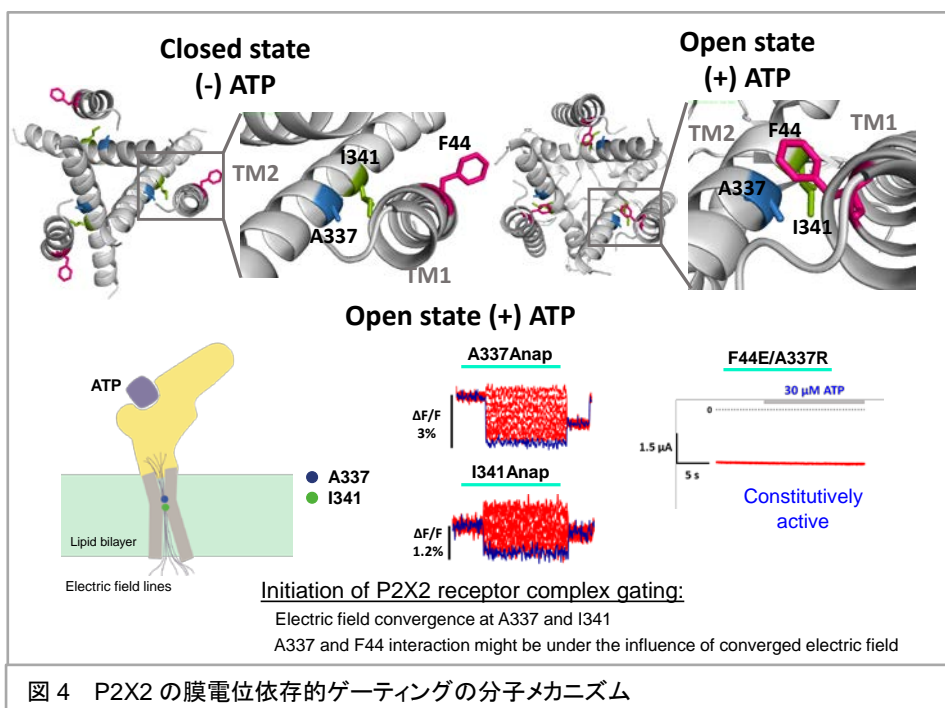
Anap そのものの有する electrochromic な性質による、電位変化に伴う蛍光強度の変化であると考えられた。

⑤ また、この部位においてのみ膜電位依存的な変化が観察されるのは、I341 および A337 の位置が、分子内で膜電位が強く集約する特異な点となっているためであると考えられた。

⑥ Anap337 における膜電位依存的な蛍光強度の変化は、ATP 存在下より ATP 非存在下の方が大きかった。このことは、337 における集約した電場の強度が、ATP の有無により変化することを意味する。実際、構造データを見ると、ATP 結合により 337 の位置する第 2 膜貫通部位と第 1 貫通部位の相対的位置が大きく変化している。

⑦ 構造データによると、ATP 存在下で、Ala337 の近傍に第 1 膜貫通部位の Phe44 が位置する。すなわち、ATP 結合による構造変化で Phe44 が強い電場に動き入る。活性化に Ala 337 と Phe44 の相互作用が重要である可能性を想定し、変異体を用いて検証した。Ala337 および Phe44 において種々のアミノ酸残基に変異すると膜電位依存的な活性化が顕著に変化することから、両者各々が重要な役割を果たしていることがまず示された。さらに、Phe44Glu と Ala337Arg の

二重変異により両者間に静電的結合を導入すると、ATP 非存在下でも活性化が見られ、またすべての電位で同程度の活性化を示した。このことから、この相互作用が活性化に重要で、強い電場内における Ala 337 と Phe44 の相互作用の電位依存性が、P2X2 の膜電位依存的活性化の分子基盤であることが想定された(図 4)。



⑧ Phe44 の位置に Anap を導入する実験は極めて重要である。しかし、チャネル機能が失われたため、解析することはできなかった。今後、他の方法論を併用して、複合的な解析を進めることを計画している。

## (2) TPC3 チャンネルを対象とする成果

Two Pore Na<sup>+</sup>チャンネル TPC3 についても、第 1 リピートへの Phosphoinositides の結合による第 2 リピートの膜電位センサーの動きの変化に焦点をあてて解析を進めた。すなわち、導入した fUAA の蛍光強度変化の光学的測定により、Phosphoinositides の有無による膜電位センサーの構造変化の違いの検出を試みた。併せて、第 2 リピートの膜電位センサーに導入した Cys 残基の Cys 修飾剤による修飾速度の解析を行った。この実験により第 1 リピートに結合する Phosphoinositides が減少すると修飾が遅くなる、すなわち膜電位センサーの動きの速度が低下することを観察した。この機構が、長い脱分極時による活性化の誘導現象、すなわち長い脱分極時に内因性の酵素によって産生される Phosphoinositides が結合することによる膜電位依存的活性化の促進現象の根底にある分子機構であることが示唆された。

## (3) GIRK チャンネルを対象とする成果

GIRK チャンネルの新規機能調節機構に関して、抗ヒスタミン薬 Terfenadine が機能を阻害することを世界で初めて見出した。GIRK1,2,4 サブユニットのうち、GIRK1 サブユニットが感受性をもたらしていることを見出し、網羅的な点変異体の解析により、感受性を決定するアミノ酸残基が GIRK1 のイオン透過路 (ポア) を後ろから支えるポアヘリックス上にある Phe137 であることを見出した。すなわち、イオン透過路ではなくて、ポアヘリックスに結合してチャンネル機能を阻害するという新奇な機構によるものであることが明らかになった。さらに、国際共同研究により分子ドッキング様式の解析を行い、Terfenadine が、ポアヘリックスと PIP2 結合部位にまたがる形で結合すること、すなわち、ポア構造と PIP2 の結合の両方に影響を与える新規の結合様式であることを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Chen IS, Liu C, Tateyama M, Karbat I, Uesugi M, Reuveny E, Kubo Y	4. 巻 176
2. 論文標題 Non-sedating antihistamines block G-protein-gated inwardly rectifying K <sup>+</sup> channels.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Br J Pharmacol	6. 最初と最後の頁 3161-3179
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/bph.14717	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 Shimomura T, Kubo Y	4. 巻 151
2. 論文標題 Phosphoinositides modulate the voltage dependence of two-pore channel 3	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Gen Physiol	6. 最初と最後の頁 986-1006
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1085/jgp.201812285	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 Ishii J, Suzuki A, Kimura T, Tateyama M, Tanaka T, Yazawa T, Arimasu Y, Chen IS, Aoyama K, Kubo Y, Saitoh S, Mizuno H, Kamma H	4. 巻 2
2. 論文標題 Congenital goitrous hypothyroidism is caused by dysfunction of the iodide transporter SLC26A7	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Commun Biol	6. 最初と最後の頁 270
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-019-0503-6	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 Oda M, Ogino H, Kubo Y, Saitoh O	4. 巻 30
2. 論文標題 Functional properties of axolotl transient receptor potential ankyrin 1 revealed by the heterologous expression system	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroreport	6. 最初と最後の頁 323-330
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/WNR.0000000000001197	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 Aoki I, Tateyama M, Shimomura T, Ihara K, Kubo Y, Nakano S, Mori I	4. 巻 1
2. 論文標題 SLO potassium channels antagonize premature decision making in <i>C. elegans</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Communication Biology	6. 最初と最後の頁 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-018-0124-5	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 Tateyama M, Kubo Y	4. 巻 13
2. 論文標題 Gi/o-coupled muscarinic receptors co-localize with GIRK channel for efficient channel activation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0204447
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0204447	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 Kume S, Shimomura T, Tateyama M, Kubo Y	4. 巻 596
2. 論文標題 Two mutations at different positions in the CNBH domain of the hERG channel accelerate deactivation and impair the interaction with the EAG domain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 4629-4650
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP276208	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 Tsukamoto H, Higashi M, Motoki H, Watanabe H, Ganser C, Nakajo K, Kubo Y, Uchihashi T, Furutani Y.	4. 巻 293
2. 論文標題 Structural properties determining low K <sup>+</sup> affinity of the selectivity filter in the TWIK1 K <sup>+</sup> channel	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Biol Chem	6. 最初と最後の頁 6969-6984
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.001817	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 Chen IS, Kubo Y.	4. 巻 596
2. 論文標題 Ivermectin and its target molecules: shared and unique modulation mechanisms of ion channels and receptors by ivermectin.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Physiol	6. 最初と最後の頁 1833-1845
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP275236	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 Chen IS, Tateyama M, Fukata Y, Uesugi M, Kubo Y.	4. 巻 595
2. 論文標題 Ivermectin activates GIRK channels in a PIP2 -dependent, G -independent manner and an amino acid residue at the slide helix governs the activation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Physiol	6. 最初と最後の頁 5895-5912
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP274871	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25件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 14件)

1. 発表者名 Andriani RT, Kubo Y
2. 発表標題 ATP-and voltage-dependent gating of P2X2 receptor analyzed by voltage-clamp fluorometry
3. 学会等名 The 7th International Ion Channel Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kubo Y
2. 発表標題 Phosphoinositides modulate the voltage dependence of Two-Pore Channel 3
3. 学会等名 The 7th International Ion Channel Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kubo Y
2. 発表標題 Phosphoinositides modulate the voltage dependence in Two-Pore Na <sup>+</sup> Channel 3
3. 学会等名 The Ion Channel Modulation Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chen IS, Liu C, Tateyama M, Karbat I, Uesugi M, Reuveny E, Kubo Y
2. 発表標題 Inhibitory mechanisms of G-protein-gated inwardly rectifying K <sup>+</sup> channel by antihistamines
3. 学会等名 Biophysical Society 64th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shimomura T, Kubo Y
2. 発表標題 PI(3,4)P2-dependent modulation of voltage dependence in Two-Pore Channel 3
3. 学会等名 Biophysical Society 64th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Brake, N, Manchino A, Yan Y, Shimomura T, Kubo Y, Bowie D, Khadra A
2. 発表標題 Relative voltage sensor activation kinetics determines the effects of sensor neutralization in voltage-gated sodium channels
3. 学会等名 Biophysical Society 64th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 Shimomura T, Hirazawa K, Kubo Y
2. 発表標題 PI(3,4)P2- and voltage-dependent gating of two-pore Na <sup>+</sup> channel 3
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Roles of the pore helix in the regulation mechanisms of gating of GIRK channels
2. 発表標題 Chen IS, Kubo Y
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hirazawa K, Shimomura T, Kubo Y
2. 発表標題 Analysis of the structural dynamics of Two-pore Na <sup>+</sup> channel 3
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tateyama M, Kubo Y
2. 発表標題 Activation of the THIK-2 channels by Gi/o and Gq coupled receptors
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamamoto T, Hattori S, Zhou L, Natsume R, Konno K, Chen IS, Watanabe M, Sakimura K, Miyakawa T, Kubo Y
2. 発表標題 Physiological roles of Prrt3, an orphan metabotropic receptor: Comprehensive behavioral test battery analysis using homozgous full gene knock-out mice derived from flox mice
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Andriani RT, Kubo Y
2. 発表標題 ATP- and voltage-dependent gating of P2X2 receptor analyzed by voltage-clamp fluorometry
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Liu C, Chen IS, Murrell-Lagnado R, Kubo Y
2. 発表標題 Modulation of ion channel function by Sigma-1 receptor, a multimodal membrane protein
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shimomura T, Kubo Y
2. 発表標題 A key interaction for modulation of voltage dependence by phosphoinositides in two-pore channel 3
3. 学会等名 9th FAOPS congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirazawa K, Shimomura T, Kubo Y
2. 発表標題 Analysis of dynamic structural rearrangements of Two-Pore Na <sup>+</sup> Channel 3 by voltage clamp fluorometry
3. 学会等名 9th FAOPS congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Rizki AT, Kubo Y
2. 発表標題 Voltage-clamp fluorometry analyses of voltage-dependent gating of ATP receptor channel P2X2
3. 学会等名 9th FAOPS congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chang L, Chen IS, Kubo Y
2. 発表標題 Effects of antihistamine drugs on G-protein-gated inwardly rectifying K <sup>+</sup> channels
3. 学会等名 9th FAOPS congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tateyama M, Kubo Y
2. 発表標題 Metabotropic glutamate receptor mGlu2 regulates signaling via Gq-coupled serotonergic receptor
3. 学会等名 9th FAOPS congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chen IS, Liu C, Kubo Y
2. 発表標題 Regulation mechanisms of G-protein-gated inwardly rectifying K <sup>+</sup> channel by small molecules
3. 学会等名 9th FAOPS congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Andriani RT, Kubo Y
2. 発表標題 Analyses of the structural rearrangements of P2X <sub>2</sub> receptor by voltage-clamp fluorometry using fUAA fluorophore - quencher pairing
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 Shimomura T, Kubo Y
2. 発表標題 Modulation of the voltage dependence by phosphoinositides in Two-Pore Na <sup>+</sup> Channel 3
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 Chen IS, Kubo Y
2. 発表標題 Novel regulation mechanisms of the GIRK channel activity by small molecules
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 Kume S, Tateyama M, Kubo Y
2. 発表標題 FRET analyses of the effect of Phe860Glu mutation on the interaction between the N- and C- terminal cytoplasmic domains in HERG channel
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 Chen IS, Tateyama M, Fukata Y, Uesugi M, Kubo Y
2. 発表標題 Effects and activation mechanisms of ivermectin on G-protein-gated inwardly rectifying potassium channels.
3. 学会等名 62nd Annual Meeting of Biophysical Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kubo Y
2. 発表標題 Activation mechanisms and binding sites of ivermectin in G-protein-gated inwardly rectifying potassium channels
3. 学会等名 IUPS 38th World Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017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
研究協力者	アンドリアニ リズキ サリ  (Andriani Rizki Tsari)		

## 6. 研究組織（つづき）

	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	下村 拓史  (Shimomura Takushi)		
研究協力者	チェン イ シャン  (Chen I-Shan)		
研究協力者	平澤 輝一  (Hirazawa Ki-ichi)		
研究協力者	リウ チャン  (Liu Chang)		
研究協力者	立山 充博  (Tateyama Michihiro)		