

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：12602
研究種目：基盤研究(S)
研究期間：2015～2019
課題番号：15H05775
研究課題名(和文)チャンネルを中心とした構造生理学的研究

研究課題名(英文)Studies in structural physiology of channels

研究代表者

藤吉 好則 (FUJIYOSHI, Yoshinori)

東京医科歯科大学・高等研究院・特別荣誉教授

研究者番号：80142298

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 138,500,000円

研究成果の概要(和文)：チャンネルを中心とする膜タンパク質の構造生理学研究を総合的に進めた結果、ギャップ結合チャンネルのgating機構のモデルを提案し、プロトン透過させない水チャンネルAQP4は脳浮腫などに関わるのでその阻害剤開発のための構造解析を行い、イオン透過を制御する電位感受性Na⁺チャンネルの構造機能研究と共にバクテリア由来のCa²⁺チャンネルを初めて発見し、プロトンポンプの高分解能の構造解析に成功し、タイト結合チャンネルの構造モデルを提案した。なお、アセチルコリン受容体では十分な成果が得られなかったが、エンドセリン受容体の構造解析結果を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

構造研究が困難とされてきた膜タンパク質の構造を高い分解能で解析するための技術開発を進め、チャンネルを中心とする構造を実際に解析して、構造生理学的に詳細に理解することができるようにした。2報のNature誌の論文をはじめ着実な論文発表を行った。特に、急激に発展しつつあり、創薬の分野でも注目を集めつつあるクライオ電子顕微鏡を用いた構造研究分野で、装置開発や関連技術開発などの貢献をした。

研究成果の概要(英文)：Structural information of membrane proteins including channels is crucial toward gaining a better understanding of biologic functions. The information that can be gained from a protein structure strongly depends on its resolution - the higher the resolution, the more insight gained into the structure-function relationship of biologic macromolecules. We analyzed structures of proton pump, water channel AQP4, whose inhibitor could be a drug for brain edema, Na⁺ channel, gap junction channels and tight junction channels at high resolutions. While we could not get significant results of AChR, we analyzed structures of endothelin receptor and its complexes with the agonist and antagonists. In this project, we could get important knowledge in the research field named as structural physiology and partly elucidate how the channels work and regulate functions of the human body. We also contributed advancement of cryo-electron microscopy by developing cryo-electron microscopes.

研究分野：クライオ電子顕微鏡法の開発とそれを用いたチャンネルを中心とする膜タンパク質の構造生理学研究

キーワード：クライオ電子顕微鏡 構造生理学 チャンネル 膜タンパク質 単粒子解析 結晶学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膜タンパク質の構造情報は、基礎生物学分野のみならず創薬等の応用分野にも重要であるが、その構造解析は困難な研究課題であった。藤吉のポストドクでもあった Y. Cheng のグループにより、膜タンパク質の構造が単粒子解析法を用いて 3.4 Å の分解能で解析された結果が 2013 年に報告された (M. Liao et al., *Nature*, **504**, 107-112 (2013))。この論文が嚆矢となり、膜タンパク質の構造解析法としてクライオ電子顕微鏡による単粒子解析が注目されるようになった。実際に、欧米ではクライオ電子顕微鏡による構造解析グループ新設の動きが急増した。この革命的な変化は、主に氷包埋法などの試料作製法、高性能画像記録システム、単粒子解析のコンピュータプログラムという 3 つの技術の進歩によって起きた。

しかし、通常の単粒子解析法では、膜タンパク質の構造を本来あるべき脂質膜内で解析することはできない。この問題の深刻さはまだあまり認識されていないが、膜タンパク質は脂質膜内で構造解析しなければ機能構造を理解できない場合がある。例えば、水チャネルアキュアポリン 4 (AQP4) の構造を電子線結晶学で 2.8 Å 分解能で解析した結果、水分子が分離して観察できたが、R. Straud らのグループが行った X 線結晶学では 1.8 Å という高い分解能で解析されたにも関わらず分離できなかった (JD Ho et al., *PNAS* **106**, 7437-42 (2009))。これは、脂質膜の特徴的誘電率の分布により短いヘリックスの双極子モーメントが大きくなるが、脂質膜内にはない状態で解析された X 線結晶学では双極子モーメントが弱いために、水分子の配向が乱れるためであると解釈される。このヘリックスによる静電場は、水チャネルだけでなく、カチオン、アニオンを問わず、イオンチャネル等にも重要で、理想的には膜タンパク質の構造は脂質膜内で解析すべきである。また、脂質膜の圧力が無いために膜貫通ヘリックスが広がってしまっている解析例が見られる等、膜タンパク質の構造は可能なら脂質膜内で解析すべきである。

2. 研究の目的

研究開始当初の背景に記載したような状況と理由から、**チャンネルを中心とした構造生理学的研究**の推進を目指して本研究課題を進めた。基礎生物学においても創薬などの応用的な観点からも、チャンネルなどの膜タンパク質の機能を構造学的視点から詳細に理解する事の重要性はさらに高まってきている。それゆえ、**構造生理学**と名付けた研究分野での研究を進めることを目的とした。具体的には、単粒子解析法の革命的な進展を受けて、単粒子解析に残された問題点を解決できる IBSA と命名する構造解析法を確立し (特許出願番号: 2014 - 169003)、電子線結晶学もさらに発展させて、6 種類の膜タンパク質 (ギャップ結合チャンネル、アセチルコリン受容体、水チャネル、Na⁺チャンネル、H⁺,K⁺-ATPase、タイト結合など) の機能構造を可能な限り脂質膜内で解析し、チャンネルの構造生理学的研究を進めることで、チャンネルでありながら細胞接着機能を有する Adhennel と名付けた膜タンパク質を中心に複雑な分子機構を**構造生理学的に理解**することを目的とした。

3. 研究の方法

本プロジェクト開始当初に、大きく注目されるようになってきたクライオ電子顕微鏡とそれを用いた構造研究は、1983 年から開始しており、以後一貫して研究を進めてきた。独自に開発してきた特に第 3 世代のクライオ電子顕微鏡に最新の画像記録システムを備えた装置と、IBSA 法のために開発した冷陰極電子銃を備えたクライオ電子顕微鏡を活用して、単粒子解析法や結晶学的方法などを総合的に用いて、ギャップ結合チャンネル、アセチルコリン受容体、水チャネル、Na⁺チャンネル、H⁺,K⁺-ATPase、タイト結合などの構造と機能の研究を進めた。

4. 研究成果

研究計画調書に記載した 6 種類の膜タンパク質、(1)ギャップ結合チャンネル、(2)アセチルコリン受容体、(3)水チャネル、(4)Na⁺チャンネル、(5)H⁺,K⁺-ATPase、(6)タイト結合、それぞれの研究を、研究成果の高低はあるが総合的に進め、具体的には以下のような成果を得ることができた。

- (1) ギャップ結合チャンネルの研究課題については、本課題前にコネキシン 26 の構造解析に成功して、6 量体でヘミチャンネル (12 量体でギャップ結合チャンネル) を形成していることを明らかにしていた。一方、無脊椎動物のギャップ結合チャンネル、イネキシンの 2 次元結晶を作製して、立体構造解析を行い、8 量体でヘミチャンネル (16 量体でギャップ結合チャンネル) を形成していることを明らかにして論文を発表した (*J. Mol. Biol.* **428**, 2265-74 (2016))。しかし、10 Å と低い分解能での構造解析しかできなかった。そこで、単粒子解析のシステムを立ち上げる努力を行い、界面活性剤を除く試料作製法である GraDeR 法も開発して (*Structure* **23**, 1769-75 (2015))、単粒子解析法によりイネキシンの構造解析を 3.3 Å 分解能で行った。この構造解析では、細胞質側を含む立体構造解析に成功し、論文として発表した (*Nature Comms.* **7**, 13681 (2016))。本プロジェクトで目指した、膜タンパク質を脂質膜内で構造解析するために、IBSA 法も試したが、S/N が悪い問題や分子の重なりの問題と、傾斜してペアの像を撮影する必要があり、当初の計画の様には進捗しなかった。それで、ナノディスクを用いて脂質膜内でのイネキシンの構造解析を行うことにより、極めて重要な構造情報を得ることができた。すなわち、イネキシンのギャップ結合チャンネルを脂質膜内で構造解析した結果、驚くことに、チャンネル内に脂質 2 重膜が形成され、GraDeR 法 (脂質膜が無い条件) で解析した結果と比較すると、ギャップ結合チャンネルの gating 機構を理解できる可能性の

ある極めて興味深い結果を得ることができた(図1)。この結果は、ギャップ結合チャンネルのような大きなチャンネル径(イネキシンのギャップ結合チャンネルは18程度の内径)を形成するチャンネルは、脂質分子が寄与してチャンネルを閉じることを初めて示した(Sci. Adv. 6, eaax3157 (2020))。チャンネルが閉じた状態の時には、N末端の短いヘリックスは脂質膜の上に配置されており、チャンネルが開くときには、このN末端部分が下に降りて脂質分子をチャンネルから追い出して、チャンネルを開けるというgatingモデルを提案できる。ギャップ結合チャンネルは大きな分子を透過するとともに、速いgating制御も行う。脂質分子のラテラルな方向の移動速度は極めて速いので、ギャップ結合チャンネルのgating機構を構造生理学的に理解できる良いモデルであると思われる。

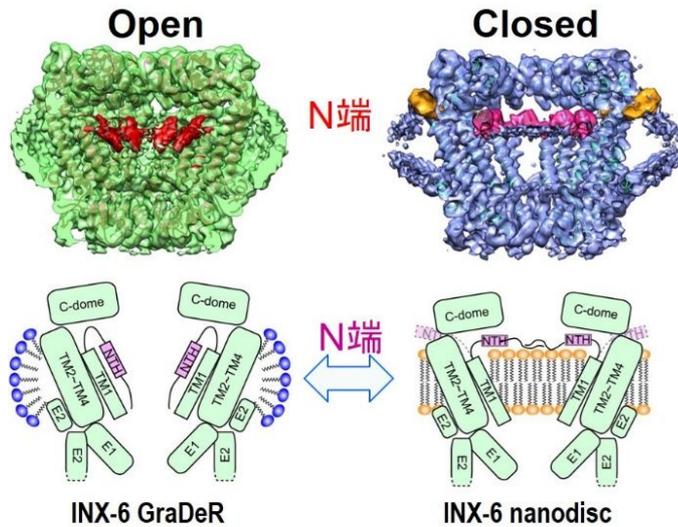


図1 脂質が無い状態と脂質内でのイネキシンの構造。これらの構造から提案するチャンネルのgatingモデルの模式図。

(2) アセチルコリン受容体の研究は、膜タンパク質を脂質膜内で構造解析できるIBSA法のための新しいクライオ電子顕微鏡の開発を行い、アセチルコリン受容体の膜内でのクライオ電子顕微鏡像を撮影した。しかし、ギャップ結合チャンネルでも問題となった、S/Nの問題と分子の重なりの問題に加えて、この受容体は複雑なヘテロ5量体であるために、現状では高分解能の構造解析には成功していない。

(3) 水チャンネル、AQP4の研究は、AQP4とその阻害剤との複合体の構造を5分解能で電子線結晶学を用いて解析して、AQP4の水透過経路を塞ぐ位置に阻害剤アセタゾーラミド(AZA)が結合している構造を明らかにした(Microscopy 65, 177-84 (2016))。なお、このAQP4の2次元結晶は、2枚の膜が重なった結晶で、阻害剤AZAを結合するとその重なりが弱くなって結晶性が悪くなるために、解析できた分解能は不十分であった。それゆえ、さらに高い分解能での解析を目指して2次元結晶の質を向上させると共に、極めて多くのデータ収集を行って、良い分解能の結晶からのデータのみを選び出すことによって、3分解能での解析に成功した。ところが、この分解能の解析でも、阻害剤の結合様式を正確に決定できていないことが明らかになった。それゆえ、改めて昆虫細胞を用いた発現系を改良するところから見直して、極めて多くのデータを収集することによって、分解能を2.8にまで向上させた。その結果、AZAの詳細な結合構造を図2に示すように明らかにすることができた。また、チャンネル内の水分子も観察できるようになった(図2)。電子線を用いた場合にイオン化状態が検出できる可能性はあるが、解析と解釈を慎重に行う必要があるため、2を超えないような高い分解能での解析にまで向上させてから、イオン化の状態が解釈できるかを検討する。

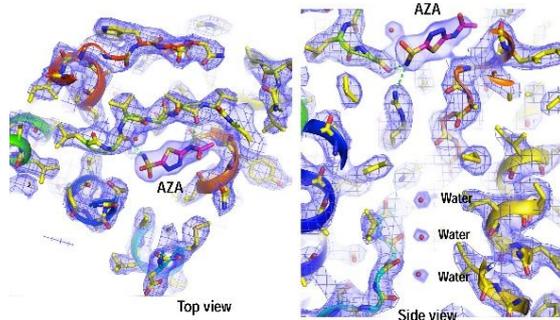


図2 電子線結晶学により2.8分解能で解析したAQP4とAZAとの複合体の構造。AZAの正確な結合構造とチャンネル内の水分子が分離して観察される。

(4) Na⁺チャンネルの研究では、局所麻酔薬が電位感受性Na⁺チャンネルに結合する要素となるアミノ酸残基や結合様式を電気生理学的に研究して、その結果を論文として発表した(FEBS J. 283, 2881-95 (2016))。また、X線結晶学を用いて電位感受性Na⁺チャンネルの構造を解析するとともに、電気生理学的な研究から、Na⁺チャンネルの電位感受性について重要と思われる要素を明らかにした(FEBS Letters 592, 274-83 (2018))。さらに、Ca²⁺チャンネルの構造と機能研究には、バクテリア由来のこのタイプのチャンネルが必要であるが、発見されていなかった。それゆえ、Ca²⁺チャンネルの探索を行い、発見することに初めて成功した(eLife, 9, 52825 (2020))。このバクテリア由来のCa²⁺チャンネルの発見は、チャンネルのイオン選択性などの研究には有用で、今後の研究に活用されることが期待される。

(5) H^+,K^+ -ATPase についての研究は、胃薬である vonoprazan と H^+,K^+ -ATPase との複合体の構造と、SCH28080 と H^+,K^+ -ATPase との複合体の構造解析を X 線結晶学により行った。 H^+,K^+ -ATPase は胃において、100 万倍の H^+ の濃度勾配を実現できる最も大きな勾配を形成できるプロトンポンプである。このポンプを、原子モデルができる分解能で構造解析することに初めて成功した。これらの構造解析で、胃薬として発売され、 H^+,K^+ -ATPase への結合モデルが提案されている vonoprazan の結合様式も初めて明らかにした。その結果、構造解析に基づかないで提案されていた vonoprazan の H^+,K^+ -ATPase への結合位置は全く間違っており、阻害剤が結合していないときには、結合できる空間がない場所に結合していることを明らかにした(図3)。これらの結果は Nature 誌に発表した(Nature, 556, 214-218 (2018))。さらに分解能を向上させることによって、 H^+,K^+ -ATPase のプロトンのポンピング機構の詳細が理解できるようになった(eLife, 8, 47701 (2020))。

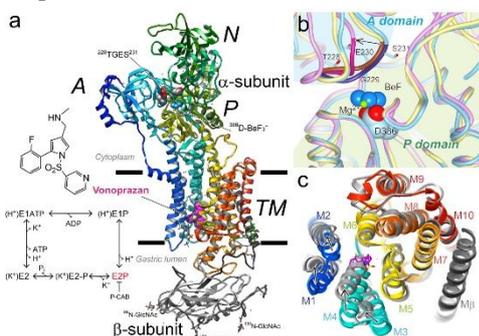


図3 X 線結晶学により解析した vonoprazan と SCH28080 とが結合した H^+,K^+ -ATPase の構造。阻害剤が結合していない時には、c の灰色の構造で示すように M4 ヘルックスが存在しているのでリガンドが結合する空間はない。

(6) クローディングの研究については、本課題を開始する前にタイト結合において中心的な役割を担っているクローディングの初めての構造を X 線結晶学により解析して論文を発表していた(Science 344, 304-7, (2014))が、このクローディング 15 のシステイン変異体を導入してクロスリンクの実験を行うと共に、タイト結合の幅の平均値を測定するなどの解析から、タイト結合が形成するパラセラーチャネルのモデルを提案した(J. Mol. Biol. 427, 291-7 (2015))。SF-7 細胞にクローディング 19 を発現させると形成されるタイト結合を、Clostridium Perfringens Enterotoxin の C 末端 (C-CPE) によって崩壊させることができることを確認し、クローディング 19 と C-CPE との複合体の構造を解析して論文発表した(Science 347, 775-8 (2015))。さらに研究を進めて、クローディング 3 と C-CPE との複合体の構造解析のために構造安定化できる変異体を見出して結晶化に成功した(Acta Crystallographica, F74, 150-155 (2018))。そして、クローディング 3 と C-CPE との複合体の構造解析の結果、プロリン 134 番がそのヘリックス 3 の曲りを決めており、全てのクローディングのこの部分は、プロリンとアラニン、グリシンの 3 種類のアミノ酸残基だけであり、タイト結合ストランドの性状を決定することを明らかにした(図4)(Nature Comms. 10, 816 (2019))。

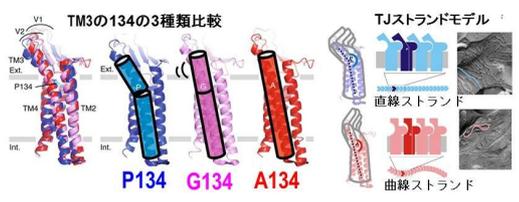


図4 C-CPE との複合体を含む 4 種類のクローディングの構造を重ねて示す(左図)。Helix 3 に存在する 134 番のアミノ酸残基はプロリン、アラニン、グリシンの 3 種類があり、ヘリックスの曲りを決めてい

以上、6種類のチャネルに関係する研究課題を総合的に進めることで、構造生理学と命名している分野での研究成果がおおむね期待通りに得られた。すなわち、チャネルの機能に深く関わる P type ATPase であるプロトンポンピングの機構を理解するために新しい高分解能の構造解析に成功し(課題(5))、プロトンを透過しない水チャネル AQP4 は脳浮腫などに関わるのでその阻害剤開発のための構造情報を取得し(課題(3))、水チャネルが透過させないイオンを制御する電位感受性 Na^+ チャネルの構造解析によって gating 機構の一端を明らかにし(課題(4))、ギャップ結合チャネルの gating 機構のモデルを提案し(課題(1))、タイト結合チャネルの構造解析に成功し、このストランドの性質を決める 1 つの因子を解明した(課題(6))。課題(2)では十分な結果を得られなかったが、エンドセリン受容体関連の構造・機能研究の成果を得て論文を発表した(Nature 537, 363-8 (2016), J. Mol. Biol. 428, 1227-36 (2016), Nature Struct. Molec. Biol. 24, 758-64 (2017))。

当初に提案した研究計画を変更した理由。

クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析が構造生物学を激変させたので、単粒子解析によるイネキシンの構造解析を行うなど、単粒子解析法のウエートを上げた。クライオ電子顕微鏡を IBSA 法のために別予算で開発して膜タンパク質の構造解析を行う予定であったが、装置開発に時間を要したので、ナノディスク法で構造解析する方法に研究計画を変更して、アセチルコリン受容体は複雑すぎて高分解能の解析ができなかったが、ギャップ結合チャネルについては、脂質膜内での構造解析に成功した(Sci. Adv. 6, eaax3157 (2020))。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 23件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 16件）

1. 著者名 Shimomura Takushi, Yonekawa Yoshiki, Nagura Hitoshi, Tateyama Michihiro, Fujiyoshi Yoshinori, Irie Katsumasa	4. 巻 9
2. 論文標題 A native prokaryotic voltage-dependent calcium channel with a novel selectivity filter sequence	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	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) 10.7554/eLife.52828	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 Burendei Batuujin, Shinozaki Ruriko, Watanabe Masakatsu, Terada Tohru, Tani Kazutoshi, Fujiyoshi Yoshinori, Oshima Atsunori	4. 巻 6
2. 論文標題 Cryo-EM structures of undocked innexin-6 hemichannels in phospholipids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	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) 10.1126/sciadv.aax3157	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 Yamamoto Kenta, Dubey Vikas, Irie Katsumasa, Nakanishi Hanayo, Khandelia Himanshu, Fujiyoshi Yoshinori, Abe Kazuhiro	4. 巻 8
2. 論文標題 A single K ⁺ -binding site in the crystal structure of the gastric proton pump	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eLife	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) 10.7554/eLife.47701	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 Nakamura Shun, Irie Katsumasa, Tanaka Hiroo, Nishikawa Kouki, Suzuki Hiroshi, Saitoh Yasunori, Tamura Atsushi, Tsukita Sachiko, Fujiyoshi Yoshinori	4. 巻 10
2. 論文標題 Morphologic determinant of tight junctions revealed by claudin-3 structures	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 Article no: 816
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-08760-7	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 Yamaguchi Hiroki, Kamegawa Akiko, Nakata Kunio, Kashiwagi Tatsuki, Mizukoshi Toshimi, Fujiyoshi Yoshinori, Tani Kazutoshi	4. 巻 205
2. 論文標題 Structural insights into thermostabilization of leucine dehydrogenase from its atomic structure by cryo-electron microscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Structural Biology	6. 最初と最後の頁 11 ~ 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsb.2018.12.001	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 Abe Kazuhiro, Irie Katsumasa, Nakanishi Hanayo, Suzuki Hiroshi, Fujiyoshi Yoshinori	4. 巻 556
2. 論文標題 Crystal structures of the gastric proton pump	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 214 ~ 218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-018-0003-8	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 Nakamura Shun, Fujiyoshi Yoshinori, Irie Katsumasa	4. 巻 74
2. 論文標題 Enhancement of the thermostability of mouse claudin-3 on complex formation with the carboxyl-terminal region of Clostridium perfringens enterotoxin improves crystal quality	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Crystallographica Section F Structural Biology Communications	6. 最初と最後の頁 150 ~ 155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S2053230X18002005	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 Irie Katsumasa, Haga Yukari, Shimomura Takushi, Fujiyoshi Yoshinori	4. 巻 592
2. 論文標題 Optimized expression and purification of NavAb provide the structural insight into the voltage dependence	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 274 ~ 283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.12955	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 Shihoya Wataru, Nishizawa Tomohiro, Yamashita Keitaro, Inoue Asuka, Hirata Kunio, Kadji Francois Marie Ngako, Okuta Akiko, Tani Kazutoshi, Aoki Junken, Fujiyoshi Yoshinori, Doi Tomoko, Nureki Osamu	4. 巻 24
2. 論文標題 X-ray structures of endothelin ETB receptor bound to clinical antagonist bosentan and its analog	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Structural & Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 758 ~ 764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nsmb.3450	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 Abe Kazuhiro, Shimokawa Jun, Naito Mao, Munson Keith, Vagin Olga, Sachs George, Suzuki Hiroshi, Tani Kazutoshi, Fujiyoshi Yoshinori	4. 巻 7
2. 論文標題 The cryo-EM structure of gastric H ⁺ ,K ⁺ -ATPase with bound BYK99, a high-affinity member of K ⁺ -competitive, imidazo[1,2-a]pyridine inhibitors	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-06698-8	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 Suzuki Hiroshi, Tani Kazutoshi, Fujiyoshi Yoshinori	4. 巻 1397
2. 論文標題 Crystal structures of claudins: insights into their intermolecular interactions	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Annals of the New York Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 25 ~ 34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nyas.13371	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 Abe Kazuhiro, Fujiyoshi Yoshinori	4. 巻 39
2. 論文標題 Cryo-electron microscopy for structure analyses of membrane proteins in the lipid bilayer	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Current Opinion in Structural Biology	6. 最初と最後の頁 71 ~ 78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sbi.2016.06.001	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 Oshima Atsunori, Matsuzawa Tomohiro, Murata Kazuyoshi, Tani Kazutoshi, Fujiyoshi Yoshinori	4. 巻 428
2. 論文標題 Hexadecameric structure of an invertebrate gap junction channel	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 1227 ~ 1236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmb.2016.02.011	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 A. Okuta, K. Tani, S. Nishimura, Y. Fujiyoshi and T. Doi	4. 巻 428
2. 論文標題 Thermostabilization of the human endotheline type-B receptor.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 2265-2274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmb.2016.03.024	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 T. Shimomura, K. Irie and Y. Fujiyoshi	4. 巻 283
2. 論文標題 Molecular determinants of prokaryotic voltage-gated sodium channels for recognition of local anesthetics.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 2881-2895
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.13776	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 W. Shihoya, T. Nishizawa, A. Okuta, K. Tani, N. Dohmae, Y. Fujiyoshi, O. Nureki and T. Doi	4. 巻 537
2. 論文標題 Activation mechanism of endothelin ETB receptor by endothelin-1.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 363-368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nature19319	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 A. Oshima, K. Tani and Y. Fujiyoshi	4. 巻 7
2. 論文標題 Atomic structure of the innexin-6 gap junction channel determined by cryo-EM.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 13681
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ncomms13681	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 FUJIYOSHI Yoshinori	4. 巻 91
2. 論文標題 Development of the field of structural physiology	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Proceedings of the Japan Academy, Series B	6. 最初と最後の頁 447 ~ 468
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2183/pjab.91.447	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 K. Minatohara, Y. Murata, Y. Fujiyoshi and T. Doi	4. 巻 134
2. 論文標題 An intracellular domain with a novel sequence regulates cell surface expression and synaptic clustering of leucine-rich repeat transmembrane proteins in hippocampal neurons.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 618-628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.13159	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 F. Hauer, C. Gerle, N. Fischer, A. Oshima K. Shinzawa-Itoh, S. Shimada, K. Yokoyama, Y. Fujiyoshi and H. Stark	4. 巻 23
2. 論文標題 GraDeR: membrane protein complex preparation for single-particle cryo-EM.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 1769-1775
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2015.06.029	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 H. Nagura, T. Doi and Y. Fujiyoshi	4. 巻 43
2. 論文標題 Characterization of physiologic phenotypes of dentate gyrus synapses of PDZ1/2 domain-deficient PSD-95 knockin mice.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 618-625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejn.13155	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 H. tanaka, Y. Yamamoto, H. Kashihara, Y. Ymazaki, K. Tani, Y. Fujiyoshi, K. Mineta, K. Takeuchi, A. Tamura and S. Tsukita	4. 巻 36
2. 論文標題 Claudin-21 has a paracellular channel role at tight junctions.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Biology	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MCB.00758-15	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 A. Kamegawa, Y. Hiroaki, K. Tani, and Y. Fujiyoshi	4. 巻 65
2. 論文標題 Two-dimensional crystal structure of aquaporin-4 bound to the inhibitor acetazolamide.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 177-184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfv368	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44件 (うち招待講演 44件 / うち国際学会 18件)

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 クライオ電顕が医学・薬学分野に役立つ時代に
3. 学会等名 nano tech 2020 特別シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 クライオ電子顕微鏡を用いた構造創薬の現状
3. 学会等名 第13回 In vivo実験医学シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Cryo-EM changes structural biology [Tutorial Lecture]
3. 学会等名 ALC '19 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Structure-guided drug development by cryo-EM [Plenary Lecture]
3. 学会等名 International Symposium on Diffraction Structural Biology 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Drug rescuing based on structure analyses by cryo-EM
3. 学会等名 インベスターR&D Day (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 クライオ電子顕微鏡による構造解析と構造創薬
3. 学会等名 クリニカルサミット研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 構造生物学を激変させたクライオ電顕
3. 学会等名 第二回 形態解析ワークショップ 多様な顕微鏡を用いて（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 生体分子を観ると創薬に役立つ
3. 学会等名 日本顕微鏡学会市民公開講座（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Microscopyシンポジウム「顕微鏡分野における世界の学術出版動向」
3. 学会等名 日本顕微鏡学会 第74回学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 構造生物学を激変させたクライオ電顕
3. 学会等名 岡山大学 特別講演会・学院講義（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 セッション4 クライオ電顕の現状と展望 [ディスカッションリーダー]
3. 学会等名 原子・分子・光科学 (AMO) 討論会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Drug Rescuing by Cryo-EM
3. 学会等名 第18回国際薬理学・臨床薬理学会議（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 構造生理学と創薬
3. 学会等名 第58回生物物理若手の会 夏の学校（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 構造生物学を激変させたクライオ電顕
3. 学会等名 第34回 分析電子顕微鏡討論会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 High resolution structure analyses by cryo-EM
3. 学会等名 Scottish Centre for Macromolecular Imaging Opening Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Structure-guided drug development by Cryo-EM [Keynote]
3. 学会等名 The official Opening of the electron Bio-Imaging Centre (eBIC) at Diamond Light Source (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Structural physiology of membrane proteins
3. 学会等名 Special Seminar at MRC-LMB (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Drug Rescuing based on structure analyses by Cryo-EM
3. 学会等名 2018 International Meeting on 22nd MDO/33rd JSSX (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Drug Rescuing Based on Structure Analyses by Cryo-EM
3. 学会等名 CryoEM Symposium "The Cryo-EM Revolution and Future Breakthroughs" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 クライオ電顕法の発展と創薬応用への可能性
3. 学会等名 平成30年度 後期(秋季)有機合成化学講習会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 クライオ電顕法を用いた構造解析と医薬応用
3. 学会等名 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 講演会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Structure-Guided Drug Development by CryoEM
3. 学会等名 International Symposium on Cryo-EM - past and future challenges (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 構造生物学を激変させたクライオ電子顕微鏡法
3. 学会等名 CSJ化学フェスタ2017 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 構造生物学を激変させたCryoEM
3. 学会等名 微細構造解析プラットフォームシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Structures of membrane proteins analyzed by cryo-EM
3. 学会等名 新学術領域研究「脂質クオリティが解き明かす生命現象」公開国際シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Structures of Physiology of membrane proteins
3. 学会等名 International Cryo-EM symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 For effective structure analyses of membrane proteins
3. 学会等名 Symposium to celebrate Gunnar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 創薬に役立つCryoEM
3. 学会等名 第30回バイオメディカル分析化学シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Structural studies of membrane proteins by cryo-EM
3. 学会等名 第17回日本タンパク質科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 膜タンパク質の構造生理学
3. 学会等名 日本膜学会第39年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshinori Fujiyoshi
2. 発表標題 Issues to Be Considered for Image Based Structure Analysis
3. 学会等名 Gordon Research Conferences -Three Dimensional Electron Microscopy- (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Fujiyoshi
2. 発表標題 Dramatic Changes on Cryo-Electron Microscopy
3. 学会等名 The XXVIIth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems (ICMRBS2016) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Fujiyoshi
2. 発表標題 Structural physiology of channels
3. 学会等名 内藤コンファレンス -In the Vanguard of Structural Biology: Revolutionizing Life Sciences- (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Fujiyoshi
2. 発表標題 Development of the structural biology field
3. 学会等名 THE 13TH NIKKO INTERNATIONAL SYMPOSIUM 2016 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 構造に指南された創薬戦略の現状と展望
3. 学会等名 第34回メディシナルケミストリーシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 構造生物学の激変
3. 学会等名 生理学研究所 平成28年度末シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 構造に指南された創薬基盤技術開発
3. 学会等名 創薬薬理フォーラム第58回談話会 (招待講演)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 疾患関連タンパク質の構造解析法の新展開
3. 学会等名 脳科学関連学会連合勉強会 (招待講演)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 タンパク質と脂質分子の協調
3. 学会等名 第53回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Structure-Guided Drug Development Based on Cryo-Electron Microscopy
3. 学会等名 The 2nd East-Asia Microscopy Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 素朴な疑問と続ける努力
3. 学会等名 Biochemistry and Molecular Biology 2015 (招待講演)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 Structural physiology of cell adhesive channels
3. 学会等名 第31回国際生物学賞記念シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 薬理学につながる構造生理学研究
3. 学会等名 第89回日本薬理学会年会(招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 藤吉好則
2. 発表標題 構造に指南された創薬基盤技術開発
3. 学会等名 日本薬学会第136年会(招待講演)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 3次元像構築方法、画像処理装置、および電子顕微鏡(再公表特許)	発明者 藤吉 好則、石川 勇、細木 直樹	権利者 国立大学法人名 古屋大学、日本 電子株式会社
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2015/073604	取得年 2017年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

東京医科歯科大学高等研究院卓越研究部門細胞構造生理学研究室
<http://www.tmd.ac.jp/cesp/index.html>

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	大嶋 篤典 (OSHIMA Atsunori) (80456847)	名古屋大学・細胞生理学研究センター・教授 (13901)	
研究分担者	谷 一寿 (TANI Kazutoshi) (20541204)	三重大学・医学系研究科・特任教授 (14101)	
研究分担者	阿部 一啓 (ABE Kazuhiro) (60596188)	名古屋大学・細胞生理学研究センター・准教授 (13901)	
研究分担者	入江 克雅 (IRIE Katsumasa) (20415087)	名古屋大学・細胞生理学研究センター・助教 (13901)	
研究協力者	廣明 洋子 (HIROAKI Yoko)		

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	谷村 幸宏 (TANIMURA Yukihiro)		
研究協力者	亀川 亜希子 (KAMEGAWA Akiko)		