

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03987

研究課題名(和文)細胞熱産生におけるジュール熱仮説の検証

研究課題名(英文)Verification of Joule heat hypothesis in cell heat production

研究代表者

永井 健治 (Nagai, Takeharu)

大阪大学・産業科学研究所・教授

研究者番号：20311350

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,600,000円

研究成果の概要(和文)：恒温動物は熱の放出と産生を制御することで体温を維持している。恒温動物では、骨格筋のふるえ熱産生、そして非ふるえ熱産生として代謝熱や褐色脂肪細胞およびベージュ脂肪細胞における発熱が主な熱産生である。ふるえ熱産生や代謝熱は理解が進んでいるが、代謝熱以外の非ふるえ熱産生の詳細についてはあまり研究が進んでいない。本研究では、非ふるえ熱産生の主要なメカニズムとして、膜電位で駆動されたイオン電流がイオンチャネルやUncoupling Protein 1の中を流れることで発生するジュール熱が非ふるえ熱産生に寄与することを提唱し、細胞内温度イメージングと温度分布シミュレーションからその重要性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

恒温動物である哺乳類では、体内における熱産生によって体温の恒常性が維持されており、脳や内臓、褐色脂肪組織、そして筋肉が主な熱源と考えられる。体内における熱産生のうち、筋肉で起こる「ふるえ熱産生」のメカニズムについては研究が比較的進んでいるが、筋肉以外で起こる「非ふるえ熱産生」は解明があまり進んでいない。本研究は、「非ふるえ熱産生」に、従来見過ごされてきた熱産生メカニズムが存在する可能性を指摘したものである。今後、本成果を発展させることで、細胞内で起こる未知の熱産生プロセスの解明や、細胞内熱産生が関わる疾病メカニズムの詳細解明に資することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Homeothermic animals maintain their body temperatures by the balance of the production and release of heat. Heat production in the animals is thought to involve shivering heat production in skeletal muscle and non-shivering heat production including heat production in brown adipose and beige adipose tissues and metabolic heat. Whereas the shivering heat production and metabolic heat are well understood, the detail of the non-metabolic non-shivering heat production remains still elusive. The present study has explored a previously-overlooked mechanism of the non-shivering heat production in which membrane potential drives ion flow through ion transporters such as ion channels and uncoupling protein 1, and the ion flow, one type of electric current, leads to Joule heat production, denoted as the Joule heat theory. This study conducted temperature imaging in cells and simulation of temperature distribution around channels to reveal the biological significance of this theory.

研究分野：生物物理学

キーワード：細胞熱化学 ジュール熱 温度プローブ 熱消光 熱感受性弾性ポリペプチド

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

恒温動物は熱の放出と産生を制御することで体温を維持するが、詳細なメカニズムは分かっていない。主な熱産生は、骨格筋におけるふるえ熱産生と、代謝熱や褐色脂肪細胞およびベージュ脂肪細胞における熱産生などの非ふるえ熱産生と考えられており、これらの熱は血液を介して全身へ伝わると考えられる。ところが、筋肉の収縮における熱産生においては、理論的な熱産生量を超えた説明のできない熱産生が存在することが報告されている (Curtin et al. J. Physiol., 1979, Yamada et al. J. Physiol. Sci., 2017)。また、チャネルタンパク質のゲーティングによって起こるチャネル電流によって、チャネル近傍で数十°Cもの温度上昇が生じることが流体力学シミュレーションによって示されているが (Chang et al, Biophys. J., 1995)、このチャネル活性化に伴う熱産生の実証は先行研究が皆無であり、その存在は未だ確認されていない。

非ふるえ熱産生の大部分は細胞内の様々な化学反応の反応熱に起因すると、従来は考えられてきた。ところが、化学反応熱とは全く異なる熱発生メカニズムとして、特に褐色脂肪細胞やベージュ脂肪細胞のミトコンドリア内膜に発現するプロトントランスポータータンパク質である Uncoupling Protein 1 (UCP1) が、内膜を介したプロトン濃度勾配を解消する脱共役を起こして熱を生み出しているという可能性が示唆されている。しかしながら、この脱共役においてどのように熱が発生するのかという詳細は、ナノメートルスケールの熱・温度現象を解析する技術が未発達であるため進んでいない。

近年の温度イメージング技術の発展により、細胞内の温度分布や温度変化を光学顕微鏡の空間分解能で測定することが可能になってきた。これにより、細胞内で数°Cの幅の不均一な温度分布が存在するという報告や、刺激を受けた細胞がその周囲よりも高い温度を長時間維持するといった報告がなされている (Okabe et al, Nat. Commun., 2012; Kiyonaka et al, Nat. Methods, 2013; Kriszt et al, Sci. Rep., 2017)。しかし、これらの細胞内温度についての実験結果は、従来の生体エネルギー論や伝熱工学では説明できておらず、その真偽について激しい論争が続いている (Baffou et al, Nat. Methods, 2014 など)。このように、生物における熱産生をより良く理解するためには、個々の細胞内における熱の産生と制御、そして細胞内熱輸送を測定する技術と、これらを記述するための新たな理論的枠組みが必要になっている。

### 2. 研究の目的

本研究は、未だに解明されていない細胞内における熱産生のメカニズムを、「ジュール熱」であると予想する作業仮説をたて、それを証明するために、熱産生に関わる UCP などのトランスポーターやチャネルタンパク質に着目し、その活性とナノスコピックな熱産生を解き明かすことを目的とする。「ジュール熱」とは、電気抵抗  $R$  をもつ物体に電流  $I$  を  $t$  秒間流したときに発生する熱であり、その熱量  $Q$  (J) は  $Q = R I^2 t$  と表される。例えば、UCP1 が埋め込まれているミトコンドリア内膜が抵抗体、プロトン輸送体である UCP1 によって輸送されるプロトンにより電流  $I$  が生じるので、UCP1 が活性化している時間と膜を介した電気化学ポテンシャルに発熱量は比例すると予想される。ところが、 $Ca^{2+}$ 波や  $Na^+$ 流入による活動電位発生など、イオン流が関与する情報伝達現象にはこれまで発熱効果が一切考慮されてこなかった。化学反応がすべからず温度依存性を有することより、イオン流による情報伝達は発熱によって生体分子反応へ影響を及ぼしている可能性が十分に期待できる。本研究では、このような「情報熱化学」的視点で細胞内の生理機能を追求する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 蛍光性温度プローブの開発

我々が以前開発したレシオメトリ型蛍光性温度プローブ gTEMP (Nakano et al. PLoS ONE, 2017) は、紫外光の波長で励起する必要があった。このため、生体試料への細胞機能に対する光毒性や試料の自家蛍光の影響が大きかった。これらの問題を解決するために、より長波長の光で励起できる温度プローブタンパク質を新たに開発した。このために、紫外域よりも長い波長である可視域の励起波長を有する蛍光タンパク質の蛍光強度の温度依存性を調べた。この調査を通して選定した蛍光タンパク質を組み合わせることによって、gTEMP よりも長波長の励起光で励起できる温度プローブを開発した。

#### (2) 蛍光性温度プローブを用いた細胞内の温度イメージング

項目 (1) で開発した蛍光性温度プローブを用いて細胞内温度のイメージングを行った。このために、蛍光性温度プローブから測定される蛍光シグナルから温度の観測値を読み出すためのメソッド開発を行った。ここでは、ただ単に蛍光シグナルと温度を関係づけるだけでなく、蛍光性温度プローブの蛍光シグナルに作用する外乱因子の影響も測定し、その影響の補正を行う方法論も含まれる。このような点に着目することより、高い確度で温度を決定する方法を確立した。さらに、以上を踏まえて、蛍光性温度プローブを細胞内で発現させて蛍光顕微鏡観察を行うこと

で、細胞内の温度分布や熱輸送パラメータの測定を行った。

### (3) チャネル周囲の温度の理論的予測

チャネルやUCP1において起こるイオン電流に起因したジュール熱発生による、その周囲の温度分布の予測を行った。このために、チャネルのイオン電流で発生する熱のその周囲への拡散をFourierタイプの古典的な拡散現象としてモデル化した。典型的な膜電位値とイオン電流値を用いて、このモデルにおいてシミュレーションを行い、周囲の温度分布を予測した。

## 4. 研究成果

### (1) 高感度な蛍光性温度プローブの開発

高感度な蛍光タンパク質温度プローブとして、温度変化に対して非常に敏感に反応して構造変化を起こすエラスチン様ポリペプチド (Elastin-like polypeptide; ELP) と、フェルスター共鳴エネルギー移動 (FRET) のペアとして使用可能な蛍光タンパク質 mTurquoise2 および mVenus をビルディングブロックとする蛍光性温度プローブを開発した (Vu et al,

Sci. Rep., 2021)。これは、ELPの一端に mTurquoise2、他端に mVenus を接続した分子デザインを有するプローブである (図1)。ELPは、下限臨界溶液温度 (LCST) と呼ばれる現象により、温度変化に伴って急峻に大きな構造変化を起こすと同時に ELP 分子同士が会合する。このような ELP のコンフォメーション変化と分子間会合により、mTurquoise2 と mVenus 間の平均距離が著しく減少し、FRET 効率が增加することで、mVenus/mTurquoise2 の蛍光強度比が増加した (図2)。哺乳類細胞の温度測定のために、このようなデザインの蛍光タンパク質温度センサーの作成を試行錯誤することで ELP 部分の最適化を行い、30~40°Cにおける高感度温度測定に適した温度プローブである ELP-TEMP の開発に成功した (図2)。蛍光タンパク質温度センサーは、その遺伝子を細胞内に導入して発現させることで特定のタンパク質複合体や細胞小器官の標識が可能のため、細胞内の温度変化や温度分布の計測に非常に有用である。しかし、従来の蛍光タンパク質温度センサーは、温度変化に伴う蛍光シグナル変化 (温度感度) が約 3%/°C 程度であり、温度感受性が低かった。一方、ELP-TEMP は、33~40°Cの温度範囲で最大 45%/°Cという非常に高い温度感度を示す。この ELP-TEMP の温度感度は、従来の蛍光色素、希土類錯体、量子ドット、そして蛍光色素とポリマーの複合体などを用いたナノメーター程度の温度センサーと比較しても、極めて高いものである。

### (2) 高速応答性蛍光温度プローブの開発

励起波長が近紫外域である gTEMP による温度イメージングで問題になる細胞に対する光毒性を解決するプローブとして、ELP-TEMPに加えて、別の蛍光性プローブの開発を行った。ここでは、緑色蛍光タンパク質と橙色蛍光タンパク質を組み合わせた青色励起温度プローブとして、B-gTEMPを開発した。B-gTEMPは、青色光で励起し、橙色蛍光タンパク質の蛍光に対する緑色蛍光タンパク質の蛍光の比から温度計測をする、Ratiometricタイプの温度プローブである。B-gTEMPの特性評価を進めたところ、温度変化に対してミリ秒以下の非常に速い温度応答を示すことが明らかになった。したがって、B-gTEMPは、細胞内での速い熱発生プロセスを検出し可視化するのに有用である。

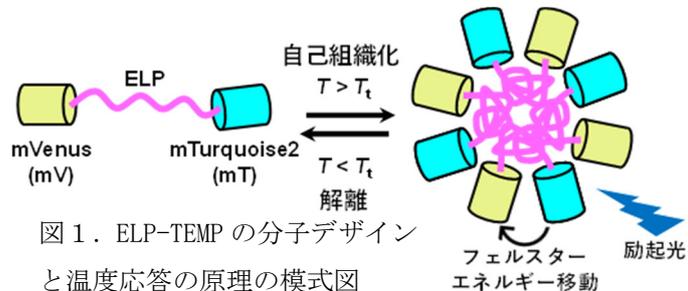


図1. ELP-TEMPの分子デザインと温度応答の原理の模式図

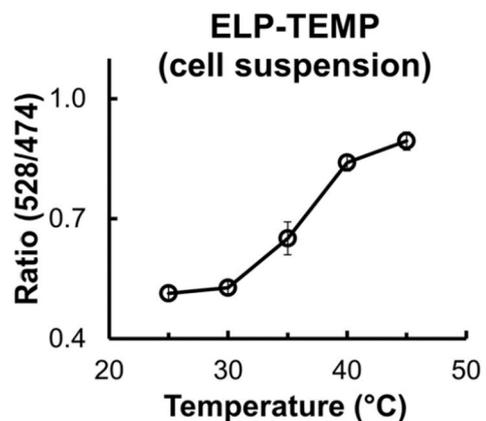


図2. HeLa細胞内で発現した ELP-TEMP の蛍光の温度応答

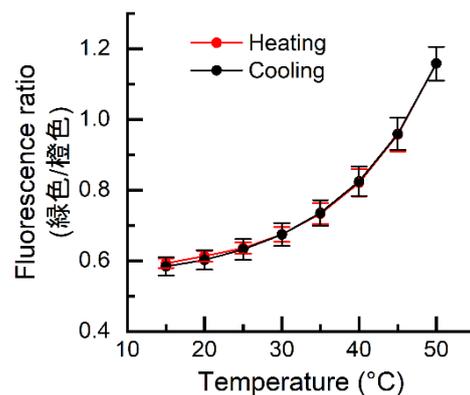


図3. B-gTEMPの蛍光の温度応答

### (3) 細胞内温度イメージング

本研究で開発した温度プローブ ELP-TEMP において、蛍光強度から温度を読み出す方法論を開発した。ELP-TEMP の蛍光の温度応答は、それが局在する細胞内小器官についての依存性を示す。これは、細胞小器官内の微環境 (Macromolecular crowding 等) や、細胞小器官内の ELP-TEMP の自己濃度によるものだと考えられる。そこで、細胞内の温度を ELP-TEMP で高い確度で測定するために、HeLa 細胞の ELP-TEMP 安定発現株を樹立してこれを観察試料として用いることにした。さらに、ELP-TEMP の蛍光比・温度校正曲線を、細胞小器官ごとに取りすることにした。特に、本研究では、核と細胞質について校正曲線を計測した (図 4)。これらの校正曲線を用いて、ELP-TEMP 安定発現株の蛍光顕微鏡像から、核と細胞質の温度を別々に算出した (図 5)。この結果によれば、刺激を与えていない細胞に関しては、核と細胞質に温度差はほとんどないことが分かった。蛍光性温度プローブを用いて細胞内の核と細胞質の温度イメージングを行った先行研究には優位な温度差があると報告した論文も散見されたが、それらは核と細胞質内の微環境の違いが蛍光性温度プローブの温度応答性に影響を与えていたアーティファクトである可能性もあることを本研究で示唆した。

細胞内の温度分布予測を行うためには、細胞内の熱伝導度のデータが必要である。そこで、B-gTEMP の高速応答性を利用し、HeLa 細胞内の熱伝導度測定を行った。カーボンナノチューブ (CNT) は良好な光吸収体であり、吸収した光は熱に変換される。したがって、CNT にフォーカスした赤色光を照射することで、サブミクロンサイズの熱源と

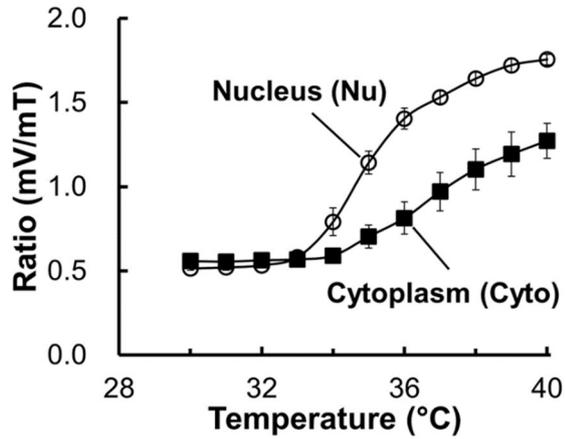


図 4. 核内および細胞質内の ELP-TEMP の蛍光の温度応答

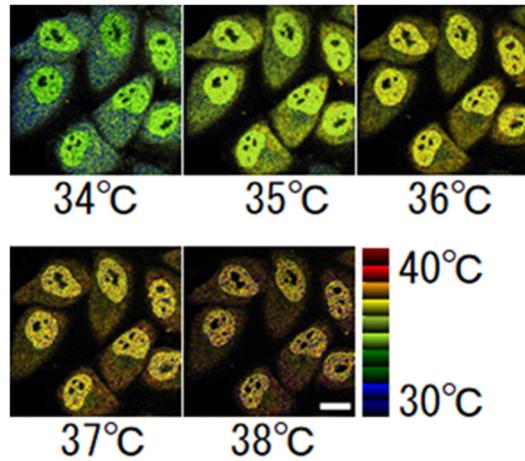


図 5. ELP-TEMP による核内および細胞質内の温度イメージング。ここでは、核と細胞質の温度算出を図 4 を用いて別々に行った。

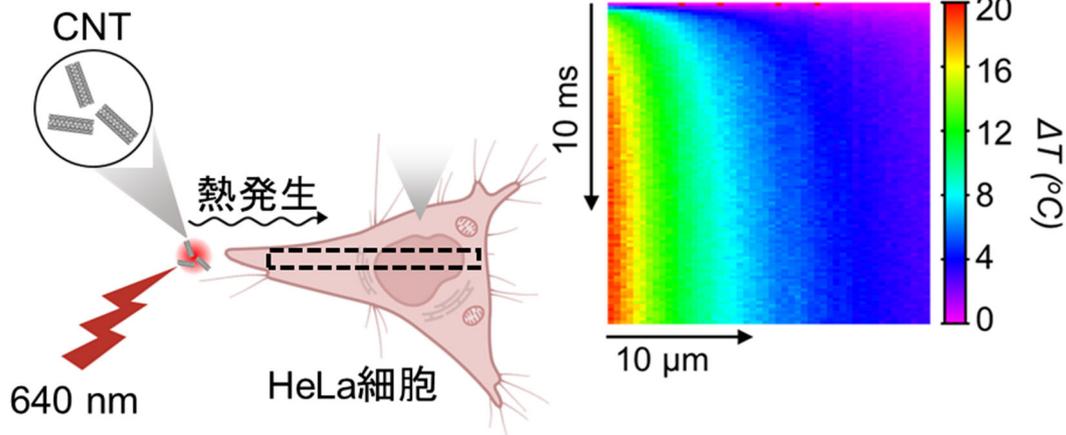


図 6. B-gTEMP 発現細胞中の熱拡散過程。赤色レーザー光を CNT に照射中の HeLa 細胞内 (左) における実測した温度変化のキモグラフを (右) に示した。

することができる。そこで、細胞に隣接した CNT に対して照射する赤色光にデジタル変調を掛けることにより、細胞内における過渡熱拡散過程の観察を行った (図 6)。ここで得られた細胞内の熱拡散過程を解析した結果、細胞内の熱伝導度は、 $0.1 \text{ W/m K}$  程度と見積もられた。この値は、純水中の熱伝導度 ( $0.6 \text{ W/m K}$ ) よりも顕著に小さい値であり、細胞内熱輸送が水中よりもかなり遅いことを予想するものである。

#### (4) チャネルタンパク質周囲の温度の理論的予測

生体膜上のチャネルタンパク質におけるイオン電流と膜電位によって発生するジュール熱による、チャネルタンパク質とその周囲の温度変化のシミュレーションを、古典的な Fourier タイプの熱拡散モデルを用いて行った。典型的な例として、膜電位は  $-0.1\text{ V}$ 、イオン電流は  $10\text{ pA}$  とすることで、1 個のチャネルタンパク質あたり  $1\text{ pW}$  の発熱を仮定した。また、細胞質中の熱伝導度は、B-gTEMP の細胞内温度イメージングで得られた結果である  $0.1\text{ W/m K}$  の値を用いた。細胞膜上の孤立した 1 個のチャネルタンパク質について計算を行ったところ (図 7, 8)、チャネルタンパク質近傍のピーク温度で  $6\text{ m}^\circ\text{C}$  の温度上昇が予想されるという結果が得られた。このように温度上昇が小さかったのは、イオン電流で発生したジュール熱がたちどころに周囲に拡散し散逸するためであると考えられた。ところが、チャネルタンパク質が 1 個でなく、 $10^6$  個オーダーのチャネルタンパク質分子が活性化し、細胞内でそれらの熱が重畳することで、細胞内の温度上昇が  $1^\circ\text{C}$  程度となるという計算結果も得た。このように、チャネルタンパク質のアンサンブルにおいては、イオン電流によるジュール熱発生に伴って有意な温度上昇があり得るという予測結果が得られた。

#### (5) 今後の展望

生体内で起こる代謝、酵素反応、運動、情報伝達等の多くのプロセスは、温度に影響される。恒温動物である哺乳類では、体内における熱産生によって体温の恒常性が維持されており、脳や内臓、褐色脂肪組織、そして筋肉が主な熱源と考えられる。体内における熱産生のうち、筋肉で起こる「ふるえ熱産生」のメカニズムについては研究が比較的進んでいるが、筋肉以外で起こる「非ふるえ熱産生」の仕組みは解明があまり進んでいない。本研究で開発した蛍光性温度プローブは、「非ふるえ熱産生」の研究に非常に有用な研究ツールである。今後、ELP-TEMP、B-gTEMP 等の蛍光性温度プローブによる細胞内温度イメージングによる更なる検討、そして様々な細胞の状況における熱拡散シミュレーションを精密に行うことにより、本研究で提唱した「ジュール熱仮説」の細胞生物学的重要性についての理解が進むものと期待される。

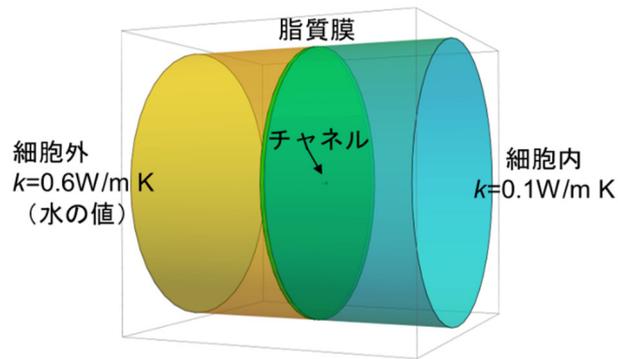


図 7. 細胞膜上に孤立して存在するチャネルタンパク質を含むモデル系の模式図。

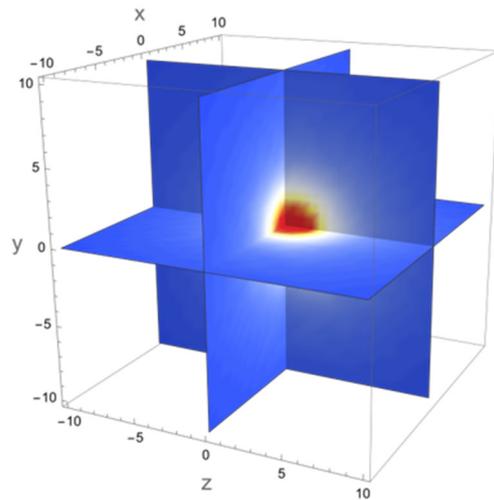


図 8. 孤立したチャネル分子 1 個の周囲の温度分布の計算結果。座標の単位は nm。チャネルは原点に置いた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 鈴木和志, 稲垣成矩, 松田知己, 永井健治	4. 巻 70
2. 論文標題 細胞・個体イメージング用光学プローブの開発	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 化学工業	6. 最初と最後の頁 516-520
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 -
1. 著者名 和沢鉄一, 鷲尾隆, 永井健治	4. 巻 30
2. 論文標題 回転偏光照明蛍光顕微鏡と光スイッチング蛍光タンパク質を用いた超解像イメージング法: SPoD-OnSPAN	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 光アライアンス	6. 最初と最後の頁 15-19
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 -
1. 著者名 Shinoda Hajime, Lu Kai, Nakashima Ryosuke, Wazawa Tetsuichi, Noguchi Kosuke, Matsuda Tomoki, Nagai Takeharu	4. 巻 26
2. 論文標題 Acid-Tolerant Reversibly Switchable Green Fluorescent Protein for Super-resolution Imaging under Acidic Conditions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1469 ~ 1479.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chembiol.2019.07.012	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 Lu Kai, Vu Cong Quang, Matsuda Tomoki, Nagai Takeharu	4. 巻 20
2. 論文標題 Fluorescent Protein-Based Indicators for Functional Super-Resolution Imaging of Biomolecular Activities in Living Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5784 ~ 5784
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20225784	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 松田知己, 永井健治	4. 巻 49
2. 論文標題 高輝度発光タンパク質による高感度バイオイメージング	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 光学	6. 最初と最後の頁 26-30
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 -

1. 著者名 松田知己, 永井健治	4. 巻 50
2. 論文標題 光増感蛍光タンパク質を用いた多色機能破壊	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 47-50
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 -

1. 著者名 Riani Yemima Dani, Matsuda Tomoki, Takemoto Kiwamu, Nagai Takeharu	4. 巻 16
2. 論文標題 Green monomeric photosensitizing fluorescent protein for photo-inducible protein inactivation and cell ablation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12915-018-0514-7	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 Arai Yoshiyuki, Takauchi Hiroki, Ogami Yuhei, Fujiwara Satsuki, Nakano Masahiro, Matsuda Tomoki, Nagai Takeharu	4. 巻 13
2. 論文標題 Spontaneously Blinking Fluorescent Protein for Simple Single Laser Super-Resolution Live Cell Imaging	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1938-1943
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.8b00200	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 Yoshiyuki Arai, Hiroki Takauchi, Yuhei Ogami, Satsuki Fujiwara, Masahiro Nakano, Tomoki Matsuda, Takeharu Nagai	4. 巻 67
2. 論文標題 Highly biocompatible super-resolution fluorescence imaging using the fast photoswitching fluorescent protein Kohinoor and SPoD-ExPAN with Lp-regularized image reconstruction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 89-98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfy004	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41件(うち招待講演 14件/うち国際学会 16件)

1. 発表者名 Hajime Shinoda, Ryosuke Nakashima, Tetsuichi Wazawa, Kosuke Noguchi, Tomoki Matsuda, and Takeharu Nagai
2. 発表標題 Acid-resistant Reversibly Switchable Green Fluorescent Protein for Super-resolution Imaging in Acidic Environments
3. 学会等名 Focus on Microscopy (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 マルチモーダルトランススケールイメージングの展望
3. 学会等名 光ネットワークシステム技術第171委員会第67回研究会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 光るタンパク質の可能性
3. 学会等名 関西経済連合会評議員会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yenima Dani Riani, 松田 知己, 竹本 研, 永井 健治
2. 発表標題 光刺激によりタンパク質機能阻害・細胞死を誘導する単量体光増感緑色蛍光タンパク質の開発
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和沢鉄一, 杉浦一徳, 鷺尾隆, 永井健治
2. 発表標題 回転偏光照明、ポジティブ光スイッチング蛍光タンパク質、そしてLp正則化画像再構成を用いた超解像イメージング：SPoD-OnSPAN
3. 学会等名 第44回レーザー顕微鏡研究会&シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 光るタンパク質の研究と未来応用
3. 学会等名 2019年度第12回高校生事業 ライフサイエンスセミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeharu Nagai
2. 発表標題 Development of fluorescent/ bioluminescent probes toward singularity biology
3. 学会等名 TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 細胞内酸性環境の理解に向けた、耐酸性GFPの開発と応用へ
3. 学会等名 第44回組織細胞化学講習会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeharu Nagai
2. 発表標題 TRANS-SCALE IMAGING TOWARD SINGULARITY BIOLOGY
3. 学会等名 AIBBC Conference (4th Africa International Biotechnology and Biomedical Conference) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 光るタンパク質の研究と未来応用
3. 学会等名 第321回千里ライフサイエンスフォーラム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 トランスケールイメージングが拓く新たな地平
3. 学会等名 第60回日本組織細胞化学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeharu Nagai
2. 発表標題 Trans-Scale Imaging for Singularity Biology
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Bioimaging & The 28th Annual Meeting of the Bioimaging Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Cong Vu, Tetsuichi Wazawa, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Molecular Thermometer Based on Elastin-Like Polypeptide
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tetsuichi Wazawa, Shusaku Uto, Kazunori Sugiura, Shunsuke Maeda, Katsumasa Fujita, Takashi Washio, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Development of a highly-bright positively reversibly photoswitchable fluorescent protein Kohinoor 2.0 for super-resolution microscopy
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoki Matsuda, Yemima Dani Riani, Kiwamu Takemoto, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Monomeric green fluorescent protein based photosensitizer for photo-inducible protein inactivation and cell death
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hajime Shinoda, Kai Lu, Ryosuke Nakashima, Tetsuichi Wazawa, Kosuke Noguchi, Tomoki Matsuda, Takaharu Nagai
2. 発表標題 Acid-tolerant Reversibly Switchable Green Fluorescent Protein for Super-resolution Imaging in Acidic Conditions
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kai Lu, Tomoki Matsuda, Tetsuichi Wazawa, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Fluorescent Ca <sup>2+</sup> indicators for multiplexed super-resolution imaging at nanoscopic cellular domain
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 トランススケールイメージングが拓く生命科学の新たな潮流
3. 学会等名 理化学研究所 - 広島大学 合同シンポジウム 「イメージングから理論」 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 化学発光タンパク質を利用した解析、診断、証明、アート技術 (CREST)
3. 学会等名 JST戦略的創造研究推進事業 新技術説明会 ~光科学~
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和沢鉄一, 宇土周作, 杉浦一徳, 鷺尾隆, 永井健治
2. 発表標題 超解像イメージングのための : 高輝度なポジティブ型光スイッチング蛍光タンパク質 Kohinoor 2.0 の開発
3. 学会等名 大阪大学産業科学研究所 第75回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeharu Nagai
2. 発表標題 Trans-scale imaging toward singularity biology
3. 学会等名 18th IPR Retreat (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoki Matsuda, Yemima Dani Riani, Kiwamu Takemoto, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Photosensitizing green fluorescent protein for photo-inducible protein inactivation and cell death Presenter
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井健治
2. 発表標題 ハナガサクラゲ由来色素タンパク質の試験管内進化と光音響イメージングへの応用
3. 学会等名 第13回先端的バイオ計測研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井健治
2. 発表標題 蛍光蛋白質を使ったセンシング関連
3. 学会等名 一般社団法人近畿化学協会機能性色素部会第100回記念例会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永井健治
2. 発表標題 光るタンパク質が拓く未来社会
3. 学会等名 北海道大学 公共政策大学院 第6回文理融合セミナー（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hajime Shinoda, Yuanqing Ma, Ryosuke Nakashima, Keisuke Sakurai, Tomoki Matsuda, Takeharu Nagai.
2. 発表標題 Acid-tolerant monomeric GFP derived from <i>Olindias formosa</i>
3. 学会等名 20th International Symposium on Bioluminescence & Chemiluminescence (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 蛍光・化学発光ライブイメージングの現状と展望
3. 学会等名 組織細胞化学講習会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 高輝度化学発光バイオ光源の開発とその応用利用
3. 学会等名 第20回日本光生物協会年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永井 健治
2. 発表標題 蛍光・化学発光ライブイメージングの現状と展望
3. 学会等名 第3回JKiCイメージングセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Lu Kai.
2. 発表標題 Genetically-encoded indicators towards nanoscopic calcium imaging
3. 学会等名 First UK/Japan Super-resolution Bioimaging Meeting（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Wazawa T.
2. 発表標題 Super-resolution of 'Physiological Functions' and Diagnostics of Activity Architecture in Live Cells
3. 学会等名 First UK/Japan Super-resolution Bioimaging Meeting（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nagai T.(Organiser)
2. 発表標題 Evolution of fluorescent proteins toward easy and bio-compatible super-resolution imaging
3. 学会等名 First UK/Japan Super-resolution Bioimaging Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tetsuichi Wazawa, Yoshiyuki Arai, Yoshinobu Kawahara, Takashi Washio, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Highly-biocompatible superresolution imaging by SPoD-ExPAN with Lp-regularized image reconstruction
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kai Lu, Tomoki Matsuda, Tetsuichi Wazawa, Satsuki Fujiwara, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Genetically encoded photoswitchable indicators towards super-resolution calcium imaging
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kai Lu, Tetsuichi Wazawa, Tomoki Matsuda, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Photoswitchable indicators towards nanoscopic calcium imaging
3. 学会等名 生理学研究所研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hajime Shinoda, Yuanqing Ma, Ryosuke Nakashima, Keisuke Sakurai, Tomoki Matsuda, Takeharu Nagai.
2. 発表標題 Acid resistant monomeric GFP from <i>Olinidias formosa</i>
3. 学会等名 13h KAIST-OSAKA U Symposium 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shusaku Uto, Tetsuich Wazawa, Takeharu Nagai
2. 発表標題 Development of a reversibly photoswitchable fluorescent protein with fast chromophore maturation and enhanced brightness for cell imaging
3. 学会等名 The 22nd SANKEN International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Lu Kai
2. 発表標題 Genetically-encoded indicator towards nanoscopic calcium imaging
3. 学会等名 Early Career Seminar, MRC-LMCB at UCL (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeharu Nagai
2. 発表標題 Fluorescent protein vs chemiluminescent protein
3. 学会等名 バイオ情報計測技術研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tetsuichi Wazawa
2. 発表標題 Tetsuichi Wazawa
3. 学会等名 バイオ情報計測技術研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Vu Quang Cong
2. 発表標題 Genetically encoded elastin-like polypeptide (ELP) as a FRET thermal sensor
3. 学会等名 バイオ情報計測技術研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 和沢鉄一、永井健治	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 2
3. 書名 高生体適合性SPoD-ExPANイメージング, 「生きてるものは全部観る！イメージングの選び方・使い方100」, pp.115-116 (分担執筆)	

1. 著者名 篠田肇、永井健治	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 3
3. 書名 蛍光タンパク質_i.総論, 「生きてるものは全部観る！イメージングの選び方・使い方100」, pp.150-152 (分担執筆)	

1. 著者名 松田知己、永井健治	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 3
3. 書名 蛍光タンパク質_i.カルシウム指示薬,「生きてるものは全部観る!イメージングの選び方・使い方100」,pp.153-155(分担執筆)	

1. 著者名 松田知己、永井健治	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 3
3. 書名 蛍光タンパク質_ .マグネシウム指示薬,「生きてるものは全部観る!イメージングの選び方・使い方100」,pp.160-161(分担執筆)	

1. 著者名 稲垣成矩、揚妻正和、永井健治	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 3
3. 書名 蛍光タンパク質_ .脳活動計測のための膜電位プローブ,「生きてるものは全部観る!イメージングの選び方・使い方100」,pp.162-164(分担執筆)	

1. 著者名 鈴木和志、永井健治	4. 発行年 2018年
2. 出版社 発光タンパク質	5. 総ページ数 3
3. 書名 「生きてるものは全部観る!イメージングの選び方・使い方100」,pp.174-175(分担執筆)	

〔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	和沢 鉄一  (Wazawa Tetsuichi)	大阪大学・産業科学研究所・特任准教授  (14401)	
研究協力者	Vu Cong Quang  (Vu Cong Quang)	大阪大学・工学研究科・博士後期課程学生  (14401)	
研究協力者	L u K a i  (Lu Kai)	大阪大学・産業科学研究所・特任研究員(常勤)  (14401)	
研究協力者	福島 俊一  (Fukushima Shunichi)	大阪大学・産業科学研究所・特任研究員(常勤)  (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