

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K19428

研究課題名（和文）ツメガエル卵母細胞を利用した新規の膜電位依存性酵素の同定

研究課題名（英文）Molecular mechanisms of endogenous voltage-sensitive enzyme in *Xenopus* oocytes

研究代表者

岡村 康司 (Okamura, Yasushi)

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） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：アフリカツメガエル卵母細胞に内在する新規膜電位感受性イノシトールリン脂質代謝酵素のシグナル機構について、電気生理学的手法と蛍光タンパク質のイノシトールリン脂質センサーの蛍光測定法を組み合わせ、アカハライモリ卵母細胞と対照して解析をおこなった。その結果、アフリカツメガエル卵母細胞に内在する新規の機構は、既知のタンパク質、とりわけVSPとは異なるシグナル伝達を示すことが示された。また、外来性に導入したVSPの場合とは異なる細胞内局在をとっている可能性も示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物において電気信号を化学信号に変換する分子機構は従来知られてきた分子に限定されず多様であることが判明した。今後生物種間のゲノム情報の比較により分子実体の解明に迫ることで、我々ヒトを含む脊椎動物の体制における電気化学連関の分子機構の原理と多様性の深い理解に繋がる。また、細胞機能の電氣的制御などを通じてティッシュエンジニアリングなど生物工学的応用に繋がる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We studied endogenous activity of voltage-sensitive phosphoinositide enzyme in oocytes of *Xenopus laevis* by electrophysiological measurements and voltage-clamp fluorometry of phosphoinositide-sensitive fluorescent probes with reference to newt oocytes which do not exhibit endogenous voltage-sensitive phosphoinositide enzyme activity. Findings indicate that signal transduction of this innate activity in *Xenopus* oocyte differs from previously established mechanisms including voltage-sensing phosphatases where voltage sensor domain tightly couples with PTEN-like phosphatase within a single molecule, thereby supporting a possibility that some novel voltage-sensitive molecule exists in *Xenopus* oocyte.

研究分野：生理学

キーワード：膜電位 イノシトールリン脂質 アフリカツメガエル

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

神経細胞や筋細胞をはじめとした多くの細胞が、膜電位変化を電気信号として活用することで自らの細胞機能に役立っていることが知られている。このような膜電位情報は、通常電位依存性イオンチャネルと呼ばれる一連の蛋白質群によって感知されることが知られており、これらが膜電位変化に応じてイオン透過を示すことでその機能を示す。一方で我々は、これまでに膜電位変化に応じて酵素活性(ホスファターゼ活性)を示す蛋白質 VSP(Voltage-sensing phosphatase)を初めて同定し(Murata et al, Nature, 2005)、これまで様々なアプローチをとることで、その動作原理と生理機能を明らかにしてきた(Iwasaki et al., PNAS, 2008; Kurokawa et al., PNAS, 2012; Sakata et al., PNAS, 2016 他)。いわば VSP は「膜電位情報を直接化学シグナル」へ変換する唯一無二の分子であるが、このような役割を担う類似の分子は VSP の発見から 10 年程が経過しても他に報告がなされていなかった。一方で我々は、VSP の発現機能解析実験を行う過程で、偶然にもツメガエル卵母細胞が VSP に起因しない内因性の電位依存性酵素活性(ホスファターゼ/キナーゼ活性)を示すことを見出していた。そこで本研究ではこの現象に着目することで、VSP に続く第二の電位依存性酵素の分子実体を同定できると考えた。

### 2. 研究の目的

アフリカツメガエル卵母細胞に内因性に発現する電位依存性酵素のメカニズムに着目し、電気生理学的解析とイメージング技術を組み合わせることで、その生理学的性質の詳細を明らかにすることを目的とした。また、最終目標としてはこの役割を担う分子実体に着目した研究を行うことを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) Voltage clamp fluorometry 法を用いた、内因性酵素活性の性質に関する検証

本研究では電位依存的な酵素活性を捉えようとしているため、アフリカツメガエル卵母細胞に各種イノシトールリン脂質のプローブを発現させ、その膜電位を人工的に制御することによって各種イノシトールリン脂質量にどのような変化が起きるかを検証することとした。膜電位の制御は二本差し膜電位固定法(Two-electrode voltage clamp, TEVC)を用い、蛍光シグナルの検出はコンフォーカル顕微鏡を組み合わせることで行った。当初はイノシトールリン脂質プローブに緑色蛍光蛋白質(GFP)を融合させたプローブを用い、酵素活性の変化に伴って細胞膜近傍へと集まってくるシグナル強度を定量することでその活性を評価していた。しかしこの方法では時間分解能が優れないという問題点があったため、FRET 型の PH domain 融合たんぱく質である f-PLC (PI(4,5)P<sub>2</sub> 感受性) および f-TAPP (PI(3,4)P<sub>2</sub> 感受性) による検出法を導入し、より時間解像度の高い手法により本現象を観察することを試みた。

(2) 電気生理学的な測定法を用いた内因性酵素活性の性質に関する検証

上記の Voltage clamp fluorometry 法に加え、細胞にイノシトールリン脂質感受性のあるイオンチャネルを強制発現させてその生理活性の変化を追うことで、この内因性酵素活性の性質に関する検証を行おうと考えた。我々の研究から内因性酵素活性については PI(3,4)P<sub>2</sub> の量が著しく変化することが観察されており、既にこの現象が報告されている *Xenopus* 由来 TPC3 (プラスミドを生理学研究所久保研究室より提供) を oocyte に発現させ、脱分極依存的な電流を解析した。

(3) イモリの卵母細胞における内因性酵素活性に関する検証と、本分子メカニズムの解明

申請者たちの予備研究から、イモリの卵母細胞は上記の内因性酵素活性を有していないことが示唆されていた。そこでこの現象を再検証し、イモリの卵母細胞がアフリカツメガエル卵母細胞との比較実験対象として用いられるかを検証した。具体的には、イモリの卵母細胞に上記イノシトールリン脂質プローブを発現させ、voltage clamp fluorometry によって内因性酵素活性の有無を観察した。また、イモリの卵母細胞において内因性酵素活性が存在しないことを確認した後は、アフリカツメガエルとイモリの遺伝子発現プロファイルを次世代シーケンス法により比較することで、アフリカツメガエルにおける新規の電位依存性メカニズムを検証しようと考えた。

### 4. 研究成果

(1) Voltage clamp fluorometry 法を用いた、内因性酵素活性の性質に関する検証

PI(3)P, PI(4)P, PI(3,4,5)P<sub>3</sub> について、それぞれの蛍光プローブの cDNA を作製し、mRNA をアフリカツメガエル卵母細胞へと注入することで、そのシグナルの電位依存的な変化が認められるかを検討した。しかし予想外のことに、いずれのプローブを用いても、蛍光シグナルの変化を認めることは出来なかった。その可能性として、(1) 内因性の酵素活性の影響を受ける基質量が、その総量と比較して限られているため、検出できなかった可能性、(2) 各プローブ

ブに脂質のアシル基の長さなど何らかの選択性が存在しており、それがシグナルを検出するうえで障害となっている可能性、(3)我々が選択的プローブで見出している現象が、なんらかの artifact であり、現実には PI(3,4)P2 の量を反映していない可能性、などが考えられた。(3)の可能性を否定するため、PI4K 阻害剤である wortmanin の投与実験を行う実験も行った。Wortmanin を投与すると、細胞内の多くの PIPs は枯渇化すると考えられる。このような条件下で再度実験を行うと、内因性の酵素活性は認められなかった。すなわちこの酵素活性は、プローブによる何らかの artifact などではなく、確かに PIPs の実験系を介していることが明らかとなった

そこで新規に膜近傍の PIPs を検出するのに適した FRET 型の PH domain 融合たんぱく質である f-PLC (PI(4,5)P2 感受性) および f-TAPP (PI(3,4)P2 感受性) を導入し、voltage clamp fluorometry 法により PI(4,5)P2 および PI(3,4)P2 の変化の時間分解能の向上をはかった。予測通り、VSP 酵素活性に伴う速い変化を捉えることができるようになった。一方、予想外の結果として、PIP3 から PI(3,4)P2 を生成する内在性酵素活性のシグナル強度が極めて低いことが明らかになった。f-PLC で検出される VSP の PI(4,5)P2 ->PI(4)P 活性には影響が見られなかった。このことから、内在性酵素活性は、vsp の場合と異なり、イノシトールリン脂質のプローブの種類によって検出のされかたが異なっており、PI(3,4)P2 の増加する細胞内部位の違いなどを反映している可能性が考えられた。

## (2) 電気生理学的な測定法を用いた内因性酵素活性の性質に関する検証

上記のバックグラウンドを受けて、PI(3,4)P2 感受性チャネルである *Xenopus tropicalis* 由来 TPC2 の電位依存的活性化を *Xenopus oocyte* に発現させる検証を行った。その結果 PI(3,4)P2 の増加を反映する電流が検出されたことから、本内在性酵素活性については前述したようにプローブによるアーチファクトではないことは確かであり、VSP と内在性活性の間でアシル基の多様性により基質への preference が異なるという可能性と、プローブの種類が異なることで検出される PIPs の細胞内分布が異なる可能性、即ち同じ PI(3,4)P2 でも空間的分布パターンが VSP の場合と内在性活性の間で異なる可能性が考えられた。

次に内在性 X1-VSP1/2 の関与を再検証するため、ドミナントネガティブ型 VSP を構築に向けて VSP 分子内相互作用部位の解析をおこなった。N 末端側に Anap を導入して VCF 計測を行い、N 末端側と VSD (電位センサードメイン) - PD (酵素ドメイン) linker の間での直接相互作用がある可能性を見出した。また、S4-linker 領域と酵素ドメインの間で直接相互作用があることを見出した。

## (3) イモリの卵母細胞における内因性酵素活性に関する検証と、本分子メカニズムの解明

まずアカハライモリの卵母細胞を用い、予備実験の通り、アカハライモリの卵母細胞はアフリカツメガエルの卵母細胞とは異なり上記の内因性酵素活性を有していないことを改めて確認した。そこで mRNA の次世代シーケンスを行うため、アカハライモリの卵母細胞を採用したが、質の高い RNA を得るための条件検討が十分に進まず、研究期間内には RNAseq による発現解析の比較には至っていない。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 20件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Okochi Y, Okamura Y.	4. 巻 22
2. 論文標題 Regulation of Neutrophil Functions by Hv1/VSOP Voltage-Gated Proton Channels	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2620 ~ 2620
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22052620	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 Takafumi, Takao Keizo, Akter Sharmin, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Miyakawa Tsuyoshi, Okamura Yasushi	4. 巻 157
2. 論文標題 Heterogeneity of microglial proton channel in different brain regions and its relationship with aging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 624 ~ 641
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15292	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 Takafumi, Kayama Kento, Tatsumi Shoki, Akter Sharmin, Miyawaki Nana, Okochi Yoshifumi, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Yamamoto Hiroyasu, Kihara Shinji, Okamura Yasushi	4. 巻 34
2. 論文標題 Regulation of hepatic oxidative stress by voltage gated proton channels (Hv1/VSOP) in Kupffer cells and its potential relationship with glucose metabolism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 15805 ~ 15821
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202001056RRR	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*, Okamura Y.	4. 巻 14
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 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19336950.2020.1778393	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 Sakaguchi T, Okumura R, Ono C, Okuzaki D, Kawai T, Okochi Y, Tanimura N, Murakami M, Kayama H, Umemoto E, Kioka H, Ohtani T, Sakata Y, Miyake K, Okamura Y, Baba Y, Takeda K.	4. 巻 31
2. 論文標題 TRPM5 Negatively Regulates Calcium-Dependent Responses in Lipopolysaccharide-Stimulated B Lymphocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 107755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.107755	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 Okochi Y*, Umemoto E, Okamura Y.	4. 巻 107
2. 論文標題 Hv1/VSOP regulates neutrophil directional migration and ERK activity by tuning ROS production.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Leukocyte Biology	6. 最初と最後の頁 819 ~ 831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/JLB.2A0320-110RR	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 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 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 Kawanabe Akira, Mizutani Natsuki, Polat Onur K., Yonezawa Tomoko, Kawai Takafumi, Masayuki X.Mori, Okamura Yasushi	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 e201912491
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 Takafumi, Miyata Haruhiko, Nakanishi Hiroki, Sakata Souhei, Morioka Shin, Sasaki Junko, Watanabe Masahiko, Sakimura Kenji, Fujimoto Toyoshi, Sasaki Takehiko, Ikawa Masahito, Okamura Yasushi	4. 巻 116
2. 論文標題 Polarized PtdIns(4,5)P2distribution 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	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 Fukumura Shinobu, Yamauchi Kosuke, Kawanabe Akira, Yamamoto Akiyo, Nakaza Maki, Kubota Tomoya, Kato Shinsuke, Sasaki Ryogen, Okamura Yasushi, Takahashi Masanori P.	4. 巻 407
2. 論文標題 Functional analysis of a double-point mutation in the KCNJ2 gene identified in a family with Andersen-Tawil syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 116521 ~ 116521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2019.116521	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 Mizutani Natsuki, Okochi Yoshifumi, Okamura Yasushi	4. 巻 7
2. 論文標題 Distinct functional properties of two electrogenic isoforms of the SLC 34 Na Pi cotransporter	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e14156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14156	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 Ratanayotha Adisorn, Kawai Takafumi, Okamura Yasushi	4. 巻 316
2. 論文標題 Real-time functional analysis of Hv1 channel in neutrophils: a new approach from zebrafish model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	6. 最初と最後の頁 R819 ~ R831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00326.2018	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 岡村康司、水谷夏希、大河内善史	4. 巻 269
2. 論文標題 ホスフォイノシチドによるチャンネル・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 -

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 西野 敦雄、岡村 康司	4. 巻 91
2. 論文標題 NaV チャンネル全史-細菌からヒトまで-	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 1 ~ 14
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 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 Iwaki Masayo, Takeshita Kohei, Kondo Hiroko X., Kinoshita Kengo, Okamura Yasushi, Takano Yu, Nakagawa Atsushi, Kandori Hideki	4. 巻 122
2. 論文標題 Zn <sup>2+</sup> -Binding to the Voltage-Gated Proton Channel Hv1/VSOP	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 9076 ~ 9080
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.8b04890	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 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 <sup>2+</sup> -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 岡村康司、大澤匡範	4. 巻 36
2. 論文標題 脂質 - イオンチャネル相互連関	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 「脂質クオリティ」実験医学増刊	6. 最初と最後の頁 97 ~ 104
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47件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 14件)

1. 発表者名 Adisorn Ratanayotha, Matsuda M, Kimura Y, Israil M. Hossain, Higashijima S, Kawai T, Okamura Y.
2. 発表標題 Voltage-Sensing Phosphatase (VSP) Facilitates Nutrient Absorption in Zebrafish Enterocytes.
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Costa Paixao Ian, Kawai T, Mizutani N, Okochi Y, Okamura Y.
2. 発表標題 Phylogenetic approach to understanding molecular mechanisms of enzyme actions of voltage-sensing phosphatase.
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Okochi Y, Tsutsui H, Okamura Y.
2. 発表標題 Visualizing phagosomal membrane potential and investigating the roles in macrophages.
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kawai T, Okamura Y.
2. 発表標題 Functional mechanism of polarized phosphoinositides distribution generated by voltage-sensing phosphatase in sperm flagellum.
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mizutani N, Kawanabe A, Okamura Y
2. 発表標題 Hydrophobic amino acid residues at the C-terminal end of the voltage sensing segment S4 are critical for coupling to an enzymatic activity in voltage-sensing phosphatase.
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mizutani N, Kawanabe A, Okamura Y
2. 発表標題 Central Role of the Lowest Part of S4 of Ci-VSP in Coupling Mechanism
3. 学会等名 65th Biophysical society Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Costa Paixao Ian, Mizutani N, Kawai T, Okamura Y
2. 発表標題 Change in substrate specificity of voltage-sensing phosphatase by single amino acid mutation.
3. 学会等名 14th International Conference on Protein Phosphatases (国際学会)
4. 発表年 2020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
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
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sugimoto S, Kawai T, Okamura Y
2. 発表標題 Analyzing PI(4,5)P2 sensitivity of GABAA receptor by 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
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
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Okochi Y, Tsutsui H, Okamura Y.
2. 発表標題 Establishment of a method measuring membrane potential in phagosomes
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
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
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河合喬文、岡村康司
2. 発表標題 マウス精子に存在する電位依存性ホスファターゼの機能
3. 学会等名 第112回近畿生理学談話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okamura Y
2. 発表標題 Regulation of ion channels by distribution of phospholipids in mouse sperm
3. 学会等名 Ion Channel Modulation Symposium
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kawanabe A, Mizutani N, Yonezawa T, Okamura Y
2. 発表標題 Improvement of voltage-sensing phosphatase as a molecular tool for phosphoinositide depletion in living cells
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okamura Y, Jinno Y, Hashimoto M, Nishino J, Sasakura Y, Nishino A, Kawai T
2. 発表標題 Evolutional insight into the origin of clustering of voltage-gated sodium channels
3. 学会等名 NEURO2019 (第42回日本神経科学大会、第62回日本神経化学会大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okamura Y
2. 発表標題 Functional role of VSP in mouse sperm through its regulation of phosphoinositide distribution
3. 学会等名 The 7th International Ion Channel Conference (IICC-7)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okochi Y, Tsutsui H, Okamura Y.
2. 発表標題 Analysis of membrane potential of phagosome in phagocytes
3. 学会等名 60th International Conference on the Bioscience of Lipids (ICBL2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kawanabe A, Hashimoto M, Yonezawa T, Jinno Y, Okamura Y.
2. 発表標題 The hydrophobic protein-membrane interface maintains an activity of a phosphoinositide phosphatase
3. 学会等名 60th International Conference on the Bioscience of Lipids (ICBL2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kawai T, Miyata H, Nakanishi H, Sakata S, Okochi Y, Watanabe M, Fujimoto T, Sakimura K, Sasaki T, Ikawa M, Okamura Y
2. 発表標題 Function of voltage-sensing phosphatase in mouse sperm
3. 学会等名 60th International Conference on the Bioscience of Lipids (ICBL2019)
4. 発表年 2019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)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okamura Y
2. 発表標題 Molecular mechanisms and physiological functions of voltage-sensing phosphatase, VSP
3. 学会等名 Seminar on Vollum Institute, Oregon Health & Science University
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Adisorn Ratanayotha, Takafumi Kawai, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Zn <sup>2+</sup> sensitivity of Hv1 channel: an evolutionary perspective
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, 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-11a and NaPi-11b 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 Yoshifumi Okochi, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Hv1/VSOP voltage-gated proton channel inhibits migration in response to fMLF in neutrophils
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 Zhuang 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 <sup>2+</sup> -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 Natsuki Mizutani, Yoshifumi Okochi, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Electrophysiological characterization of two types of Na-Pi cotransporters
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 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 Takafumi Kawai, Natsuki Eguchi, Masaki Hashimoto, Yuki Yabuuchi, Yuka Jinno, Akira Kawanabe, Junko Nishino, Atsuo Nishino, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Rapid gating of sea squirt Nav1 channel does not require auxiliary subunit
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 Masayo Iwaki, Kohei Takeshita, Hiroko X. Kondo, Kengo Kinoshita, Yasushi Okamura, Yu Takano, Atsushi Nakagawa, Hideki Kandori
2. 発表標題 Metal binding to the voltage-gated proton channel Hv1/VSOP
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 大河内善史、岡村康司
2. 発表標題 電位依存性プロトンチャネルHv1/VSOPは、活性酸素の産生量の制御を介して、好中球の走化性を抑制する
3. 学会等名 第111回 近畿生理学談話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 香山建斗、河合喬文、辰巳翔基、山本浩靖、崎村建司、木原進士、岡村康司
2. 発表標題 電位依存性プロトンチャネルは肝臓の糖新生を調節する
3. 学会等名 第111回 近畿生理学談話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水谷夏希、大河内善史、岡村康司
2. 発表標題 Na-Pi cotransporter活性のPI(4,5)P2に対する感受性の解析
3. 学会等名 第111回 近畿生理学談話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 江口 夏生、神野 有香、橋本 真宜、河合 喬文、西野 純子、大塚 幸雄、川鍋 陽、西野 敦雄、笹倉 靖徳、岡村 康司
2. 発表標題 脊椎動物の稠密な脳の起源をホヤのNav チャネルから理解する
3. 学会等名 第4回ホヤ研究会
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 Natsuki Mizutani, Yoshifumi Okochi, Yasushi Okamura
2. 発表標題 The analysis of sensitivity of Na-Pi cotransporter activity to phosphoinositides
3. 学会等名 Europhysiology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takafumi Kawai, Keizo Takao, Kenji Sakimura, Tsuyoshi Miyakawa, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Age-dependent regulatory function of microglial voltage-gated proton channels
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Natsuki Eguchi, Masaki Hashimoto, Yuka Jinno, Akira Kawanabe, Takafumi Kawai, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Sea squirt voltage-gated sodium channel : kinship with the origin of vertebrate neural sodium channels
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
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 NeuroMyoG?ne, LES S?MINAIRES 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

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Tsutsui H, Mizutani N, Okamura Y.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 ACADEMIC PRESS, INC.	5. 総ページ数 -
3. 書名 Methods in Enzymology	

1. 著者名 石川義弘、岡村康司(総監訳)、尾仲達史、河野憲二	4. 発行年 2018年
2. 出版社 エルゼビア・ジャパン株式会社	5. 総ページ数 1100
3. 書名 ガイトン生理学 原著第13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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------