

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06585

研究課題名（和文）電気生理学と分光学の統合によるイノシトールリン脂質ホスファターゼの動作原理の解析

研究課題名（英文）Analysis of the voltage-sensing phosphatase using voltage-clamp fluorometry

研究代表者

川鍋 陽（Kawanabe, Akira）

香川大学・医学部・講師

研究者番号：10707128

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：イノシトールリン脂質ホスファターゼ [PIase: PI(4,5)P2などを脱リン酸化する酵素] は生理的に重要な機能を担っている。本研究では、電位依存性ホスファターゼ（VSP, PIaseの一種）の酵素活性機構を明らかにし、PIaseに共通する動作原理を解明することを目指した。そのために、非天然蛍光アミノ酸Anapを導入したVSPの蛍光変化から局所的な構造変化情報を取得し、VSPの活性化時に「電位センサー」と「酵素領域」の疎水性部位の相対的な距離が変動することにより、酵素活性に影響を与えていることが示唆された。また、これらの成果を基に機能向上型VSPを作製した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞膜構成成分の1つであるイノシトールリン脂質（PI）は、細胞膜上でシグナル伝達の役割も担い、生体の恒常性を維持するために重要である。PIの生理的機能を調整する酵素の1つがイノシトールリン脂質ホスファターゼ（PIase）であるが分子機能の動作原理まで踏み込んだ研究は進んでいない。その中で、われわれは機能解析と構造変化解析を組み合わせることで、動作機構を解明した。得られた知見は、PIaseをターゲットとする臨床医学・創薬研究の基盤となると考えている。また、新規に作製した機能向上型VSPは、分子ツールとしてのさらなる活用が見込まれるため、研究分野の発展にも貢献できている。

研究成果の概要（英文）：Inositol phospholipid phosphatases (PIases) have important physiological functions. In this study, we aimed to clarify the mechanism of enzymatic activity of voltage-sensitive phosphatases (VSP, a type of PIase) and to elucidate the common operating principle of PIases. We analyzed local conformational changes from the fluorescence changes of VSPs with unnatural fluorescent amino acid (Anap), and suggested that the relative distance between "voltage sensor" and "enzyme region" changes during VSP activation, which affects the enzyme activity. Based on these results, we also produced functionally-enhanced VSPs.

研究分野：生物物理学

キーワード：電位依存性ホスファターゼ 電位依存性 脂質代謝酵素 電気生理学 イオンチャネル 蛍光変化解析

1. 研究開始当初の背景

細胞膜構成成分の1つであるイノシトールリン脂質 (PI) は、細胞膜上でシグナル伝達の役割も担う。生体内では PI のイノシトール環の 3,4,5 位のリン酸化状態により生理作用が異なり [PI(3,4,5)P₃, PI(4,5)P₂ など]、生命の維持に極めて重要である。PI のリン酸化状態を制御するタンパク質の中で脱リン酸化を担う酵素がイノシトールリン脂質ホスファターゼ (PIPase) である。代表的なものとしては PI(3,4,5)P₃ を脱リン酸化する癌抑制遺伝子として有名な PTEN があるが、その他にも数 10 種類が存在している。これまでに多くの研究が生化学・遺伝学・臨床医学を中心に展開されてきたが、分子機能の動作原理まで踏み込む研究はほとんど進んでいない。分子機能に関する PIPase 研究の核心と言える「問い」が“どのような分子メカニズムで酵素活性を制御しているのか”である。この「問い」に答えるためにはわれわれは従来注目されてこなかった領域がカギになると考え、既知の PIPase の結晶構造を並べて比較した。PIPase は脂質を基質とすることから膜-タンパク質界面を精査したところ、共通する疎水性構造 (Hydrophobic spine と命名) があることに気が付いた。この構造は周辺部が親水性であるのに対して特異的に疎水性が高くなっており、分子機能に重要な意味を持つと考えられた。

電位依存性ホスファターゼ(VSP)

Hydrophobic spine の分子機能に対する役割を解析するために、われわれは PIPase の 1 種である“電位依存性ホスファターゼ (VSP)”を用いて検討を行ってきた。VSP は「電位センサードメイン (S1-S4)」の下流に、PTEN と高い相同性をもつ「細胞内酵素領域」が結合している膜タンパク質であり、膜電位に応じて酵素活性 [PI(4,5)P₂ の 5 位を脱リン酸化する] が変化する、というユニークな機能を有している [Sakata, Matsuda, Kawanabe, Okamura (2017) *Biophys Physicobiol*, Okamura, Kawanabe, Kawai (2018) *Phys Rev*]。前述の「問い」に対する明確な報告がこれまでに存在しない理由のひとつとして、ほとんどの PIPase が単純な刺激により活性の制御をすることが困難である、という点が挙げられる。一方で VSP は電位により活性を制御することが可能であり、メカニズムを解析する上では絶好のターゲットと言える。

イノシトールリン脂質ホスファターゼにおける Hydrophobic spine による酵素活性調節

疎水性が重要なファクターであろうと推測し、ホヤ由来 VSP (Ci-VSP) の Hydrophobic spine (L284, F285 に相当) に性質の異なるさまざまなアミノ酸を変異導入し解析したところ、VSP の酵素活性は Hydrophobic spine を構成するアミノ酸側鎖の疎水性および芳香環の有無に依存していることが判明した。続いて分子メカニズムを解析するために、非天然蛍光アミノ酸 Anap を酵素領域に遺伝的に組み込んだ Ci-VSP の蛍光変化計測を実施、細胞内ドメインの構造変化に関する情報を得た。野生型(WT)では蛍光変化は電位に応じて 2 段階に変化したが、Hydrophobic spine に親水性アミノ酸を導入すると 2 段階の蛍光変化が 1 段階になるという大きな変化が生じた。つまり、VSP には電位に応じた 2 つの活性化状態があり、その遷移を Hydrophobic spine は制御している、と考えられた。また、エネルギープロファイルから考察すると、電荷が多く存在する膜界面付近において高度に疎水的な領域が存在するのは非常に不利である。シミュレーション解析の結果、周囲の親水性残基と Hydrophobic spine のもつ疎水性の絶妙なバランスにより細胞内領域と膜との距離が制御されていることがわかった。これらの知見から VSP は酵素領域がちょうつがいのように動くことで酵素活性が制御されるというモデルを提案した [Kawanabe et al. (2018) *eLife*]。

2. 研究の目的

本研究では、Hydrophobic spine による酵素活性調節機構を明らかにし、イノシトールリン脂質ホスファターゼ PIPase に共通する動作原理を解明することを目的にした。これまでの研究では VSP の「酵素領域」の構造変化に主に注目していたが、膜電位によって酵素活性が制御されることから「電位センサードメイン」についても構造変化・機能解析を行う必要があると考え、実施した。また、両者をつなぐリンカー領域は、有機的な連携を達成するために重要な役割をもつと考えられるのでその寄与も検討した。これらの研究結果を踏まえ、分子ツールとしての VSP の機能向上型の開発も目指した。

3. 研究の方法

本研究では、これまでの研究成果により得られた PIPase の酵素活性制御モデルの検証および構造変化解析を行う。具体的には VSP に導入した非天然蛍光アミノ酸 Anap の蛍光変化を検出することにより活性化状態へと至る構造変化の実体と PIPase に共通する動作原理を明らかにする。その他にも PIPase の機能評価のために以下の手法を用いて、本研究を実施した。

(1) 脱リン酸化酵素活性解析

VSP は PI(4,5)P₂ を脱リン酸化する酵素である。その酵素活性を評価するために、アフリカツメガエル卵母細胞にホヤ由来 VSP(Ci-VSP)の cRNA をインジェクションして発現させた。PI(4,5)P₂ 感受性カリウムチャネル Kir3.2 を共発現した。インジェクション後、2 ~ 3 日後に、二本刺し膜電位固定法にてチャネル電流を計測した。この電流は VSP を活性化すると経時的に絶対値が低下する。この電流量の減少スピードから VSP の酵素活性を定量化した。

(2) 電位依存性蛍光変化解析

VSP の局所構造変化を追跡するために非天然蛍光アミノ酸 Anap を遺伝的に組み込み、蛍光変化を計測した。アフリカツメガエル卵母細胞に、cDNA(アミノアシルトランスフェラーゼ、TAG を認識する tRNA)を核インジェクションし、24 時間 18 °C でインキュベーションした。続いて、あらかじめ Anap を組み込みたい部位のコドン TAG に置換した VSP の cRNA と Anap 分子を細胞質にインジェクションした。インジェクション後、2 ~ 3 日経過した後に計測を実施した。倒立顕微鏡に二本刺し膜電位固定法の装備を組み込み、卵母細胞表面の蛍光強度を光電子増倍管もしくは分光器を用いて測定した。

(3) 分子ツールとしての能力向上

哺乳類培養細胞での使用を想定し、ゼブラフィッシュ由来 VSP (Dr-VSP)をベースとして開発を行った。酵素活性評価には、HEK293T に PI(4,5)P₂ 感受性カリウムチャネル Kir2.1, KCNQ2/3 を共発現し、パッチクランプ法にてチャネル電流を計測し、電流量の低下速度から活性を評価した。膜局在に関しては、mCherry 融合型 Dr-VSP の蛍光から評価し、機能と膜局在の両面から検討した。また、共焦点レーザー顕微鏡での観察も実施した。

4. 研究成果

本研究では、電位依存性ホスファターゼ (VSP)の構造機能連関を解析した。特に、電位センサー-リンカー-酵素領域の一連の構造が活性化時にどのように構造変化し、連動するのか検証を行った。また、それらの成果を基に機能向上型 VSP の作製を行った。以下に一連の研究成果を記載する。

(1) VSP の電位センサーによる構造機能連関

(Mizutani, Kawanabe, Jinno, Narita, Yonezawa, Nakagawa, Okamura (2022) *Proc Natl Acad Sci USA*)

電位センサーS4 の膜界面付近のアミノ酸の役割

われわれは以前の研究で、VSP 酵素領域の膜界面近傍の疎水性残基 Hydrophobic spine が電位依存的な酵素活性制御に重要なことを明らかにした。一方でこの研究では、電位センサーに関しては検討をしていなかった。種間のアミノ酸配列の比較から、電位センサードメインの S4(4 番目のヘリックス)下流の膜界面付近に疎水性残基が保存されており機能に重要と考えられた。そこで、Ci-VSP I233 および F234 を親水性アミノ酸に置換した変異体を作製し(I223Q, F234Y)、活性を検討すると、ともに WT よりも酵素活性が低下した。さらに、これらの変異が電位依存的な構造変化にどのように影響を与えるのか検討するために、Ci-VSP 酵素領域の Lys555 に非天然蛍光アミノ酸 Anap を導入したコンストラクト(Ci-VSP K555Anap)を使用して評価した。Ci-VSP K555Anap では、低電位では蛍光減少、高電位になると蛍光増加という 2 段階の電位依存的な蛍光変化を示し、これは酵素領域の 2 段階の構造変化を示していると考えている [Kawanabe et al. (2018) *eLife*]。このコンストラクトに I223Q, F234Y をそれぞれ導入したところ、I223Q では 2 段階目の蛍光変化が消失し、F234Y では 2 段階目の蛍光変化が高電位側にシフトした。この結果から、I223 および F234 は、電位センサーと酵素領域の連動を制御していると考えられた。この結果は、VSP 酵素領域の Hydrophobic spine でも同様の傾向であり、両者の間で相互作用が存在することが予想された。

続いて、両者の距離変動を検討するために、S4 下流 (I223, F234)に Anap、酵素領域 Hydrophobic spine (L284)に Trp を導入して、Anap の蛍光変化がどのように変化するのかを検討した。アミノ酸である Trp は芳香環をもっており、ごく近傍に存在している場合は Anap 蛍光の消光剤となりうるということが知られている。Ci-VSP I233Anap もしくは F234Anap は電位依存的な Anap 蛍光減少がわずかに観測できたただけであったが、Hydrophobic spine に Trp 変異 (L284W)を追加導入すると、Anap の蛍光変化が大幅に増大することが判明した。これはつまり、VSP が活性化した際に両者が接近することを意味している。

リンカー領域の構造

電位センサーと酵素領域の間にあるリンカー領域は両者をつなぐ部分であり、機能への寄与が示唆される研究が多く存在している。しかし、これらの研究は単に変異体解析で酵素活性が影響することを示しているだけで、メカニズムまでは理解できていなかった。そこで、われわれはリンカーの重要な要素と考えられる「構造」と「長さ」のどちらが酵素活性制御に重要なのかを判断するために、リンカー領域に複数の Ala もしくは Gly を導入した変異体を作製し(具体的には Ci-VSP Y235 の後に挿入)、その酵素活性を比較した。Ala は通常 ヘリックス構造を形成する一方で、Gly は特定の構造を形成しないと考えられている。

Ci-VSP のリンカー領域に Ala を挿入した変異体では(Ala を挿入した数を、A7 といった形で示す。A7 は Ala を 7 残基挿入した)、A1, A2 で酵素活性が大きく減少した後に、A3 で酵素活性が WT より少し弱い程度に回復するという興味深い結果を示した。さらに多くの Ala を挿入すると、A7, A11 と周期的に酵素活性が回復する傾向が観察された。この周期を考えると 3~4 残基であり、ヘリックスの周期とほぼ同じである。従って、リンカー領域はヘリックス構造を形成していることを示唆している。一方で、Gly を挿入した変異体では、挿入した数に比例して酵素活性が低下していった。

これらの結果から、リンカー領域はヘリックス構造を持つことが活性維持に重要であり、長さはあまり重要な要素ではないことが判明した。つまり、リンカー領域の構造が膜に対する酵素領域の向きをある程度決定して、それがうまく「はまる」場合と「はまらない」場合で酵素活性が変化すると考えられた。この結果は、電位センサー-リンカー領域-酵素領域の一連の構造が決まっていることを示唆しており、電位センサーと酵素領域の連動に重要な要素であると考えられる。

以上のことをまとめると、VSP は電位センサー-S4 下流からリンカー構造までがヘリックス構造で一体化して動くことで、活性化時に、電位センサーと酵素領域の距離が近づくという構造変化を誘発し、結果として酵素活性が制御されていることがわかった。

(2) 機能向上型 VSP (enhanced VSP, eVSP)の作製

(Kawanabe, Mizutani, Polat, Yonezawa, Kawai, Mori, Okamura (2020) *J Gen Physiol*)

VSP は、細胞膜上の PI(4,5)P₂ の量を簡便にコントロールする分子ツールとして普及している。従って、VSP の機能を向上し、使いやすくすることはこのタンパク質の汎用性・応用範囲を広くする上で重要である。VSP は哺乳類培養細胞での使用が最も多いため、Dr-VSP をベースに以下の 2 点の改良を実施した。また、Dr-VSP には発現・局在を確認するために mCherry を C 末端に融合したコンストラクトを使用した。

酵素活性強化：

これまでの VSP の研究過程で、Hydrophobic spine (Ci-VSP における L284)に芳香族アミノ酸を組み組むと、酵素活性が上昇することが観察された。Dr-VSP において対応するアミノ酸は L223 であり、Phe に置換することで活性が上昇するかを検証した。その結果、活性が上昇するという結果が得られたため、Hydrophobic spine の役割は異なる種族由来 VSP でも保存されていることが示唆された。また、ゲート電流(電位センサーが動いた際に一時的に観測される電流)の解析から、電位依存性が変化しているわけではないことが確認された。一方で、酵素活性を定量化するためには、発現量を見積もる必要がある。そこで mCherry の蛍光強度で定量化し、酵素活性との相関を検討した。その結果、多くの細胞では酵素活性は蛍光量に比例するものの、全く比例しない事例が散見された(例：蛍光が観測されるにも関わらず、全く酵素活性がない)。そのような測定例では、細胞の顕微鏡像を詳細に観察すると、細胞全体が光っており、膜局在がよくないことが示唆された。そのため次項でこの解決を試みた。

実際これまでの経験上、Dr-VSP が発現しているにも関わらず、酵素活性が全く観測されない事例があり、原因が不明であったが、その原因は膜局在にあったのではないかと現在は推察している。

膜局在の改善：

前項で示した通り、Dr-VSP の膜局在はあまり高くない。膜タンパク質であるため機能するには細胞膜に局在する必要があるが、細胞内器官に留まっている割合が高い。そこで膜局在を改善するために、C-VSP の N 末端領域を融合することを行った(この領域は過去の報告で、膜局在シグナルであることが示唆されていた)。具体的には Ci-VSP 1-104 までのアミノ酸配列を Dr-VSP 1-44 と交換した。この改良により、膜局在が改善したことがゲート電流の計測と共焦点レーザー顕微鏡での観察で明らかとなった。また通常の蛍光顕微鏡での観察においても膜局在が改善したのが判断でき、同程度の蛍光強度であっても膜局在の改善により酵素活性は増大した。

以上の結果を統合し、最終的に、能力向上型 VSP (eVSP) として、CiDr-VSP (L223F)-mCherry を作成した。脱分極パルス 100mV の条件下では、酵素活性はおよそ 3 倍となった。一方で 25mV のわずかに活性がある条件下では、WT においては酵素活性が観測されなかった一方で、eVSP では酵素活性が観測された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kawai Takafumi, Hashimoto Masaki, Eguchi Natsuki, Nishino Junko M., Jinno Yuka, Mori-Kreiner Risa, Aspaker Mans, Chiba Daijiro, Ohtsuka Yukio, Kawanabe Akira, Nishino Atsuo S., Okamura Yasushi	4. 巻 296
2. 論文標題 Heterologous functional expression of ascidian Nav1 channels and close relationship with the evolutionary ancestor of vertebrate Nav channels	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 100783-100783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.100783	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 Kawanabe Akira, Mizutani Natsuki, Polat Onur K., Yonezawa Tomoko, Kawai Takafumi, Mori Masayuki X., 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 オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takagaki Natsune, Ohta Akane, Ohnishi Kohei, Kawanabe Akira, Minakuchi Yohei, Toyoda Atsushi, Fujiwara Yuichiro, Kuhara Atsushi	4. 巻 21
2. 論文標題 The mechanoreceptor DEG 1 regulates cold tolerance in <i>Caenorhabditis elegans</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e48671
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.201948671	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 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 オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Rozenberg A et al.	4. 巻 29
2. 論文標題 Rhodopsin-bestrophin fusion proteins from unicellular algae form gigantic pentameric ion channels	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Structural and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 592 ~ 603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41594-022-00783-x	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, Kawanabe Akira, Jinno Yuka, Narita Hiroataka, Yonezawa Tomoko, Nakagawa Atsushi, Okamura Yasushi	4. 巻 119
2. 論文標題 Interaction between S4 and the phosphatase domain mediates electrochemical coupling in voltage-sensing phosphatase (VSP)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2200364119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2200364119	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 Kiya Takunari, Takeshita Kohei, Kawanabe Akira, Fujiwara Yuichiro	4. 巻 298
2. 論文標題 Intermolecular functional coupling between phosphoinositides and the potassium channel KcsA	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 102257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2022.102257	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15件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Maki Takata, Kohei Takeshita and Yuichiro Fujiwara
2. 発表標題 Direct interaction between the voltage-gated proton channel and ATP
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takunari Kiya, Kohei Takeshita, Akira Kawanabe, Yuichiro Fujiwara
2. 発表標題 Functional regulation of phosphoinositides to the potassium channel KcsA
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takata Maki, Kohei Takeshita, Akira Kawanabe, Yuichiro Fujiwara
2. 発表標題 Mechanisms of voltage-dependent H ⁺ channel activity regulated by membrane stretch and lipids
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Maki Takata and Yuichiro Fujiwara
2. 発表標題 Intracellular ATP controls the voltage-gated proton channel
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川鍋陽、竹下浩平、高田麻紀、藤原祐一郎
2. 発表標題 ATPは電位依存性プロトンチャネルHv1に直接結合して活性を制御する
3. 学会等名 生理研研究会「構造情報を基盤とした膜機能分子の生理機能理解に向けて」
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 紀谷拓音、竹下浩平、川鍋陽、藤原祐一郎
2. 発表標題 カリウムチャネルKcsAとイノシトールリン脂質の分子間相互作用と機能修飾
3. 学会等名 生理研研究会「構造情報を基盤とした膜機能分子の生理機能理解に向けて」
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Maki Takata and Yuichiro Fujiwara
2. 発表標題 The voltage-gated proton channel is regulated by ATP
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 紀谷拓音、竹下浩平、川鍋陽、藤原祐一郎
2. 発表標題 カリウムチャネルとイノシトールリン脂質の分子間相互作用と機能修飾
3. 学会等名 2021(令和3)年度 生理研研究会 細胞の局所コミュニティ研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川鍋陽、坂田宗平、岡村康司
2. 発表標題 膜タンパク質の分子機構解析への 非天然蛍光アミノ酸の活用
3. 学会等名 日本薬学会第141年会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Yuichiro Fujiwara
2. 発表標題 Cytoplasmic structural changes of voltage-sensing phosphatase detected by patch clamp fluorometry.
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川鍋陽、藤原祐一郎
2. 発表標題 電位依存性プロトンチャネル活性に影響する細胞内分子
3. 学会等名 生理学研究所研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Yuichiro Fujiwara
2. 発表標題 Intracellular regulation of the voltage-gated proton channel.
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 川鍋陽、米澤智子、神野有香、坂田宗平、岡村康司
2. 発表標題 非天然蛍光アミノ酸を用いた膜タンパク質の動作メカニズム解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Manami Nishizawa, Kazuhisa Nishizawa, Hirotaka Narita, Tomoko Yonezawa, Yuka Jinno, Souhei Sakata, Atsushi Nakagawa, Yasushi Okamura
2. 発表標題 The conformational change of the cytoplasmic region of voltage-sensing phosphatase
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akira Kawanabe, Natuki Mizutani, Tomoko Yonezawa, Yasushi Okamura
2. 発表標題 Improvement of voltage-sensing phosphatase as a molecular tool of phosphoinositide depletion in living cells
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

香川大学医学部分子生理学講座 http://www.med.kagawa-u.ac.jp/~physiology1/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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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