

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 8 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22386

研究課題名（和文）シングルセルATP分析・分離技術を用いたエネルギー代謝リモデリング機構の解析

研究課題名（英文）Study on the remodeling of energy metabolism of cancer cells with a novel technology of isolating cells based on ATP concentrations

研究代表者

今村 博臣（Imamura, Hiromi）

京都大学・生命科学研究科・准教授

研究者番号：20422545

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：がん細胞が解糖系への依存度が高いATP合成をおこなうために重要な役割を果たす遺伝子の探索をおこなった。まず、フローサイトメーターを用いた細胞内ATP濃度の計測をおこなうため、室温（25℃）において高いパフォーマンスを発揮する改良型の蛍光ATPバイオセンサーを開発した。次に、がん細胞にゲノムワイドな遺伝子破壊をおこない、解糖系を阻害した際のATP濃度の低下が抑制された細胞をフローサイトメーターを用いて単離した。フローサイトメーターによる細胞の単離プロセスを繰り返すことで、解糖系へのATP合成の依存度が低い細胞集団を得ることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんは日本国民の死亡原因の第1位であり、2人に1人が生涯のうちに罹患する。一方、がんの治療法は未だ十分とは言えない。がん細胞は正常細胞とは異なり、解糖系に極めて強く依存したATP合成をおこなっていることが知られているが、その詳しい仕組みはまだ解明されていない。今回の研究成果は、がん細胞の特異なエネルギー代謝の仕組みを明らかにするための足がかりになるものである。

研究成果の概要（英文）：We searched for genes involved in the highly glycolysis-dependent synthesis of ATP in cancer cells. First, we developed an improved fluorescent ATP biosensor with high performance at room temperature (25°C) to measure intracellular ATP concentration using a flow cytometer. Next, we performed genome-wide gene disruption of cancer cells. After glycolysis was inhibited, cells with decreased ATP concentration were isolated using a flow cytometer. By repeating the process of isolating cells by flow cytometry, we succeeded in obtaining a cell population with low dependence of ATP synthesis on the glycolytic pathway.

研究分野：生物物理学、細胞生物学

キーワード：解糖系、酸化的リン酸化、ATP、ワールブルグ効果、CRISPR、FRET、蛍光バイオセンサー、フローサイトメーター

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

エネルギー代謝は、細胞のエネルギー通貨である ATP を作り出すための重要なシステムである。解糖系ではグルコース 1 分子が代謝されて 2 分子のピルビン酸が生成される際に 2 分子の ATP が作られる。正常細胞では、生成したピルビン酸の大部分がミトコンドリアに運ばれてクエン酸サイクルに入り、酸素依存的なプロセスによってさらに約 30 分子の ATP が作られる（酸化リン酸化）。しかし、エネルギー代謝は常に一定というわけではなく、動物細胞では、分化やがん化、環境変化に応じてエネルギー代謝経路を大きくリモデリングしている。例えば、正常細胞とは異なり、多くのがん細胞では十分な酸素が存在する場合でも ATP の大部分が解糖系によって酸素非依存的に作られる「ワールブルグ効果」と呼ばれる現象が知られている（Vander Heiden 2009, *Science*）。がん細胞では、なぜこのように非効率な ATP 合成をおこなっているのだろうか？近年の研究によって、解糖系を活性化することによって、増殖に必要なアミノ酸や核酸の前駆体となる解糖系中間代謝物量を増加させることが、がん細胞にとって有利になっていることが示唆されている。その一方で、このようなエネルギー代謝のリモデリングが生じる仕組みについて、全体像は未だ明らかではない。

研究代表者はこれまで、「単一の生きた細胞内の ATP 濃度を可視化する」バイオセンサーの開発とそれをを用いた代謝研究を推進してきた。まず、フェルスター共鳴エネルギー (FRET) を利用した蛍光 ATP バイオセンサー「ATeam」を開発し、このバイオセンサーを細胞内に発現させて蛍光顕微鏡を使ってイメージングする事で、単一の生きた細胞内の ATP 濃度をリアルタイムに追跡する事を可能にした (Imamura 2009, *PNAS*; Nakano 2011, *ACS Chem Biol*; Tsuyama 2013, *Anal Chem*; Yaginuma 2014, *Sci Rep*)。こうした単一レベルでエネルギー代謝の時空間動態を研究する過程で、阻害剤や栄養条件を変化させた際の細胞内 ATP 濃度の変化を調べることにより、個々の細胞で活性化しているエネルギー代謝経路を評価できることを示した (Yoshizumi 2017, *Sci Rep*)。この手法を応用し、細胞質 ATP 濃度を指標として全ゲノムを対象とした解析をおこなうことができれば、がん細胞の代謝リモデリングに関わる遺伝子群を特定することが可能ではないかと考えられた。しかし、全ゲノムを対象とした解析をおこなうためには、膨大な数の細胞を解析し、かつ求める表現型の細胞のみを分離する必要がある。一般的に光学顕微鏡を用いた生細胞蛍光イメージングは、少数のサンプルを詳細に解析することを得意とする一方で、多数のサンプルを網羅的に解析することを苦手としている。しかも、顕微鏡を用いた場合、異なる ATP 濃度を持つ細胞を見出したとしても、その細胞のみを分離して採取することは極めて困難であり、単一細胞レベルで ATP 濃度を解析できるという蛍光 ATP バイオセンサーの長所を生かすことが困難である。研究代表者は、蛍光 ATP バイオセンサーをフローサイトメーター (FCM) で使えるように改良し、多数 (>10<sup>5</sup> 個) の細胞の ATP 濃度を高速に測定し、かつ ATP 濃度を指標にしてひとつひとつの細胞を分画するという手法を用いることによって、膨大な数の細胞の中から特定のエネルギー代謝表現型を示す少数の細胞を分離し、解析できるのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

本研究は、エネルギー代謝様式の異なる細胞を分離するための独自手法を開発し、がん細胞のワールブルグ効果の制御に働く一連の遺伝子群を明らかにすることを目指した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 改良型 FRET 型蛍光 ATP バイオセンサーの構築・発現・精製・機能評価

pRSET-B ベクターの XhoI-HindIII サイトにサブクローニングした AT1.03 (Imamura 2009, *PNAS*)、AT1.03NL (Tsuyama 2013, *Anal Chem*)、AT1.03CR (Imamura 2020, *eLife*) に PCR によって変異導入をおこなった。これらの cDNA を載せた pRSET-B ベクターを保持する大腸菌 JM109(DE3)株を 24°C で 2 日間培養することで、ATP バイオセンサーを発現させた。発現したタンパク質は Talon カラムおよび Superdex200 ゲルろ過カラムによって精製し、4°C で保存した。精製したバイオセンサーの蛍光スペクトルは、50 mM MOPS-KOH (pH 7.3), 50 mM KCl, 0.5 mM MgCl<sub>2</sub> 中で分光光度計を用いて 37°C で測定した。励起波長は 435±2.5 nm で、460~600 nm の蛍光波長を走査した。

#### (2) 細胞培養

HeLa 細胞は 10% ウシ胎児血清(FBS、Sigma-Aldrich)を添加した Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM、1 g/L グルコース)中で、A549 細胞は 10% FBS を添加した Minimal essential medium (MEM)中で、37°C、5% CO<sub>2</sub> で培養した。PEI-Max 試薬を用いて、バイオセンサー cDNA を担持した PiggyBac ベクターを PiggyBac transposase 遺伝子を担持したプラスミドとともにトランスフェクションすることによって、ゲノム中に ATP バイオセンサー遺伝子を保持した ATP バイオセンサー安定発現細胞株を得た。遺伝子破壊は、Brunello CRISPR/Cas9 レンチウイルスライブラリー (Doench 2016, *Nature Biotech*) を細胞に感染させることでおこなった。

#### (3) 顕微鏡

細胞をガラスボトムディッシュに播種し、ニコン Eclipse Ti-E 倒立顕微鏡上で、Andor Technologies Zyla4.2 sCMOS カメラを用いて撮影した。対物レンズには CFI Plan Apo λ 40×(NA 0.95)を用いた。

#### (4) フローサイトメトリー

細胞をトリプシン-EDTA によって培養ディッシュから剥がし、培地に懸濁後、フローサイトメーター (Sony, SH800) を用いて解析をおこなった。ATP バイオセンサーの励起は 405 nm レーザーでおこない、450 nm と 530 nm の蛍光をそれぞれ CFP および YFP の蛍光シグナルとした。

### 4. 研究成果

#### (1) 改良型 ATP バイオセンサーの開発

当初の研究計画では、円順列変異 GFP をベースとした蛍光 ATP バイオセンサー-QUEEN (Yaginuma 2014, *Sci Rep*)に赤色蛍光タンパク質 mCherry を融合させた mCherry-QUEEN を用いて研究を進める予定であった。しかし、mCherry-QUEEN 遺伝子をゲノムに導入した細胞を長期間維持している間に mCherry-QUEEN の発現量が減弱してしまうという問題を解決できなかったため、FRET 型の蛍光バイオセンサーである ATeam を FCM 用に改良することを試みた。FCM は室温でおこなうため、37°C におけるイメージング用に開発された ATeam (Imamura 2009, *PNAS*)をそのまま用いることは出来なかった。一方、室温での解析用に開発された ATeam (AT1.03NL, Tsuyama 2013, *Anal Chem*) は蛍光変化量が小さく、ノイズの大きい FCM には不向きであった。そこで、CFP-YFP 間の相互作用を増す変異を導入した

ATeam (Kotera 2010, *ACS Chem Biol*) に、さらに蛍光タンパク質と ATP 結合タンパク質の間のリンカー配列を再検討した結果、蛍光変化量を大きく増加させることに成功した。さらに、部位特異的変異導入によって、25°Cにおいて ATP への応答を示し、かつ蛍光変化量の大きい変異体を複数開発した。この変異体のうちの 1 種類 (ATeamNL2) をゲノムに導入した培養哺乳類細胞を作製したところ、長期間に渡り安定的に ATP バイオセンサーを発現することが判明した。そこで、この ATP バイオセンサー発現細胞を用いて以後の研究を進めることとした。

### (2) LDH 阻害剤による細胞内 ATP 濃度への影響

解糖系に強く依存したがん細胞では、解糖系の最終産物であるピルビン酸は乳酸脱水素酵素 (LDH) によって乳酸へと変換される。LDH はピルビン酸を乳酸に変換する際に NADH を NAD<sup>+</sup>へと酸化する。この反応によって、解糖系の中間酵素である GAPDH で作られた NADH が NAD<sup>+</sup>へと戻される。そのため、がん細胞で LDH が阻害されると、NAD<sup>+</sup>が枯渇して GAPDH による反応が進まないため、解糖系が停止して ATP は産生できなくなると想定される。一方で、正常細胞は解糖系で作られた NADH をミトコンドリア呼吸と共役させて NAD<sup>+</sup>に戻すことができるため、LDH による NADH の酸化が無くても解糖系を維持することが可能である。ATeamNL2 を発現させたがん細胞株を LDH 阻害剤であるオキサム酸ナトリウム処理で処理し、イメージングによって細胞内 ATP 濃度の変化を調べたところ、細胞内 ATP 濃度は 30 分程度で速やかに低下することが明らかとなった。一方、異なる LDH 阻害剤である NHI-2 もしくは GSK2837808A で細胞を処理した際は、ATP 濃度低下は非常に緩やかであった。この作用の違いが何に起因するかは不明であった。

### (3) 遺伝子破壊細胞ライブラリーの構築と LDH 阻害剤非感受性細胞の分離

ATeamNL2 安定発現細胞株 (HeLa 細胞および A549 細胞) に対し、ほぼ全てのヒト遺伝子に対する sgRNA を持つ CRISPR/Cas9 遺伝子ノックアウトシステムである Brunello CRISPR/Cas9 レンチウイルスライブラリー (Doench 2016, *Nature Biotech*) を感染させることで、各遺伝子が破壊された細胞のライブラリーを得た。この細胞ライブラリーに対してオキサム酸ナトリウム処理をおこない、FCM で細胞内 ATP 濃度を調べた。多くの細胞では ATP 濃度が低下していたが、ATP が低下していないごく一部の細胞を FCM のソーティング機能を用いて集め、増殖させた。増殖した細胞に再度オキサム酸ナトリウム処理をおこない、ATP が低下していない細胞を集めた。この作業を繰り返すことで、オキサム酸ナトリウム処理をおこなっても ATP が低下しない細胞を濃縮することに成功した。

今回、改良型 ATP バイオセンサーと FCM、そしてゲノムワイドな遺伝子ノックアウトを組み合わせた遺伝子スクリーニングの可能性が示された。今後、この手法を用いてエネルギー代謝制御に関わる、遺伝子の機能を明らかにできると期待している。また、ATP 以外の代謝物に対する蛍光バイオセンサーを用いてこの手法に適用することで、別の代謝制御に関わる遺伝子を明らかにできると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Karagiannis Anastassios, Gallopin Thierry, Lacroix Alexandre, Plaisier Fabrice, Piquet Juliette, Geoffroy Helene, Hepp Regine, Naude Jeremie, Le Gac Benjamin, Egger Richard, Lambolez Bertrand, Li Dongdong, Rossier Jean, Staiger Jochen F, Imamura Hiromi, Seino Susumu, Roeper Jochen, Cauli Bruno	4. 巻 10
2. 論文標題 Lactate is an energy substrate for rodent cortical neurons and enhances their firing activity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e71424
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.71424	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 Yamamoto Kimiko, Nogimori Yoshitsugu, Imamura Hiromi, Ando Joji	4. 巻 117
2. 論文標題 Shear stress activates mitochondrial oxidative phosphorylation by reducing plasma membrane cholesterol in vascular endothelial cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 33660 ~ 33667
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2014029117	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 Imamura Hiromi, Sakamoto Shuichiro, Yoshida Tomoki, Matsui Yusuke, Penuela Silvia, Laird Dale W, Mizukami Shin, Kikuchi Kazuya, Kakizuka Akira	4. 巻 9
2. 論文標題 Single-cell dynamics of pannexin-1-facilitated programmed ATP loss during apoptosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e61960
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.61960	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 Yamamoto Shinya, Yamamoto Masamichi, Nakamura Jin, Mii Akiko, Yamamoto Shigenori, Takahashi Masahiro, Kaneko Keiichi, Uchino Eiichiro, Sato Yuki, Fukuma Shingo, Imamura Hiromi, Matsuda Michiyuki, Yanagita Motoko	4. 巻 31
2. 論文標題 Spatiotemporal ATP Dynamics during AKI Predict Renal Prognosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology	6. 最初と最後の頁 2855 ~ 2869
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1681/ASN.2020050580	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 Natsubori Akiyo, Tsunematsu Tomomi, Karashima Akihiro, Imamura Hiromi, Kabe Naoya, Trevisiol Andrea, Hirrlinger Johannes, Kodama Tohru, Sanagi Tomomi, Masamoto Kazuto, Takata Norio, Nave Klaus-Armin, Matsui Ko, Tanaka Kenji F., Honda Makoto	4. 巻 3
2. 論文標題 Intracellular ATP levels in mouse cortical excitatory neurons varies with sleep/wake states	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 491
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-01215-6	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 Kamikubo Kenta, Kato Hisakazu, Kioka Hidetaka, Yamazaki Satoru, Tsukamoto Osamu, Nishida Yuya, Asano Yoshihiro, Imamura Hiromi, Kawahara Hiroyuki, Shintani Yasunori, Takashima Seiji	4. 巻 294
2. 論文標題 A molecular triage process mediated by RING finger protein 126 and BCL2-associated athanogene 6 regulates degradation of G0/G1 switch gene 2	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 14562 ~ 14573
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.008544	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 Murata Michael M., Kong Xiangduo, Moncada Emmanuel, Chen Yumay, Imamura Hiromi, Wang Ping, Berns Michael W., Yokomori Kyoko, Digan Michelle A.	4. 巻 30
2. 論文標題 NAD <sup>+</sup> consumption by PARP1 in response to DNA damage triggers metabolic shift critical for damaged cell survival	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Biology of the Cell	6. 最初と最後の頁 2584 ~ 2597
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1091/mbc.E18-10-0650	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 Yoshida Tomoki, Nakajima Hitomi, Takahashi Sena, Kakizuka Akira, Imamura Hiromi	4. 巻 4
2. 論文標題 OLive: A Genetically Encoded Fluorescent Biosensor for Quantitative Imaging of Branched-Chain Amino Acid Levels inside Single Living Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Sensors	6. 最初と最後の頁 3333 ~ 3342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssensors.9b02067	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 Nagao Takemasa, Shintani Yasunori, Hayashi Takaharu, Kioka Hidetaka, Kato Hisakazu, Nishida Yuya, Yamazaki Satoru, Tsukamoto Osamu, Yashirogi Shohei, Yazawa Issei, Asano Yoshihiro, Shinzawa Itoh Kyoko, Imamura Hiromi, Suzuki Takeo, Suzuki Tsutomu, Goto Yu ichi, Takashima Seiji	4. 巻 34
2. 論文標題 Higd1a improves respiratory function in the models of mitochondrial disorder	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 1859 ~ 1871
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201800389R	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 Kioka Hidetaka, Kato Hisakazu, Fujita Takeshi, Asano Yoshihiro, Shintani Yasunori, Yamazaki Satoru, Tsukamoto Osamu, Imamura Hiromi, Kogo Mikihiro, Kitakaze Masafumi, Sakata Yasushi, Takashima Seiji	4. 巻 34
2. 論文標題 In vivo real time ATP imaging in zebrafish hearts reveals G0s2 induces ischemic tolerance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 2041 ~ 2054
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201901686R	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 Morciano Giampaolo, Imamura Hiromi, Patergnani Simone, Pedriali Gaia, Giorgi Carlotta, Pinton Paolo	4. 巻 155
2. 論文標題 Measurement of ATP concentrations in mitochondria of living cells using luminescence and fluorescence approaches	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Methods in Cell Biology	6. 最初と最後の頁 199 ~ 219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.mcb.2019.10.007	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15件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 今村博臣、大坪史歩、西田水穂、竹川宣宏、今田勝巳
2. 発表標題 緑色蛍光タンパク質から赤色蛍光タンパク質を創り出す
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第47回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今村博臣
2. 発表標題 Imaging of ATP dynamics inside living and dying cells
3. 学会等名 第5回日本循環器学会基礎研究フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今村博臣、大坪史歩、西田水穂、竹川宣宏、今田勝巳
2. 発表標題 緑色蛍光蛋白質由来赤色蛍光蛋白質の開発
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大坪史歩、今村博臣、竹川宣宏、今田勝巳
2. 発表標題 緑色蛍光蛋白質AzamiGreen由来赤色蛍光蛋白質の結晶構造解析に基づく赤色蛍光団形成の構造基盤
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今村博臣、大坪史歩、竹川宣宏、今田勝巳
2. 発表標題 単一細胞ATP濃度イメージングによって明らかとなったアポトーシス細胞内ATP濃度のダイナミクスとその制御
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 大坪史歩、竹川宣宏、今村博臣、今田勝巳
2. 発表標題 緑色蛍光蛋白質AzamiGreen変異体における赤色蛍光発生の構造基盤
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今村博臣、大坪史歩、竹川宣宏、今田勝巳
2. 発表標題 緑色蛍光タンパク質由来赤色蛍光タンパク質の創出
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今村博臣
2. 発表標題 アポトーシスにおいてパネキシン 1 によって駆動されるプログラムされたATP減少の単一細胞イメージング
3. 学会等名 光塾2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今村博臣、坂本修一朗、垣塚彰
2. 発表標題 単一細胞ATP濃度イメージングによって明らかにされたアポトーシス時の細胞内ATP減少におけるパネキシン 1 の役割
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第46回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今村博臣
2. 発表標題 蛍光バイオセンサーによる生細胞内代謝物イメージング
3. 学会等名 日本分析化学会第68年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiromi Imamura, Tomoki Yoshida, Hitomi Nakajima, Sena Takahashi, Akira Kakizuka
2. 発表標題 Genetically encoded fluorescent biosensor for branched-chain amino acids
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今村博臣
2. 発表標題 蛍光バイオセンサーで解き明かす細胞内代謝
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米満茜、垣塚彰、今村博臣
2. 発表標題 蛍光変化のダイナミックレンジを増大させたFRET型バイオセンサーの開発
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第45回討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiromi Imamura
2. 発表標題 Imaging of metabolites inside living cells
3. 学会等名 Academia Sinica - Kyoto University Bilateral Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiromi Imamura
2. 発表標題 Genetically encoded fluorescent biosensors for understanding of metabolism at single cell level
3. 学会等名 2nd WPI-NanoLSI Special Seminar (招待講演)
4. 発表年 2020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

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