

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：32659

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07198

研究課題名(和文) ミトコンドリアのゲノム構造と遺伝暗号解読システムの進化に伴う尾索動物の進化

研究課題名(英文) Evolution of Urochordates inferred from mitochondrial genome structure and mitochondrial genetic code decoding system

研究代表者

横堀 伸一 (Yokobori, Shin-ichi)

東京薬科大学・生命科学部・講師

研究者番号：40291702

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：尾索動物のミトコンドリア(mt)遺伝情報系の進化の基づく尾索動物の系統解析を行った。オタマボヤ綱に注目し、そのmtゲノムの配列決定を行ったが、rRNA遺伝子とtRNA遺伝子を見いだすことができなかった。また、mt蛋白質遺伝子に基づいて尾索動物の分子系統解析を行うと、進化速度の系統間の違いの影響が少ないCATモデルに基づくベイズ法による解析で、極端に進化速度が速いオタマボヤ綱とタリア綱サルパ目は単系統群にならず、オタマボヤ綱はホヤ綱壁性目とグループを作った。また、マボヤHalocynthia roretzi等のmt-tRNAのcDNA解析を行い、それらのtRNAの発現の有無を検証した。

研究成果の概要(英文)：Molecular phylogenetic analyses of Urochordates based on the evolution of urochordate mitochondrial genetic system were performed. Appendicularian mitochondrial genomes were targets for the sequencing determination in this study. However, no tRNA and rRNA genes were found on the appendicularian mitochondrial genome sequences determined. In addition, we performed molecular phylogenetic analysis based on the mitochondrial protein gene sequences with Bayesian method under the CAT model. Appendicularians appeared to form monophyletic group with Enterogonan ascidians, although fast-evolving appendicularians and sales (Thaliacea, Salpida) tend to form a group in molecular phylogenetic trees (long branch attrition). Furthermore, the expression of Halocynthia roretzi (Ascidacea, Enterogona) mitochondrial tRNAs had been analyzed by synthesizing cDNAs of these tRNAs.

研究分野：進化生物学

キーワード：オタマボヤ綱 ミトコンドリアゲノム tRNA rRNA

## 1. 研究開始当初の背景

一般に後生動物ミトコンドリア(mt)ゲノムは 37 種の遺伝子をコードする 15~18 kbps の環状 DNA である。後生動物 mt ゲノムのコードする遺伝子の数と種類は比較的一定であるが、遺伝子配置は多様である。遺伝子配置変化のホットスポットとして、tRNA 遺伝子が挙げられてきた[Yokobori et al. (2006) MPE 40: 8]。

申請者等はこれまで、尾索動物 mt ゲノム全塩基配列の決定決定と、それに基づくゲノム構造、遺伝暗号、tRNA 遺伝子とその転写産物の進化の解析、並びに分子系統解析を進めてきた[Yokobori et al. (1993) JME 36: 1; Kondow et al. (1999) NAR27: 2554; Yokobori et al. (1999) Genet. 153: 1851; Yokobori et al. (2003) JME 57: 574; Yokobori et al. (2005) MPE 34: 273; Suzuki et al. (2011) JBC 286: 35494; Hirose et al. (2009) Coral Reefs 28: 119]。特に、尾索動物 mt 特異的な遺伝暗号表(AUA=Met, UGA=Trp, AGA/AGG=Gly)を初めて報告した[Yokobori et al. (1993)]。

尾索動物 mt ゲノムの多様性と tRNA 遺伝子:尾索動物 mt ゲノムの基本遺伝子セットは 13 蛋白質、2 rRNA、24 tRNA 遺伝子(計 39 種)である。しかし、既知の尾索動物 mt ゲノムのコードする遺伝子数は、蛋白質遺伝子は 9~13 種、rRNA 遺伝子は 0~2 種、tRNA 遺伝子は 0~27 種と種間で大きく異なり、その配置も異なる。

タリア綱サルパ目の *Ritteriella* spp. mt ゲノムは *atp8* 遺伝子を [未発表データ]、ホヤ綱腸性目ナツメボヤ科の *Phallusia* spp. や *Ascidia* spp. mt ゲノムは tRNA<sup>Asp</sup> 遺伝子をコードしていない[Iannelli et al. (2007) BMC Evol. Biol. 7: 155]。

オタマボヤ綱オタマボヤ科のワカレオタマボヤ *Oikopleura dioica* mt ゲノムでは、mRNA 編集の存在と 9 種の蛋白質遺伝子の存在が報告されている[Denoeud et al. (2010) Science 330: 1381]。しかし、この報告がされている *O. dioica* ゲノムドラフト論文では mt ゲノムの塩基配列は公開されておらず、*O. dioica* mt ゲノム上に tRNA、rRNA の遺伝子がコードされているかは明らかではない。また、申請者等は、ナガオタマボヤ *Oikopleura longicauda* 2 個体について、別々に mtDNA の塩基配列を決定した [未発表データ]。*O. dioica* mt ゲノム同様に 9 種の蛋白質遺伝子のみが見いだされ、tRNA と rRNA 遺伝子は *O. longicauda* mt ゲノム上に見いだされなかった。しかし、*Oikopleura* spp. mt 遺伝暗号表は他の尾索動物 mt と同一であると考えられ、もし、mt ゲノムに tRNA 遺伝子がコードされていないのであれば、それがどのようにして実現しているのかそのメカニズムは不明である。

尾索動物 mt ゲノムに基づく分子系統解析:4 種の mt 蛋白質遺伝子に基づく尾索動物の分子系統解析より、蛋白質遺伝子数の減少したオタマボヤ類やサルパで進化速度が

極度に速いことを明らかにした。

以上のように、尾索動物 mt ゲノムは、後生動物 mt ゲノムの多様性とその進化を研究する上でよい研究対象である。また、この様に多様な mt ゲノム構造は、尾索動物の進化を考える上で重要な形質であると期待される。

## 2. 研究の目的

尾索動物の進化過程で、どのように mt ゲノムの構造(遺伝子構成並びに遺伝子配置)の多様化を生じたのか、その可塑性の幅の分子的基盤を明らかとする。そのため、mt ゲノム構造変化のホットスポットである tRNA 遺伝子の消長を、その産物が存在し機能しているかに基づき解析する。また、tRNA 遺伝子とその産物の解析より、尾索動物の mt 特有の遺伝暗号解読システムの維持がどう為されているか、検討する。これらの結果を、尾索動物を含めた分子系統解析(主として mt ゲノム)結果と統合し、尾索動物の進化の枠組みの元、尾索動物 mt ゲノムの多様性と mt 遺伝暗号解読システムの維持を明らかにする。

A. 尾索動物 mt における tRNA 遺伝子レパートリーの多様性の解明

- 全コドンのカバーするには足りない tRNA 遺伝子セットを持つ mt ゲノム(例: *Ascidia* spp.)について、tRNA 編集等を検討し、遺伝暗号表の解読に必要な tRNA セットを特定する。
- さらに、mt tRNA 遺伝子が全く報告されていないオタマボヤ綱について、*F. haplostoma* mt ゲノムや未解析のオタマボヤ綱の mt ゲノムの全塩基配列を決定する。*O. dioica* や *O. longicauda* 同様 rRNA 遺伝子などの遺伝子が mt ゲノム上に見いだされない場合、*O. dioica* や *O. longicauda* も対象として、第 2、第 3 の mt ゲノムの存在や大規模な RNA 編集等の可能性を検討する。Apicomplexa 類の mt ゲノムに見られるような rRNA 遺伝子の断片化と位置のシャフリングの可能性も検討する。
- 基本的な 24 種を超える数の tRNA 遺伝子をコードしている尾索動物 mt ゲノム(例: *H. roretzi*) に関し、その過剰な tRNA 遺伝子産物が tRNA として本当に発現しているか検討する。

B. 尾索動物の mt ゲノム配列に基づく分子系統解析:上記の様にオタマボヤ綱 mt ゲノムの全塩基配列を決定し、これを加えた尾索動物 mt ゲノムのコードする蛋白質遺伝子の一次配列に基づく分子系統解析を行う。その結果に基づき、尾索動物の進化・放散経路を考察する。

C. 尾索動物の系統進化解析に基づく、mt ゲノム構造並びに mt 遺伝暗号解読システムの進化経路の解明:A と B の解析結果を総合し、尾索動物の進化に基づき、mt ゲノムの遺伝子構成/構造多様性の経路を明らかにする。

同様に、尾索動物 mt 遺伝暗号表の解読が tRNA 遺伝子の mt ゲノム上での存在状況に関わらずどのように実現しているか、その進化を検討する。

### 3. 研究の方法

A. オタマボヤ類 (例: サイツチボヤ類、*Oikopleura rufescens* 等) の mt ゲノムの配列決定と mt 遺伝子の全セットの同定: オタマボヤ綱 サイツチボヤ科 ホソサイツチボヤ *Fritillaria haplostoma* の mt ゲノムの配列決定を進めると共に、以下の手法で他のオタマボヤ綱 mt ゲノムの塩基配列の決定を進める。

- (a) 既知の尾索動物 mt ゲノムの塩基配列に基づいて設計した一次配列の保存性の高い遺伝子の部分配列増幅用縮重プライマーを用いて、*cox1* (チトクロム酸化酵素サブユニット I)、および *cob* (チトクロム b) 遺伝子の部分配列を PCR で増幅し、その配列を決定する。
- (b) (a) で得られた配列を元に PCR プライマーを設計し、mt ゲノムの全領域を long PCR で増幅する。その後、shotgun sequencing、primer walking その他の手法を駆使し、全塩基配列を決定する。
- (c) オタマボヤ類の mt ゲノムでは、*O. dioica* や *O. longicauda* の場合のように、rRNA 遺伝子や tRNA 遺伝子が mt ゲノム上に見いだされないことが予想される。しかし、これまで、mt rRNA 遺伝子が mt ゲノムにコードされていない例はオタマボヤ類以外に報告例がない。Mt rRNA 遺伝子が見いだされていなかった Apicomplexa 類では、断片化した mt rRNA 遺伝子が見いだされている。そこで、rRNA 遺伝子の保存配列をプローブとする Southern hybridization、RNA に対する Northern hybridization などの解析や、mt-rRNA の RT-PCR (reverse transcription PCR) 等による mt-rRNA (遺伝子) の検出を試みる。Mt-rRNA (遺伝子) が検出されれば、その際に得られた情報に従って、その遺伝子配列を含む mt ゲノムのクローニング、配列決定を試みる。

B. 尾索動物 mt ゲノムに見られる過剰な tRNA 遺伝子の発現解析と、mt 遺伝暗号表の完全な解読に必要な tRNA (遺伝子) セットの探索: 既報のナツメボヤ科ホヤ (*Ascidia* spp., *Phallusia* spp. 等) の mt ゲノムは tRNA<sup>Asp</sup> 遺伝子を欠くと報告されている。一方、マボヤ *Halocynthia roretzi* やサルバ *Ritteriella* spp. では、同一アンチコドンを持つ tRNA 遺伝子が複数存在する。それらの遺伝子の数の異同は尾索動物 mt ゲノムのゲノム構造の多様化の過程で生じたものである。これらの mt ゲノムから解析対象を選び、下記の解析を行う。

- (a) 「過剰」な tRNA 遺伝子と「tRNA 様」遺伝子の発現と機能の解析: tRNA 遺伝子の推定数が 24 を超える mt ゲノムについて、同定された tRNA 遺伝子を、RT-PCR

で解析し、それが実際に発現しているか、明らかにする。最初のターゲットはマボヤ *H. roretzi* とする。RT-PCR 解析では、環状化 tRNA を鋳型とすることで、機能型 tRNA に必須の CCA 末端の付加の有無を確認できる。tRNA のアクセプターシステムが遺伝子レベルではミスマッチに富み、安定なステム構造がとれないように考えられる場合でも、tRNA 編集の結果塩基対形成が可能になり、安定したステム構造をとる場合がある。

- (b) Mt ゲノムからの tRNA 遺伝子の消失を相補するシステムとして、tRNA 編集による他の tRNA 遺伝子産物の改変による tRNA の新生の他に、ミトコンドリアからの tRNA の移入が考えられる。Mt tRNA 遺伝子がフルセット揃っていないが、核ゲノムドラフトの報告されている *O. dioica* や *Phallusia* spp. について、核ゲノムからミトコンドリアに移入される tRNA (遺伝子) の候補を探索する。

C. 尾索動物 (オタマボヤ綱以外) の mt ゲノムの解析: 尾索動物の進化や尾索動物 mt ゲノムの進化について検討する上で鍵となるオタマボヤ綱以外のグループから種を選び、mt ゲノムの全塩基配列を決定する。手法は A に準ずる。

D. 尾索動物の mt ゲノムに基づく分子系統解析: A 並びに C にて得られた尾索動物 mt ゲノム配列を加え、mt ゲノムの配列情報に基づく分子系統解析を順次進める。

E. 総合的解析 (尾索動物の mt ゲノムの比較ゲノム解析とゲノム構造の多様化の経路の解明): 上記の、尾索動物 mt ゲノムのゲノム構造の比較、mt 遺伝子に基づく分子系統解析、tRNA 遺伝子の発現の解析、を総合して検討し、尾索動物 mt ゲノムの構造多様性とその起源、並びに尾索動物 mt 遺伝暗号の解読機構の進化、について考察する。その上で、尾索動物 mt ゲノムの様々な特徴 (分子系統解析の結果、ゲノム構造、tRNA 遺伝子の種類と構造、など) を基にして、尾索動物の系統進化について、考察する。また、他の後生動物 mt ゲノムと比較するとともに、mt ゲノムの維持に関わる核ゲノムにコードされた蛋白質因子等についても、必要に応じてゲノムプロジェクトの成果を利用して、考察する。

### 4. 研究成果

A. オタマボヤ類の mt ゲノムの配列決定と mt 遺伝子の全セットの同定

- (a) オタマボヤ綱 サイツチボヤ科として初めて、ホソサイツチボヤ *Fritillaria haplostoma* の mt ゲノムの塩基配列を決定した。*F. haplostoma* mt ゲノムとして、2 種の環状 DNA の塩基配列が得られた。他の尾索動物を含む後生動物 mt 遺伝子との比較から、12 種のタンパク質遺伝子を同定した。これは、オタマボヤ綱オタマボヤ科の *Oikopleura longicauda* の mt

ゲノム上に9種のタンパク質遺伝子が同定されていること、*Oikopleura dioica* mt ゲノムが9種のタンパク質遺伝子をコードしていることが報告されていることに比べて、遺伝子の数が多い。

- (b) *O. dioica* について、公表されてるゲノムドラフト中に mt ゲノムが含まれていない[Denoeud et al. (2010)]ことから、mt ゲノムを再解析することとした。*O. dioica* mt ゲノムについて、mRNA 編集が存在することが報告されている[Denoeud et al. (2010)]ことから、まず、mtRNA 配列の解析を行った。Wang ら[Wang et al. (2015) Dev. Genes Evol. 225: 149], の *O. dioica* RNA-Seq データに対して、*O. longicauda* と *F. haplostoma* mt タンパク質遺伝子配列を用いて Blast 検索を行ったところ、8種のタンパク質遺伝子に対応する配列が同定された。これらの配列を改めて *O. dioica* ゲノムドラフトの配列に対して Blast 検索を行ったが、対応する配列は見いだされなかった。一方、Onuma らによる *O. dioica* ゲノムの HiSeq データに対して8種のタンパク質遺伝子に対応する RNA-seq で得られた配列を用いて Blast 検索を行うと、多数のリードがヒットした。これらを解析すると、*O. dioica* mt タンパク質遺伝子には、mRNA が成熟するまでには除去される配列を含んでいることが改めて明らかになった。それらは、RNA 編集によって除去されると考えられる。

- (c) *F. haplostoma*, *O. dioica*, *O. longicauda* 以外のオタマボヤ類についても、mtDNA の配列決定を試みた。これまで、上記のオタマボヤ類の他に5種類のオタマボヤ類の mtDNA の部分配列 (cob と *cox1* 遺伝子の部分配列) を PCR で増幅し、それらの配列を決定した。これらの配列に基づき long PCR 用プライマーを設計し、Long PCR を行い、増幅した PCR フラグメントについて、配列決定を順次試みてきた。しかし、極端に塩基組成が偏っており、同一塩基が 10 塩基以上連続するなどの Sanger 法などでの塩基配列決定法にとって難読の領域が多く、今後 1 分子シーケンシング等の手法を適用する必要があると考えられる。

#### B. 尾索動物 tRNA 遺伝子の発現解析

環状化したマボヤ *Halocynthia roretzi* の mt-tRNA の cDNA を作成し、その配列を決定した。*H. roretzi* tRNA<sup>Asp</sup> 遺伝子は、その配列から複数の一部異なる二次構造 (クローバーリーフ構造) の可能性が示唆されていたが、cDNA 解析より、アンチコドンステムが 6 対なのにも関わらず、アクセプターステムと D ステムの間に 2 塩基、D ステムとアンチコドンステムの間に 1 塩基という、典型的なクローバーリーフ構造から逸脱した構造であることが推定された。また、*H. roretzi* mt ゲノム

上に同定された 2 種の tRNA<sup>Phe</sup> 遺伝子のうち、一方の遺伝子産物の cDNA が得られないことから、この遺伝子は偽遺伝子である可能性が示唆された。

また、*H. roretzi* やカタコウレイボヤ *Ciona intestinalis* の核ゲノムを探索すると、tRNA<sup>Arg</sup> よりも tRNA<sup>Gly</sup> に高い配列類似性を持つ UCU アンチコドンを持つ tRNA (様) 遺伝子が見いだされた。

#### C. 尾索動物の mt ゲノムに基づく分子系統解析

オタマボヤ綱の 3 種、*F. haplostoma*, *O. longicauda*, *O. dioica* に共通する 8 種の蛋白質遺伝子を他の尾索動物を含む後生動物 mt 蛋白質遺伝子に加えて、蛋白質遺伝子配列データを連結して分子系統解析を行った。その結果、最尤法では、オタマボヤ綱はタリア綱サルパ目と姉妹群を作った。オタマボヤ綱とタリア綱サルパ目は共に他の尾索動物よりも進化速度が早く、long branch attraction によって、姉妹群なつたと考えられる。進化速度の系統間での違いの影響が少ないとされる CAT-Poisson model に基づくベイズ法による解析では、オタマボヤ綱はホヤ綱壁性目 (マボヤ目) とクレードを作り、サルパ目はタリア綱 + ホヤ綱腸性目 (マメボヤ目) に含まれる。しかし、この解析では、オタマボヤ綱は壁性目の群内群として現れる。より多くのオタマボヤ類の mt 配列データを加えることで、オタマボヤ綱の系統学的位置が明らかになることが期待される。

#### E. 総合的解析

オタマボヤ綱の mt ゲノムの解析では、これまで tRNA と rRNA 遺伝子が見いだされていない。mt 蛋白質遺伝子を見いだした *O. dioica* RNA-Seq データに対する Blast 検索でも、mt rRNA と考えられる配列は見いだされなかった。これまで、rRNA 遺伝子がコードされていない全塩基配列が決定された mt ゲノムは後生動物に限らず知られておらず、オタマボヤ類の mt-rRNA の検出は、mt ゲノム進化を考える上で、重要である。

一方、mt-tRNA をアミノアシル化するアミノアシル tRNA 合成酵素は、すべて核ゲノムにその遺伝子がコードされ、ミトコンドリア外で合成され、ミトコンドリアに運ばれる。グリシル tRNA 合成酵素は、単一遺伝子から細胞質型と mt 型酵素が合成されることが知られている。tRNA<sup>Gly</sup> 遺伝子に高い配列類似性を示す UCU アンチコドンを持つ tRNA (様) 遺伝子が *H. roretzi* や *C. intestinalis* 核ゲノムに見いだされる。アンチコドン UCU を持つ tRNA は、これらのミトコンドリア内では tRNA<sup>Gly</sup> として機能する。核ゲノムにコードされた tRNA<sup>Gly</sup> 遺伝子に高い配列類似性を示す UCU アンチコドンを持つ tRNA (様) 遺伝子が実際に発現するのか、その場合、どのようなアミノ酸に対応するのかは、尾索動物における翻訳系の進化を理解するために重要な問題である。もし、これが機能する tRNA<sup>Gly</sup>

であるなら、核・細胞質における翻訳系で遺伝暗号表の攪乱が生じていることが考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

- 1) **Hashimoto, T., D. D. Horikawa, Y. Saito, H. Kuwahara, H. Kozuka-Hata, T. Shin-I, Y. Minakuchi, K. Ohishi, A. Motoyama, T. Aizu, K. Abe, T. Horiuchi, A. Enomoto, K. Kondo, S. Tanaka, Y. Hara, S. Koshikawa, H. Sagara, T. Miura, S. Yokobori, K. Miyagawa, S. Sugano, Y. Suzuki, T. Kubo, M. Oyama, Y. Kohara, A. Fujiyama, K. Arakawa, T. Katayama, A. Toyoda, & T. Kunieda** (2016) Extremotolerant tardigrade genome and improved radiotolerance of human cultured cells by tardigrade-unique protein. *Nature Comm.* 7: 12808 (DOI: 10.1038/ncomms12808)
- 2) **Ozawa, M., S. Shimamura, Y. Takagi, S. Yokobori, T. Maeda, T. Maruyama & T. Yoshida** (2016) Updated mitochondrial phylogenomics of Pteriomorphia and Heterodonta in Bivalvia, including deep-sea chemosymbiotic *Bathymodiolus* mussels, vesicomid clams, and the thyasirid clam *Conchocele* cf. *bisecta*. *Marine Genomics* (in press)
- 3) **Tokishita, S., H. Shibuya, T. Kobayashi, M. Sakamoto, J.-Y. Ha, S. Yokobori, H. Yamagata, & T. Hanazato** (2017) Diversification of mitochondrial genome of *Daphnia galeata* (Cladocera, Crustacea): comparison with phylogenetic consideration of the complete sequences of clones isolated from five lakes in Japan. *Gene* (in press).
- 4) **Nagao, A., M. Ohara, K. Miyauchi, S. Yokobori, A. Yamagishi, K. Watanabe, & T. Suzuki** (2017) Hydroxylation of a conserved tRNA modification contributes to establishment of non-universal genetic code in echinoderm mitochondria. *Nature Struc. Mol. Biol.* 4(9):778-782

[学会発表](計 8 件)

- 1) **横堀伸一、渡辺公綱**。後生動物ミトコンドリア遺伝暗号からみた遺伝暗号の進化。第17回日本進化学会大会。東京。(2015/08)
- 2) **横堀伸一、山岸明彦、西野敦**。尾索動物 *Fritillaria haplostoma* ミトコンドリアゲノム構造。第86回日本動物学会年会。新潟。(2015/09)
- 3) **横堀伸一、広瀬裕一、倉林敦、山岸明彦**。尾索動物 *Rhopalaea* sp. ミトコンドリアゲ

ノムの解析に基づく尾索動物とそのミトコンドリアゲノムの進化。日本進化学会第18回大会。東京(大岡山)。(2016/08)

- 4) **横堀伸一**。尾索動物の分子系統解析とアミノアシルtRNA合成酵素、tRNAの解析。2016年度ホヤの研究会。豊中。(2016/10)
- 5) **横堀伸一, S., A. Yamagishi, & A. Nishino**. Molecular phylogenetic analysis of Fritillariidae (Appendicularia, Urochordata) based on the 18S rRNA gene sequence and mitochondrial genome of *Fritillaria haplostoma*. ICZ/ZSJ joint meeting (The 22nd International Congress of Zoology & The 87th Meeting of Zoological Society of Japan). Onnason & Ginowan, Okinawa, Japan. (2016/11)
- 6) **横堀伸一、笠原享祐、大塚玄航、西野敦雄、小沼健、西田宏紀、山岸明彦、尾索動物オタマボヤ綱ミトコンドリアゲノムの進化**。日本進化学会第19回大会。京都。(2017/8)
- 7) **横堀伸一、笠原享祐、大塚玄航、西野敦雄、小沼健、西田宏紀、山岸明彦**。18SrRNA 遺伝子並びにミトコンドリアゲノムに基づくオタマボヤ綱の分子系統解析。日本動物学会第88回大会。富山。(2017/09)
- 8) **横堀伸一**。遺伝暗号の多様性とその進化、2017年生命の起原および進化学会 & 日本アストロバイオロジーネットワーク夏の学校。三鷹。(2017/9)

[図書](計 1 件)

- 1) **横堀伸一** (2018) ミトコンドリア DNA の進化。(日本動物学会編) 動物の百科事典。丸善(印刷中)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)  
取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.ls.toyaku.ac.jp/~lcb-7/yokobori/index.html>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

横堀 伸一 (Yokobori, Shin-ichi)  
東京薬科大学・生命科学部・講師  
研究者番号: 40291702