

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06499

研究課題名（和文）染色体構築におけるコンデンシン I の作用機序の解明

研究課題名（英文）Mechanism of condensin I's action in mitotic chromosome assembly

研究代表者

木下 和久（Kinoshita, Kazuhisa）

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・専任研究員

研究者番号：60447886

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000 円

研究成果の概要（和文）：分裂期染色体構築におけるコンデンシン I の分子メカニズムの解明を目指し、組換え型サブユニットから再構成したコンデンシン I 複合体をカエル卵抽出液の無細胞系に導入し、個々のサブユニットの役割とサブユニット間の機能的クロストークを明らかにした。変異型複合体のループ押し出し活性の解析の結果、カエル卵抽出液で観察される二つの対照的な欠損表現型はループ押し出し活性の違いでは説明出来ないことがわかった。分裂期染色体構築にはループ押し出しメカニズムだけでは十分でなく、コンデンシン間相互作用がループ間の反発に拮抗して働くことが重要であることを示唆しており、新たな分子モデルとして提唱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分裂期染色体の構築のメカニズムは、そのプロセス自体が細胞の生存に必須であるという本質的な性質のために解析方法が限られており未解明のままであった。本研究成果の意義は、技術的困難を克服し染色体構築に中心的役割を担うコンデンシンの分子作用機構を詳細に明らかにした点にある。本研究独自のアプローチによって新たに示された分子活性を組み入れた染色体構築の分子モデルを提唱しており、今後さらなる研究の発展が期待される。

研究成果の概要（英文）：Condensin I is a five-subunit protein complex that plays a central role in mitotic chromosome assembly in eukaryotic cells. By using *Xenopus* egg extracts as a functional assay, we find that condensin I complexes harboring mutations in its kleisin subunit CAP-H produce chromosomes with confined axes in the presence of topoisomerase II and highly compact structures (termed “beans”) with condensin-positive central cores in its absence. The SMC ATPase cycle and CAP-D2 are essential for such hyper-compaction. Loop extrusion activities of the mutant complexes cannot explain the chromosomal defects they exhibit in *Xenopus* egg extracts, implying that a loop extrusion-independent mechanism contributes to condensin I-mediated chromosome assembly and shaping.

研究分野：分子生物学 細胞生物学

キーワード：染色体 細胞周期 細胞分裂

1. 研究開始当初の背景

真核細胞のゲノム DNA が細胞周期分裂期において高度に折り畳まれる過程は、染色体構築と呼ばれ、複製された一対のゲノム DNA が正確かつ迅速に娘細胞に分配されるために必須である。この過程に中心的役割を果たすのがコンデンシン (condensin) と呼ばれる五つのサブユニットからなる分子複合体である (Hirano 2016 Cell 164:847)。多くの真核生物は二種類のコンデンシン (コンデンシン I と II) を持つ。それぞれの複合体は、二つの SMC ATPase サブユニット (SMC2-SMC4) と三つの non-SMC サブユニット (kleisin サブユニットと二種の HEAT サブユニット) から構成される (図 1 a 参照)。コンデンシンの機能は細胞の生育に必須であり、いずれのサブユニットの欠失変異も同様な染色体分離異常を起こして致死となるため、従来の遺伝学的手法では各サブユニット固有の役割を理解することは困難であった。一方、初期の生化学的研究においてカエル卵抽出液やヒト培養細胞から精製した複合体を用いていくつかの知見が得られていたが、天然型の複合体を用いる限りその収量は限られ、変異を導入し機能検定するようなアプローチは不可能であった。このような背景から、組換えサブユニットから出発して機能的なコンデンシン複合体を再構成できる実験系の確立が長らく待ち望まれていた。そこで、研究代表者はバキュロウイルスの昆虫細胞タンパク質発現系を用いて組換え体サブユニットからなるコンデンシン複合体の発現・精製手法の確立に着手し、最終的に高純度・高収量のコンデンシン I のホロ複合体の再構成に成功した。野生型のホロ複合体と共に、HEAT サブユニットを欠失したサブ複合体と SMC ATPase サブユニットに変異を導入したアミノ酸置換変異型複合体を再構成し、内在性のコンデンシンを完全に除去したカエル卵抽出液に添加し比較解析することによって、コンデンシン I の個々のサブユニット独自の機能を組織的に検定できるアッセイ系を確立した (Kinoshita et al 2015 Dev Cell 33:94)。この先行研究では、コンデンシン I の五つのサブユニットのうち、SMC2-4 ATPase 二量体の果たす役割と二つの HEAT サブユニットの拮抗的作用の重要性が明らかになったが、その一方で残る kleisin サブユニットの機能については不明なままであった。これは kleisin サブユニットがホロ複合体中で SMC2-4 二量体と HEAT サブユニットの両者を繋ぐハブ的役割を担っており、kleisin サブユニットを単独で欠失するような四量体のサブ複合体を再構成することが構造的に不可能なためであった。そこで kleisin サブユニット CAP-H の機能を明らかにする目的で、CAP-H の特定部位にアミノ置換変異を導入する mutagenesis によるアプローチをおこなった。この mutagenesis による一連の解析から、CAP-H の中央領域にあるモチーフ III と名付けられたドメインが重要な貢献をしていることが明らかになった。CAP-H を含め、コンデンシン I の機能における全てのサブユニット固有の役割を理解する手掛かりを得られる実験系を確立できたことが、本研究課題の立案と実現につながった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、組換えサブユニットから再構成した複合体を用いてコンデンシン I による染色体構築の分子メカニズムを理解することにある。野生型と変異型の複合体をカエル卵抽出液の無細胞系に導入することにより、コンデンシン I の個々のサブユニットの役割とサブユニット間の機能的クロストークを明らかにする。さらに各種変異型複合体のループ押し活性を一分子解析により明らかにし、カエル卵抽出液での解析結果と比較検討することにより、染色体構築の過程をコンデンシン I の動態・作用機序という視点から分子解剖する。

3. 研究の方法

主に以下の二つの方法によって研究を進めた。

(1) 組換えサブユニットへの置換変異導入と変異型サブユニットを含む複合体の再構成

コンデンシン I を構成する五つのサブユニットのうち目的のサブユニットの昆虫細胞発現用コンストラクトに任意のアミノ酸置換変異を導入する mutagenesis をおこなった。この変異型コンストラクトをバキュロウイルスの昆虫細胞発現系に導入し、他の組換えサブユニットと共に発現および精製することにより目的の変異を含むホロ複合体およびサブ複合体を得た。

(2) 各種変異型複合体のカエル卵細胞抽出液を用いた染色体形成アッセイによる機能解析

分裂期カエル卵抽出液から内在性の *Xenopus* コンデンシンを免疫除去し、その抽出液 (Δ cond extract) 中に (1) で再構成した複合体と、基質としてマウス精子核由来の DNA を添加し、分裂期染色体形成における複合体の活性・機能を検定した。また精子核 DNA の絡み合いが解けない環境を強制的に作り出すために、コンデンシンに加えてトポイソメラーゼ II を免疫除去した抽出液 (Δ cond Δ topo II extract) を調製し同様なアッセイをおこなった。

4. 研究成果

(1) CAP-H サブユニットの中央領域ドメインによる HEAT サブユニットの制御メカニズムの解明

コンデンシン I の機能における CAP-H サブユニットの役割を明らかにする目的で、CAP-H の特定部位にアミノ置換変異を導入する mutagenesis をおこなった。アミノ酸置換変異を導入するにあたり、真核生物種間で進化的に保存された CAP-H の五つのドメイン構造 (モチーフ I-V と呼ぶ) に注目した (図 1 a, b)。このうち特に高度に保存されているモチーフ II, III, IV 中の芳香族アミノ酸残基を親水性のグルタミン残基 (Q) に置換した五種類の変異体を作製し、さらに各種変異を持つ CAP-H を昆虫細胞発現系において他のサブユニットと共発現することにより五種類の変異型複合体を再構成した。この変異型複合体をカエル卵抽出液に導入し機能検定をおこなったところ、CAP-H の中央領域 (モチーフ III) にグルタミン残基置換変異 (III6Q) を導入した複合体 (holo[H-III6Q]; 図 1 c, d) において極めて特徴的な染色体形成異常が観察されることがわかった。マウス精子核を基質として用いた場合、holo(H-III6Q) は野生型 holo(WT) の作る染色体に比べて細く不完全な軸が形成される。特に興味深いことに、カエル卵抽出液からトポイソメラーゼ II を免疫除去し (Δ topo II)、精子核 DNA の絡み合いが解けない環境を強制的に作り出した条件下において、holo(H-III6Q) は絡み合った DNA がさらにコンパクトに過凝縮した「豆 (bean)」状の構造を形成することがわかった (図 2 a 上)。この時、holo(H-III6Q) は DNA 基質の中心 (コア) 付近に凝集・集積する (図 2 a 下)。この「豆」表現型 (bean phenotype) は、H-III6Q 変異型ホロ複合体の SMC 二量体の ATP 結合部位に変異を導入すると観察されず、「豆」表現型が SMC ATPase の加水分解サイクルに依存することが示された。

さらに CAP-H のモチーフ III の機能が、二つの HEAT サブユニット CAP-D2 と CAP-G の拮抗作用にどのような影響を及ぼしているのかを明らかにするため、H-III6Q 置換変異と HEAT サブユニット欠失を組み合わせた変異型サブ複合体を作製した。各種変異体をトポイソメラーゼ II 非存在下のカエル卵抽出液に添加すると、CAP-D2 を欠失したサブ複合体 (Δ D2[H-III6Q]) では「豆」表現型が観察されず、対照的にもう一方の CAP-G を欠失したサブ複合体 (Δ G[H-III6Q]) では「豆」状構造が形成された (図 2 b, c)。CAP-D2 と CAP-G 両方を欠失したサブ複合体 (Δ D2 Δ G[H-III6Q]) ではやはり「豆」表現型が見られないことと合わせて、「豆」表現型で見られる DNA の過凝縮が CAP-D2 の機能に依存することが示された。逆に CAP-G は「豆」表現型に必須では無いものの、CAP-D2 の機能を抑制することによって CAP-G が DNA の過凝縮を抑制する方向に働くことが示唆された。興味深いことに、H-III6Q 変異を持たない CAP-G 欠失サブ複合体 (Δ G[WT]) でも CAP-D2 の機能に依存した「豆」表現型が観察されることがわかった (図 2 d)。以上の解析から、CAP-H のモチーフ III は CAP-G の機能制御を通して、CAP-D2 の活性を抑制する方向に働いていることが示された。すなわちモチーフ III は、CAP-D2 と CAP-G の拮抗作用において適切なバランスを制御する役割を担っていると考えられる。

(2) 染色体構築に必須な CAP-D2 サブユニットと SMC4 サブユニット間の相互作用の機能の解明

(1) で見出された「豆」表現型がどのような分子メカニズムによって生み出されるのかを明らかにするため、「豆」表現型に必須であることが示された CAP-D2 の機能に注目し解析を進めた。CAP-D2 はほぼその全長にわたり HEAT リピート (~21-22 ユニット) が並んだ構造を持ち、その繰り返しの終わるカルボキシル末端 (C 末端) 側に天然変性領域 (IDR: intrinsically disordered

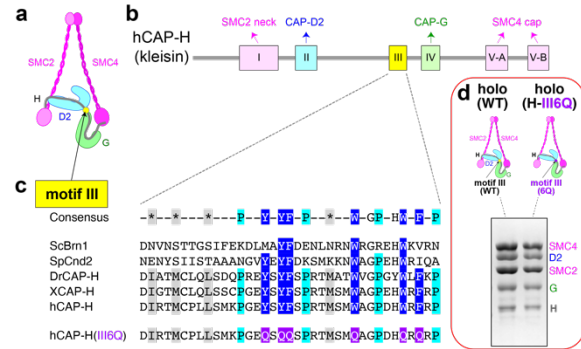


図 1 (a) コンデンシン I のサブユニット構成. (b) CAP-H (kleisin) サブユニットのドメイン構造. (c) モチーフ III の真核生物種の野生型アミノ酸配列と III6Q 変異体の配列の比較. (d) 再構成された野生型と H-III6Q 変異型ホロ複合体 (CBB 染色 SDS ゲル).

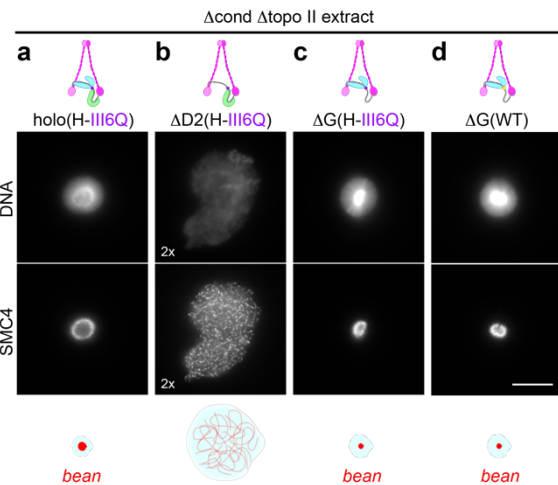


図 2 内在性コンデンシンとトポイソメラーゼ II を免疫除去したカエル卵抽出液 (Δ cond Δ topo II extract) に (a) holo(H-III6Q)、(b) Δ D2(H-III6Q)、(c) Δ G(H-III6Q)、(d) Δ G(WT)、およびマウス精子核を添加した場合の染色体構造の比較 (上段: DNA、下段: SMC4)。パーは 10 μ m。

domain) を持つ。また構造解析から 8 番目と 9 番目の HEAT リピートの間に「proboscis」と呼ばれる helical ドメインが同定されていた (Hassler et al 2019 Mol Cell 74:1175)。また同じ構造解析の研究から、18 番目と 19 番目の HEAT リピートの間に「KG ループ (KG-loop)」と名付けられた高度に保存されたドメインが SMC4 サブユニットの「W ループ (W-loop)」と呼ばれるドメインと相互作用することが報告されていた。我々は HEAT リピート構造以外の特徴的な CAP-D2 のドメインが「豆」表現型に関与しているのでは無いかと予想し、C 末端の IDR と proboscis をそれぞれ除いた欠失変異型 CAP-D2 二種類 (D2- Δ C92, D2- Δ prb453-911) に、KG ループにアミノ酸置換変異を導入した置換変異型 CAP-D2 (D2-KG mut) を加えた三種類の CAP-D2 変異体を作製し、これらの変異を含む CAP-G 欠失サブ複合体

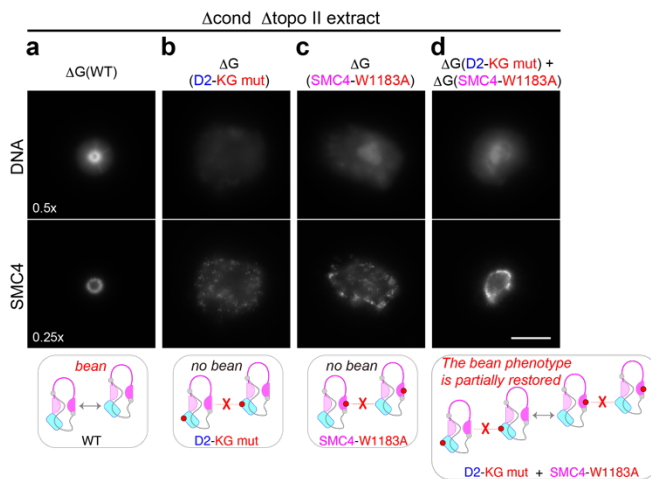


図3 内在性コンデンシンとトポイソメラーゼ II を免疫除去したカエル卵抽出液 (Δ cond Δ topo II extract) に (a) Δ G(WT)、(b) Δ G(D2-KG mut)、(c) Δ G(SMC4-W1183A)、(d) Δ G(D2-KG mut) 50% + Δ G(SMC4-W1183A) 50%、およびマウス精子核を添加した場合の染色体構造の比較 (上段:DNA、下段:SMC4)。バーは 10 μ m。

(Δ G[D2- Δ C92]、 Δ G[D2- Δ prb453-911]、 Δ G[D2-KG mut]) を再構成した。この D2 変異体 Δ G 三種と Δ G(WT) をトポイソメラーゼ II 非存在下のカエル卵抽出液に添加すると、 Δ G(D2- Δ C92) と Δ G(D2- Δ prb453-911) では Δ G(WT) と同様の「豆」構造が形成されるのに対し、 Δ G(D2-KG mut) では DNA の過凝縮は起こらず複合体のコア領域への集中も起こらないことがわかった (図 3 a, b)。

上記の結果は、CAP-D2 のドメインのうち KG ループが「豆」表現型に必須であることを示していた。前述したように KG ループは SMC4 の W ループと相互作用することが報告されていたことから、我々は SMC4 の W ループについても置換変異 (SMC4-W1183A) を導入した SMC4 変異体を作製しこれを含む CAP-G 欠失サブ複合体 (Δ G[SMC4-W1183A]) を再構成した。これをトポイソメラーゼ II 非存在下の卵抽出液に添加すると、やはり Δ G(D2-KG mut) と同様に「豆」表現型が見られなくなることがわかった (図 3 c)。この結果は、CAP-D2 の KG ループと SMC4 の W ループを介したサブユニット間の相互作用が、「豆」表現型に必須な役割を果たすことを強く示唆していた。この CAP-D2 と SMC4 サブユニット間の相互作用は、元々の構造解析による研究およびこれに続くクライオ EM による解析においても一つのコンデンシン I 複体内での相互作用を想定していた (Hassler et al 2019 Mol Cell 74:1175; Lee et al 2020 Nat Struct Mol Biol 27:743)。しかしながら、我々はこの KG ループと W ループを介した CAP-D2 と SMC4 間の相互作用は、一つの複体内だけではなく、異なる複数のコンデンシン I 複体内でも起きているのでは無いかと考えた。そして、「この複体内間の相互作用は、トポイソメラーゼ II 非存在下では『豆』構造のコア領域へのコンデンシン I の凝集を、トポイソメラーゼ II が存在する通常の条件では、染色体構造の軸領域への集積を引き起こしているのでは無いか」という作業仮説を立て、これを検証することにした。検証実験として、CAP-D2 の KG ループの変異体と SMC4 の W ループの変異体を 50%ずつ混ぜた条件でカエル卵抽出液に添加する混合実験をおこなったところ、トポイソメラーゼ II 非存在下で Δ G(D2-KG mut) 50% と Δ G(SMC4-W1183A) 50% を同時に添加すると、それぞれを単独で添加した条件に比べて「豆」表現型が部分的に回復することがわかった (図 3 d)。さらに、トポイソメラーゼ II が存在する通常の条件で holo(D2-KG mut) 50% と holo(SMC4-W1183A) 50% を同時添加すると、それぞれを単独で添加した条件に比べて、より明確に単分離した染色体を形成し軸構造も野生型に近づくことがわかった。以上の二つの混合実験の結果は、各々の変異型複合体が単独で作用しているだけでなく、KG ループと W ループの組み合わせのうち変異を持たない正常機能を持つ一方のループ同士が異なる変異型複体内間で相互作用することを示唆している (図 3 d 下部参照)。我々自身の先行研究も含め、これまで様々なサブユニット間のクロストークが明らかになっていたが、本研究のアプローチによって、一複体内のみならず異なる複体内間で起こるサブユニット間の機能的クロストークの重要性を示す証拠が初めて提示されたとと言える。

(3) コンデンシン I による分裂期染色体形成はループ押出しとは独立の分子活性が関与する

上記(1)、(2)の解析において作製・再構成した様々な変異体の表現型解析の結果をまとめると、これらの変異は染色体の hyper-compaction を引き起こす変異群 (Class I) と、対照的に hypo-compaction を引き起こす変異群 (Class II) の 2 つに大別できることがわかった (図 4 a)。Class I には、CAP-H のモチーフ III 変異体 H-III6Q のほか同様のモチーフ III 付近に置換変異を持つ変異体 (H-III4D, H-BC1/2D) と CAP-G の欠失変異 (Δ G) が含まれ、いずれもトポイソメラーゼ II 非存在下では「豆」構造を形成する。一方の Class II には、CAP-D2 の KG ループ変異と SMC4 の W ループ変異に加え CAP-D2 の欠失変異 (Δ D2) が含まれる。この二つの対照的な表現型が生み出される分子的背景として、CAP-D2 と SMC4 サブユニットを介したコンデンシン間相互

作用のメカニズムを想定している。

我々のコンデンシン間相互作用モデルとは別に、近年コンデンシン研究分野における有力な仮説として、コンデンシンがそのループ押し出し (loop extrusion) 活性によってループを形成し、それが繰り返されることによって棒状の分裂期染色体が形成されるというモデルが注目を集めてきた (Goloborodko et al 2016 eLife 5:e14864)。実際、出芽酵母のコンデンシンやヒトのコンデンシン I と II を用いた一分子解析からループ押し出し活性が検出されていた (Ganji et al 2018 Science 360:102; Kong et al 2020 Mol Cell 79:99)。そこで我々が作製・再構成した各種変異複合体が、どの程度ループ押し出し活性を保持しているのかどうか、特に Class I と Class II の二つの変異グループで違いが見られるかどうか注目して調べることにした。

名古屋大学・西山朋子博士のグループとの共同研究によって、組換えサブユニットから再構成したコンデンシン I のループ押し出し活性を測定するための一分子解析に着手した。蛍光色素で標識した野生型と変異型複合体を調製し、U字型の DNA を基質としてループ押し出し活性を全反射照明蛍光顕微鏡 (TIRF) によって検出した。我々の実験条件では、野生型複合体 holO (WT) は約 30-50% の U 字型 DNA に ATP 依存的にループを形成させることが出来た。この holO (WT) をコントロールとして、まず hyper-compaction を引き起こす Class I の二つの変異体 holO (H-III6Q) と ΔG (WT) についてループ押し出し活性を調べたところ、holO (H-III6Q) の holO (WT) のおよそ半分の頻度でループ形成を誘導できるのに対し、 ΔG (WT) ではループ形成がほとんど見られないことがわかった。同様に hypo-compaction を引き起こす Class II 変異体、holO (D2-KG mut) と holO (SMC4-W1183A) および $\Delta D2$ (WT) をループ押し出しアッセイに供した。その結果、holO (D2-KG mut) と holO (SMC4-W1183A) では holO (WT) に比べて 20-30% の低い頻度でループ形成が見られる一方で、 $\Delta D2$ (WT) では ΔG (WT) と同様にほぼループ形成が起こらなかった。興味深いことに、holO (H-III6Q) で形成されたループは若干安定性が低くループが維持される時間が短いことを除き、ループ押し出しの速度や形成されるループのサイズは holO (WT) の場合とほとんど変わらない。holO (D2-KG mut) と holO (SMC4-W1183A) もほぼ同様で一旦ループが形成されると、ループ形成頻度以外のパラメーターに大きな違いは見られないことがわかった (図 4 b)。したがって、カエル卵抽出液の染色体形成アッセイで観察される二つの対照的な欠損表現型はループ押し出し活性の違いでは説明出来ないと結論した。

以上の結果から、現在我々は次のようなモデルを立てている。二つの変異群の違いは前述の CAP-D2 と SMC4 を介したコンデンシン I の複合体間相互作用の差異によるものであり、Class II ではその複合体間相互作用が欠損しているのに対し、逆に Class I では相互作用が亢進されていると考えられる。このコンデンシン I の複合体間相互作用による引力と、ループ押し出しにより形成された染色体ループ間の排除体積効果による斥力が拮抗して作用することにより分裂期特有の染色体の棒状の形態が作られると考えており、今後さらにこのモデルを検証していきたい。

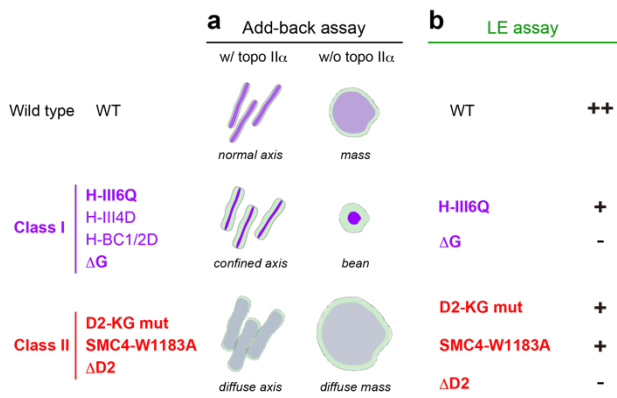


図 4 コンデンシン I の変異体は対照的な二つの変異群 (Class I および Class II) に分類できる。(a) カエル卵抽出液を用いた染色体形成アッセイ (Add-back assay) において観察される表現型のまとめ。(b) 一分子解析によるループ押し出しアッセイ (LE assay) におけるループ形成頻度の比較。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Kinoshita Kazuhisa, Tsubota Yuko, Tane Shoji, Aizawa Yuuki, Sakata Ryota, Takeuchi Kozo, Shintomi Keishi, Nishiyama Tomoko, Hirano Tatsuya	4. 巻 221
2. 論文標題 A loop extrusion-independent mechanism contributes to condensin I-mediated chromosome shaping	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 e202109016
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1083/jcb.202109016	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 Yoshida Makoto M, Kinoshita Kazuhisa, Aizawa Yuuki, Tane Shoji, Yamashita Daisuke, Shintomi Keishi, Hirano Tatsuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Molecular dissection of condensin II-mediated chromosome assembly using in vitro assays	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e78984
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.78984	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 Tane Shoji, Shintomi Keishi, Kinoshita Kazuhisa, Tsubota Yuko, Yoshida Makoto M, Nishiyama Tomoko, Hirano Tatsuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Cell cycle-specific loading of condensin I is regulated by the N-terminal tail of its kleisin subunit	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e84694
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.84694	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3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木下和久、坪田 侑子、田根 将志、相澤 由有希、坂田 凌大、竹内 康造、新富 圭史、西山 朋子、平野達也
2. 発表標題 コンデンシン間相互作用がループ押出しと拮抗して分裂期染色体を形づくる
3. 学会等名 第39回染色体ワークショップ・第19回核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazuhisa Kinoshita
2. 発表標題 A loop extrusion-independent mechanism contributes to condensin I-mediated chromosome shaping
3. 学会等名 Biological Symposium in National Institute of Genetics (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuhisa Kinoshita
2. 発表標題 Mitotic chromosome shaping by the condensin complexes
3. 学会等名 RIKEN Pioneering Project “Biology of Intracellular Environments” Workshop
4. 発表年 2023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