

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：63904

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03189

研究課題名（和文）高次クロマチン構造の確立と維持を制御する分子機構

研究課題名（英文）Molecular mechanisms underlying heterochromatin assembly

研究代表者

中山 潤一（Nakayama, Jun-ichi）

基礎生物学研究所・クロマチン制御研究部門・教授

研究者番号：60373338

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、分裂酵母のヘテロクロマチン形成に重要なヒストンH3K9メチル化酵素Clr4と、Clr4を含むCLRC複合体に着目し、それらの活性や機能がどのように制御されているか検討を行った。その結果、Clr4はC末端のSETドメインを含む領域を介して、CLRC複合体の構成因子の一つと直接相互作用することを明らかにした。また、Clr4のメチル化活性が、自身のN末端領域とC末端領域の分子内相互作用によって、自己制御されていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

真核細胞の染色体に存在するヘテロクロマチンは、染色体の機能やゲノム恒常性の維持、エピジェネティックな遺伝子発現制御に重要な役割を果たしている。ヒストンのメチル化修飾はヘテロクロマチンの重要なマークであり、そのメチル化修飾の制御機構を明らかにする本研究は、高次生命現象を理解する上で重要な課題である。本研究は、ヒストンのメチル化酵素Clr4の制御機構の一端を明らかにした画期的な成果であり、進化的に保存されたヒストンメチル化酵素の活性制御の分子機構の理解にもつながる成果である。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused on Clr4, a histone H3K9 methyltransferase that plays an important role in heterochromatin assembly in fission yeast, and the Clr4 methyltransferase complex (CLRC), and examined how their activities and functions are regulated. We found that Clr4 interacts directly with one of the CLRC components via the C-terminal SET domain-containing region. We also found that the methyltransferase activity of Clr4 is autoregulated by intramolecular interactions between its N- and C-terminal regions.

研究分野：分子生物学

キーワード：遺伝子 発現制御 ヘテロクロマチン 分裂酵母 ヒストン修飾

1. 研究開始当初の背景

真核生物の染色体に存在するヘテロクロマチンは、染色体の機能やゲノムの恒常性維持に必要な構造であり、その基本的な構造は酵母からヒトまで広く保存されている。ヘテロクロマチンには特徴的なヒストンのメチル化修飾 (H3K9me) が存在し、この修飾を認識するヘテロクロマチンタンパク質 HP1 を中心にして、高次のクロマチン構造が形成されている。分裂酵母は高等真核生物と良く似たクロマチン構造上の特徴を有し、ヘテロクロマチン構造を研究する上で優れたモデル生物である。分裂酵母のメチル化酵素である Clr4 は、遺伝学的、生化学的な解析から、Rik1, Cul4, Raf1, Raf2 と相互作用することが明らかにされ、この複合体は CLRC (Clr4 complex) と名付けられた。構成要素のひとつである Cul4 は、Cullin ファミリーに属する E3 ユビキチン化酵素であることから、Clr4 の活性にユビキチン化との機能的な関連が示唆されていたが、その基質やユビキチン化と H3K9me との関連は明らかにされていなかった。

先行して実施した研究 (基盤研究(B)、2014-2017 年度) において、分裂酵母からアフィニティー精製した CLRC を用いて、*in vitro* ユビキチン化アッセイを行うことで、CLRC がヒストン H3 の 14 番目のリジン (H3K14) を特異的にユビキチン化することを発見した。さらにこの研究を展開して、ユビキチン化されたヒストン H3 (H3K14ub) が実際に分裂酵母のヘテロクロマチン領域に存在すること、*in vitro* のメチル化アッセイ系によって、H3 のユビキチン化修飾が Clr4 の H3K9 メチル化活性を促進することを明らかにした。

上述した研究によって CLRC による H3K14 のユビキチン化が分裂酵母のヘテロクロマチン形成に重要なことが明らかになったが、Clr4 の活性がどのようにユビキチンによって促進されるのか、Clr4 はどのように CLRC の他の構成因子と結合しているについては不明であった。そこで、先行研究 (基盤研究(B)、2017~2019 年度) では上記研究を発展させ、まず *in vitro* のメチル化アッセイによって、ユビキチン化されたヒストン H3 の認識には、Clr4 の N 末端領域が重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、CLRC の構成要素である Rik1 にタグを付加した分裂酵母において、別のタグを付加した Clr4 を発現させ、その細胞抽出液を用いたプルダウンアッセイによって、Clr4 の SET ドメインを含む C 末端領域が Rik1 (CLRC) との相互作用に重要なことを明らかにした。

2. 研究の目的

本研究では、分裂酵母のヘテロクロマチン形成に重要な役割を果たすヒストンメチル化酵素 Clr4 と、Clr4 を含む CLRC 複合体に着目し、Clr4 はどのように CLRC 複合体の他の構成因子と相互作用しているのか、Clr4 のメチル化活性がどのように Clr4 自身の N 末端領域によって制御されているのか、CLRC 複合体はどのような生化学的特性を持っているのか、という 3 つの問題に焦点を絞って解析を進めることで、進化的に保存されたヒストンメチル化酵素の活性制御の分子機構とヒストンのメチル化とユビキチン化のクロストークを明らかにし、ヘテロクロマチン構造の確立と維持に関わる普遍的な分子機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ヒストンメチル化酵素 Clr4 と CLRC 複合体の関連の解明

先行研究では、Clr4 がどのように CLRC の構成要素と相互作用しているか明らかにするため、FLAG タグを付加した種々の Clr4 の部分欠損変異体を、Rik1-13myc を発現する分裂酵母株で発現させ、それぞれの細胞株から細胞抽出液を調製して免疫沈降、ウェスタンブロッティング (IP-western) 法で検討することで、CLRC との相互作用には Clr4 の SET ドメインを含む C 末端領域が重要なことを明らかにした。本研究では、Clr4 の SET ドメインを含む C 末端側の領域が、CLRC 複合体のどの構成因子と相互作用しているのかを明らかにするため、酵母ツーハイブリッド法によって検証を行った。Clr4 の全長、あるいは Clr4 の C 末端領域と、CLRC の構成因子である、Rik1、Raf1、Raf2、Cul4 のいずれかを発現させ、相互作用が見られるか選択培地での増殖の有無から評価を行った。また、実際に相互作用が検出できたら、その構成因子のどの領域が Clr4 の C 末端領域との相互作用に関与しているのか、各種欠損変異体を酵母ツーハイブリッド法で検討した。実際に、結合に関与している領域が同定できたら、その結合領域を欠損させた変異体を分裂酵母で発現させて、ヘテロクロマチンのサイレンシングへの影響をスポットアッセイ法によって検証した。

(2) Clr4 の N 末端領域による活性制御機構の解明

先行研究において、ユビキチン化されたヒストン H3 の認識には、Clr4 の N 末端領域のクロモドメイン (CD) と、この CD に隣接する天然変性領域 (IDR) が重要な役割を果たすことを明らかにした。この結果は Clr4 自身の活性が Clr4 の N 末端領域によって負に制御されている

ことを示唆している。そこで Clr4 の活性制御と N 末端の関与を明らかにするために、CD を含む Clr4 の N 末端領域をグルタチオン S トラंसフェラーゼ (GST) との融合タンパク質として、また活性ドメインを含む C 末端領域をマルトース結合タンパク質 (MBP) との融合タンパク質として大腸菌で発現させ、それぞれのリコンビナントタンパク質をアフィニティー精製法によって調製した。次に GST プルダウンアッセイ法によって、Clr4 の N 末端領域と C 末端領域が相互作用するか検討した。実際に結合を確認することができたら、N 末端のどの領域が C 末端との結合に関与しているのか、部分欠損変異体を GST 融合タンパク質として発現、精製して、プルダウンアッセイ法によって結合の有無を調べた。

さらに Clr4 の N 末端と C 末端の結合に関わる領域や残基を明らかにするため、クロスリンク質量分析法によって検討した。全長の Clr4 を、まず MBP との融合タンパク質として発現精製し、TEV プロテアーゼを処理して精製することで、MBP の部分を取り除いた全長の Clr4 を調製した。次に調製した Clr4 にクロスリンカー (BS3) を処理して、分子内のリジン残基をクロスリンクさせた後、ゲル濾過での分離、トリプシンでの処理の後、質量分析を行うことで、分子内で相互作用する残基の同定を試みた。実際にクロスリンクされる残基が特定できたら、次に、Clr4 の N 末端領域の中で分子内相互作用に関与していると考えられる候補アミノ酸を別のアミノ酸置換させた、変異リコンビナントタンパク質を調製して、GST プルダウンを行うことで、同定した残基が実際に C 末端領域との相互作用に関与しているか検証した。

同定したアミノ酸残基が、プルダウンアッセイによって相互作用に関与していることが確認できたら、次にこの残基に変異を入れた全長の Clr4 をリコンビナントタンパク質として調製して、この変異 Clr4、ヒストン H3 の N 末端 1~20 アミノ酸を N 末端側に融合させた GST (H3N-GST) を基質に、³H ラベルした S-アデノシルメチオニン (³H-SAM) をメチル基のドナーに用いて *in vitro* のメチル化アッセイを行うことで、Clr4 の N 末端領域と C 末端領域の相互作用が減弱した変異 Clr4 の活性がどのように変化するか確認した。また、同じ変異を導入した変異 Clr4 を分裂酵母で発現させ、ヘテロクロマチン領域 (接合型遺伝子座とペリセントロメア) に挿入したマーカーのサイレンシングを調べることで、変異 Clr4 の細胞内での機能を検討した。

(3) ヒストンメチル化酵素複合体 CLRC の機能解析

Clr4 を含む CLRC 複合体は、DNA 修復で重要な役割を果たしている CUL4-DDB1 複合体と構造的に良く似た特徴を持つことが示唆されているが、その複合体の生化学的、構造学的な性質はほとんど明らかにされていない。上述した、Clr4 と CLRC の結合の様式を解析する結果を検証するため、また CLRC 複合体自身の構造的な特徴を明らかにするため、CLRC のアフィニティー精製法の改良を試みた。

まず、Rik1 にタンデムアフィニティー・タグ (TAP タグ) を付加させた分裂酵母株から、IgG ビーズによる精製、TEV プロテアーゼの処理による Protein A 部分の除去、カルモジュリン・ビーズによる精製を行い、CLRC 複合体が精製できたか、ウエスタンブロット法と銀染色法、質量分析法によって解析した。次に、CLRC 全体の挙動を調べるために、Rik1-TAP に加えて、Raf1 に FLAG タグを、Raf2 に 13myc タグを付加させて発現させた分裂酵母株を作製し、この細胞を出発材料として、上記と同様に TAP 精製を行い、CLRC の精製を行った。さらに、この精製画分を濃縮して、ゲル濾過クロマトグラフィーで分離させることで、CLRC のおおよその分子量を検討した。さらに、精製のスケールアップ、ゲル濾過後の精製画分を濃縮する方法を改良して、クライオ電子顕微鏡法など構造解析に供するための試料調製法の検討を行った。

4. 研究成果

(1) ヒストンメチル化酵素 Clr4 と CLRC 複合体の関連の解明

CLRC 複合体を構成する主要因子、Rik1、Raf1、Raf2、Cul4 のうち、どの因子が Clr4 の C 末端領域との相互作用に関与しているのかを明らかにするため、それぞれの因子を酵母ツーハイブリッド用のプラスミド (pGAD あるいは pGBK) から発現させ、結合の有無を調べた。その結果、CLRC の構成因子の一つが、Clr4 の C 末端領域と相互作用することが分かった。興味深いことに、この構成因子と全長の Clr4 ではほとんど結合が検出されないことから、この因子と Clr4 の C 末端領域との結合が、Clr4 の N 末端領域によって抑制されている可能性が示唆された。さらに、この CLRC の構成因子の一つについて、予想される三次元立体構造を下にしていくつかの部分に分け、それぞれの領域のみを発現させた場合、またそれぞれの領域を欠損させて発現させた場合に、Clr4 の C 末端領域と結合するか、同じように酵母ツーハイブリッド法によって検討した。その結果、この因子の N 末端の 1~65 アミノ酸の領域が、Clr4 の C 末端領域との結合に関与していることが明らかになった。最後に、分裂酵母のヘテロクロマチン形成における、この領域の重要性を検討するため、この因子の N 末端の 1~65 アミノ酸の領域を欠損させた変異体を発現させ、ヘテロクロマチンに挿入されたマーカー遺伝子のサイレンシングを調べたところ、非常に弱い影響しか観察されなかった。この結果より、Clr4 は細胞内において、今回特定した構成因子の一つの N 末端領域に加えて、他のドメイン、あるいは別の構成因子との相互作用を介して CLRC と機能的に結びついていることが示唆された。

(2) Clr4 の N 末端領域による活性制御機構の解明

Clr4 の活性制御に Clr4 の N 末端領域がどのように関与しているかを明らかにするため、まず Clr4 の N 末端領域と C 末端領域をそれぞれ GST、MBP との融合タンパク質として発現させて、GST プルダウン法によって相互作用の有無を検討したところ、実際に Clr4 の N 末端領域と Clr4 の C 末端領域の結合が確認できた。次に、Clr4 の N 末端のどの領域が C 末端領域との相互作用に関与しているかを確認するため、Clr4 の N 末端領域について種々の部分欠損変異体を調製して、プルダウンアッセイによって結合の有無を調べたところ、CD と CD に隣接する IRD 領域が C 末端領域との結合に関与していることが明らかになった。この領域は、ユビキチン化されたヒストン H3 の認識に関わる領域として、以前同定した領域と一致することが分かった。また、CD に隣接する IRD 領域を短くしていくと、C 末端領域との結合が徐々に軽減されたことから、この領域の複数のアミノ酸残基が C 末端領域との結合に関与していることが示唆された。

次に、実際に Clr4 の N 末端領域と C 末端領域の相互作用に関与しているアミノ酸残基を同定するために、クロスリンク質量分析を行った。実際にクロスリンクされたアミノ酸残基を詳細に検討したところ、N 末端領域に関しては、CD と CD に隣接する IDR 領域に存在する複数のリジン残基が C 末端領域との相互作用に関与することが分かった。また C 末端領域の中で N 末端領域と相互作用している残基を調べたところ、活性ドメインの中でも、基質認識に関わる静電的な表面の形成に寄与している残基に集中していることが明らかになった。この結果は、Clr4 の N 末端領域の CD とそれに隣接する領域が、C 末端領域の基質認識に関わる表面と静電的な相互作用によって結合することで、基質となる H3 テイルとの結合を抑制している可能性が強く示唆された。クロスリンク質量分析で同定されたリジン残基と、近接する他の塩基性アミノ酸に着目し、それぞれのアミノ酸を、電荷を持たないアミノ酸に置換した変異リコンビナントタンパク質を調製し、GST プルダウンアッセイによって C 末端領域との相互作用を検討したところ、Block-B、Block-C と便宜的に名付けた領域のアミノ酸置換によって、C 末端領域との相互作用が劇的に減少することが明らかになった。

さらに、Clr4 の N 末端領域と C 末端領域の相互作用が、Clr4 の活性制御にどのように影響しているか明らかにするため、まず、N 末端領域と C 末端領域の相互作用が減少することが明らかになったアミノ酸置換を導入した全長の変異 Clr4 をリコンビナントタンパク質として調製し、基質として H3N-GST を、メチル基のドナーとして ³H-SAM を用いて *in vitro* メチル化アッセイを行った。その結果、アミノ酸置換を導入した変異 Clr4 が、野生型の Clr4 に比べて高い活性を示すこと、またその活性は N 末端を欠損させた C 末端領域だけの活性とほぼ同程度であることが明らかになった。以上の結果は、Clr4 の N 末端領域が、実際に分子内相互作用によって Clr4 の C 末端領域の活性を負に制御していることを強く示唆する結果と考えられる。

最後に、N 末端領域と C 末端領域の相互作用が減弱する変異を導入した、変異 Clr4 を発現する分裂酵母株を作製して、ヘテロクロマチン領域に導入されたマーカー遺伝子のサイレンシングを評価することで、細胞内での変異 Clr4 の機能を調べた。驚いたことに、変異 Clr4 を発現する分裂酵母では、ヘテロクロマチンのサイレンシングに異常が見られることが明らかになった。以上の結果より、今回同定した N 末端領域と C 末端領域の相互作用に関与する領域/残基は、細胞内において、酵素活性の自己抑制に加えて、さらに別に重要な役割を果たしている可能性が強く示唆された。

(3) ヒストンメチル化酵素複合体 CLRC の機能解析

上述した、Clr4 と CLRC の結合の様式を解析する (1) の結果を検証するため、また CLRC 複合体自身の構造的な特徴を解析するため、CLRC のアフィニティー精製法の改良を試みた。まず、これまでと同じ方法で TAP タグを付加した分裂酵母から細胞抽出液を調製し、TAP 法によって CLRC を精製した。実際に精製した画分を質量分析で解析することで、過去に同定された CLRC の構成因子、Raf1、Raf2、Cul4、Clr4 のペプチドが確認できたことから、CLRC が先行研究と同じように精製できたと判断した。次に、FLAG タグを付けた Raf1 と、13myc タグを付加した Raf2 を同時に発現する分裂酵母株を作製し、この細胞の細胞抽出液を出発材料にして同じように TAP 法によって CLRC 複合体を精製した。この精製分画を限外ろ過法によって濃縮し、ゲル濾過クロマトグラフィーで分画して、その溶出フラクションをそれぞれウエスタンブロット法で調べることで、各構成因子の挙動を確認した。その結果、Raf2-13myc は 660 kDa~440 kDa の間にピークを持って溶出されることが分かった。この見かけ上の大きさは、CLRC の全ての構成要素の総和から算出される分子量よりも大きいことから、このピークが細胞内での CLRC 複合体を反映したものであることが示唆された。また 440 kDa よりも小さい大きさの所にも Raf2-13myc のシグナルが検出されたことから、この精製分画が、一部の構成因子を欠いた、部分複合体も含んでいることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakamura Rinko, Nakayama Jun-ichi | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 Regulation of the SUV39H Family Methyltransferases: Insights from Fission Yeast | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Biomolecules | 6. 最初と最後の頁 593 ~ 593 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom13040593 | 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 Nakamura Rinko, Nakayama Jun-ichi | 4. 巻 171 |
| 2. 論文標題 Multiple interfaces to recognize nucleosomal targets | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry | 6. 最初と最後の頁 257 ~ 259 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab139 | 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 Kyoko Hiragami-Hamada, Naoki Tani, Jun-ichi Nakayama | 4. 巻 2161 |
| 2. 論文標題 Proteomics-Based Systematic Identification of Nuclear Proteins Anchored to Chromatin via RNA | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology | 6. 最初と最後の頁 89-99 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-0680-3_8 | 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 Dong Cheng, Nakagawa Reiko, Oyama Kyohei, Yamamoto Yusuke, Zhang Weilian, Dong Aiping, Li Yanjun, Yoshimura Yuriko, Kamiya Hiroyuki, Nakayama Jun-ichi, Ueda Jun, Min Jinrong | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Structural basis for histone variant H3tK27me3 recognition by PHF1 and PHF19 | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 eLife | 6. 最初と最後の頁 e58675 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.58675 | 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 |

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Rinko Nakamura, Yuriho Yoshimura, Reiko Nakagawa, Jun-ichi Nakayama |
| 2. 発表標題 Mechanisms regulating Clr4/SUV39H histone methyltransferase activity |
| 3. 学会等名 Japan-UK Regulation through Chromatin Conference (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Jun-ichi Nakayama |
| 2. 発表標題 Histone modifications and higher-order chromatin assembly |
| 3. 学会等名 NIBB-COS Workshop in Heidelberg (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 中村凜子、吉村ゆり子、中川れい子、中山潤一 |
| 2. 発表標題 ヒストンメチル化酵素Clr4の活性制御機構の解析 |
| 3. 学会等名 第95回日本生化学会大会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 中村凜子、吉村ゆり子、中川れい子、中山潤一 |
| 2. 発表標題 ヒストンメチル化酵素Clr4の活性制御機構の解析 |
| 3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会 (MBSJ2022) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 中村凜子、吉村 ゆり子、中山 潤一 |
| 2. 発表標題 分裂酵母のヒストンメチル化酵素Clr4の活性制御機構の解析 |
| 3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第54回研究報告会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 中村凜子、吉村ゆり子、中川れい子、中山潤一 |
| 2. 発表標題 ヒストンメチル化酵素Clr4の活性制御機構の解析 |
| 3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 中村 凜子、吉村 ゆり子、中川 れい子、中山 潤一 |
| 2. 発表標題 ヒストンメチル化酵素 Clr4 の活性制御機構の解析 |
| 3. 学会等名 第39回染色体ワークショップ・第20回核ダイナミクス研究会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Rinko Nakamura, Yuriiko Yoshimura, Reiko Nakagawa, Jun-ichi Nakayama |
| 2. 発表標題 Mechanisms regulating Clr4 histone methyltransferase activity |
| 3. 学会等名 The 30th Hot Spring Harbor International Symposium, Chromatin Potential in Development and Differentiation & The 6th Symposium of the Inter-University Research Network for Trans-Omics Medicine (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 蜂須賀亜紀、沖昌也、中山潤一 |
| 2. 発表標題 分裂酵母ヒストンメチル化酵素複合体CLRCの機能解析 |
| 3. 学会等名 第53回 酵母遺伝学フォーラム |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 蜂須賀亜紀、沖昌也、中山潤一 |
| 2. 発表標題 分裂酵母ヒストンメチル化酵素複合体CLRCの機能解析 |
| 3. 学会等名 日本分子生物学会 第43回年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 蜂須賀亜紀、沖昌也、中山潤一 |
| 2. 発表標題 分裂酵母ヒストンメチル化酵素複合体CLRCの機能解析 |
| 3. 学会等名 第14回 日本エピジェネティクス研究会年会 |
| 4. 発表年 2021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 | | | |
|---------|----------------------------|--|--|--|
| カナダ | University of Toronto | | | |
| 中国 | Tianjin Medical University | | | |