

令和 5 年 6 月 30 日現在

機関番号：12701

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03191

研究課題名（和文）超高感度in cell NMRによるヒト生細胞内蛋白質の立体構造解析

研究課題名（英文）Protein structure analysis in human cell using advanced in-cell NMR techniques

研究代表者

児嶋 長次郎 (KOJIMA, Chojiro)

横浜国立大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号：50333563

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）：蛋白質の分子機能は立体構造によって制御されている。NMRは細胞内の蛋白質を細胞が活着している状態のまま構造解析できる唯一の手法であるが、生細胞内での蛋白質の構造解析は再現性や検出感度に問題があり、今までヒト細胞中での構造決定の成功例はない。そこで、本研究では独自技術で超高感度化に成功した生細胞内NMR法(in vivo/in cell NMR)を用いてヒト生細胞内蛋白質の立体構造解析技術を開発した。また、超高感度化した生細胞内NMR法を進展させ、ヒト生細胞内の蛋白質の立体構造変化やリン酸代謝のリアルタイム計測を実現した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

蛋白質の機能は立体構造によって制御されています。NMRは細胞内の蛋白質を細胞が活着している状態のまま構造解析できる唯一の手法ですが、生細胞内での蛋白質の立体構造解析技術には再現性や検出感度に問題がありました。本研究では独自技術で超高感度化に成功したNMR技術を用い、ヒト生細胞内蛋白質の立体構造決定に成功しました。この研究成果は、生体内での蛋白質の構造解析において画期的な進展であり、蛋白質研究や医薬品開発における重要な貢献が期待されます。

研究成果の概要（英文）：The molecular functions of proteins are regulated by their three-dimensional structures. NMR is the only technique capable of analyzing the structure of proteins inside living cells while maintaining their cellular environment. However, structural analysis of proteins within living cells has been challenging, and there was no report of protein structure determination in living human cells. In this study, we developed a technique for analyzing the three-dimensional structures of proteins in human living cells using an innovative technology that achieved ultra-high sensitivity, known as in vivo/in cell NMR. Furthermore, we expanded the ultra-high sensitivity in vivo/in cell NMR method to enable real-time measurements of structural changes in proteins and phosphorus metabolism within human living cells.

研究分野：構造生命科学

キーワード：NMR 蛋白質 立体構造解析

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ヒトの細胞内で働いている蛋白質の姿は我々の知る蛋白質構造と同じなのか？

PDBには約15万件(研究開始当初)の蛋白質の立体構造情報が登録されており、生化学の教科書は蛋白質の立体構造で埋め尽くされている。しかし、PDBで入手可能な蛋白質の立体構造はほぼ全て単離精製された蛋白質から得られており、生細胞内で働いている状態の蛋白質をそのまま構造決定したものではない。本研究課題の核心をなす学術的「問い」は、生命学者が長く待ち望んできたヒト生細胞内の蛋白質の姿をそのままとらえることであり、その姿が我々の知る蛋白質構造と同じかどうか判定することである。

(2) 生細胞内 NMR 法は細胞内で働いている蛋白質をそのまま検出できるが、その立体構造決定は難しい。

代謝産物など生細胞内の物質を NMR で検出する手法(in vivo NMR)は半世紀以上前から利用されているが、生細胞内の蛋白質を NMR で直接検出する技術(in cell NMR)はこの20年ほどで開発されてきた比較的新しい手法である。大腸菌では2001年にゲーテ大 Dötsch らが、アフリカツメガエル卵母細胞では2006年にハーバード大 Wagner らと京大白川ら、昆虫細胞では2013年に首都大伊藤ら、それぞれ細胞内蛋白質の NMR 検出に成功している。(ref.1)

ヒト細胞での生細胞内 NMR 法は、2009年に京大白川らによって HeLa 細胞で開発され、2013年にフィレンツェ大 Banci らが HEK293T 細胞で、2016年にイスラエル Weizmann 研究所 Selenko らが A2780 細胞・SK-N-SH 細胞で成功している。(ref.2)

生細胞内蛋白質の立体構造決定技術は2009年に首都大伊藤らによって開発された。伊藤らは2019年に昆虫細胞中での立体構造決定にも成功しているが、再現性や感度不足などに起因する構造情報の不足により、成功例は大腸菌と昆虫細胞の2例に限られる。(ref.3)

(3) 電気穿孔法と独自の細胞状態最適化技術により生細胞内 NMR 法の感度が劇的に向上した。

2016年にイスラエル Weizmann 研究所 Selenko らが発表した生細胞内 NMR 法は、細胞外から安定同位体標識した精製蛋白質を電気穿孔法で導入して NMR 検出する手法である。この方法は他の手法と比較すると非常に容易かつ効率的で、多種多様な細胞に適用できることから、世界中に広まりつつある。しかし、多量の蛋白質を細胞導入すると細胞生存率が大幅に下がり、蛋白質導入直後から数時間に渡って NMR 信号に大きな経時変化が現れることから、構造決定への利用は難しい。(ref.2)

研究代表者らはこの10年間、京大白川・朽尾らの協力を得て生細胞内 NMR 法の技術開発を続けてきた。再現性や検出感度の問題で長らく困難を極めていたが、阪大医学部で10年以上の研究キャリアを持つ児玉の参画を得て、劇的な技術革新に成功した。鍵となったのは独自開発の細胞状態最適化技術とネッパジーン社(国産ベンチャー)の電気穿孔法であり、すでに従来法の約10倍の感度(測定時間で約100分の1、最短1分未満)を達成している。研究代表者らの細胞状態最適化技術は in vivo NMR 法にも有効であり、1分未満の時間分解能で生細胞内リン酸代謝や蛋白質の構造変化のリアルタイム検出が可能である。

(4) 機械学習で強化された独自の全自動 NMR 構造解析システムは専門家を凌駕しつつある。

蛋白質の立体構造の約1割、核酸の約4割が NMR で決定されているが、NMR 構造解析の自動化は他の手法に比べ大きく遅れている。そこで研究代表者は NMR 構造解析技術で世界をリードするゲーテ大の Güntert 教授、阪大(現理研)の小林直宏准教授らと国際共同研究チームを組み、約7年間にわたって全自動 NMR 構造解析システムの開発を進め、高性能ソフトウェアの開発と構造解析評価軸の確立により世界に先駆け NMR 構造解析の完全自動化に成功した。(Kobayashi N *et al.* Bioinformatics 2018)

さらに、研究代表者らは、機械学習を NMR ピーク選抜に適用することで、専門家による手作業と同程度以上の精度で全自動 NMR 構造解析が可能であることを発見した。特に感度不足の NMR データでは機械学習が専門家の手作業精度を凌駕しており、感度不足が想定される生細胞内 NMR 法では特に有効であると期待される。この機械学習で強化された全自動 NMR 構造解析システムは非常に強力で、我々の研究グループでは専門家による手作業からの置き換えが進んでおり、すでに新規フォールドを含む10種類以上の構造決定に成功している。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ヒト生細胞内での蛋白質の静的な高分解能構造と動的な構造変化を解析する2つの生細胞内 NMR 技術を開発し、「ヒトの細胞内で働いている蛋白質の姿は我々の知る蛋白質構造と同じなのか？」という問いに答えることにある。具体的には、独自技術で超高感度化に成功した生細胞内 NMR 法と高度な立体構造解析技術を組み合わせ、ヒト生細胞内蛋白質の高分解能構造解析技術を開発するとともに、ヒト生細胞内蛋白質の立体構造変化やリン酸代謝のリアルタイム計測技術を開発し、バッファー中での結果と比較する。

3. 研究の方法

本研究では、(1)分子量 6 千のモデル蛋白質 GB1 と HeLa 細胞を用い、ヒト生細胞内 NMR の高品質データの取得方法と高度な NMR 構造解析手法を詳細に検討することで、生細胞内蛋白質の立体構造解析技術を確立する。また、(2) 2D 1H-15N HSQC スペクトルを用いて 15N 核の緩和時間解析を行い、生細胞内蛋白質の主鎖の運動性評価技術を確立する。さらに、(3)時間分解能の高い 2D 1H-15N HSQC スペクトルと 1D 31P スペクトルを用い、ヒト生細胞内の蛋白質の立体構造変化やリン酸代謝を分単位精度でリアルタイム検出する技術を確立する。最後に、(4)バッファ中とヒト細胞中での立体構造や運動性の違いを明らかにするとともに、蛋白質間相互作用や蛋白質薬剤相互作用など分子間相互作用の違いについても解析を進める。

4. 研究成果

(1) 生細胞内蛋白質の立体構造解析技術の確立

高品質な NMR データを得るために、電気穿孔法を用いて安定同位体標識蛋白質を大量に生細胞内に導入した。電気穿孔法には細胞生存率の低下という欠点があるが、ネッパジーン社の細胞導入装置では細胞生存率が大幅に向上するため、これを利用した。また、細胞状態を最適化する独自のプロトコルを用いることで、細胞導入率と細胞生存率を向上させ、蛋白質導入後の大きな経時変化を抑制した。この結果、再現性 100%・細胞生存率 95%以上・世界最高感度(1 分未満で測定可能)という夢のようなヒト生細胞内 NMR 法の確立に成功した(図 1)。これら世界最高品質の生細胞内 NMR データを 2D NOESY によって丁寧に解析することで、HeLa 細胞中のモデル蛋白質 GB1 の立体構造解析に成功した(図 2)。

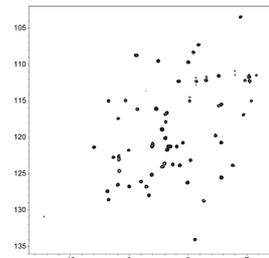


図 1. 超高感度ヒト生細胞内 NMR スペクトル (測定時間 4 分)。従来法の 10 倍の感度で測定できる。

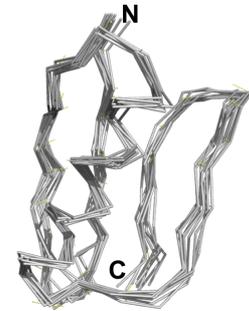


図 2. HeLa 細胞中の GB1 の NMR 構造

(2) 生細胞内蛋白質の運動性評価技術の確立

研究代表者らが超高感度化に成功したヒト生細胞内 NMR 法ではバッファ中で測定可能な NMR 実験法の多くがそのまま利用可能である。そこで、バッファ中での運動性評価技術を生細胞内蛋白質に流用した。NMR で蛋白質の運動性を評価する代表的な手法である主鎖 15N 核の緩和時間測定実験は、2D 1H-15N HSQC スペクトルを定量的かつ大量に測定する必要のある感度の悪い実験であるが、研究代表者らの手法を用いることでヒト生細胞内でも容易に測定でき、生細胞中とバッファ中で運動性が異なることを発見した(図 3)。

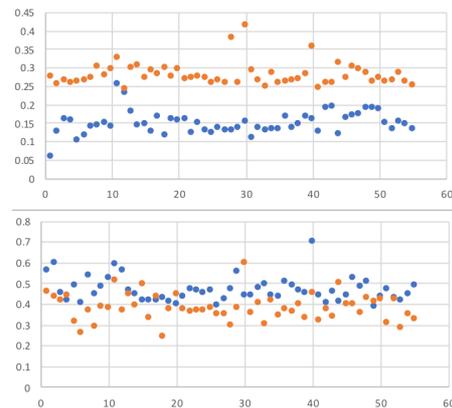


図 3. HeLa 細胞中の GB1 の 15N NMR 緩和時間

(3) 生細胞内蛋白質とリン酸代謝のリアルタイム計測

2D 1H-15N HSQC スペクトルや 1D 31P スペクトルは 1 分以内で測定可能であり、時間分解能が高い測定法である。そこで、研究代表者らが開発した超高感度化ヒト生細胞内 NMR 法を用いて 2D 1H-15N HSQC スペクトルをリアルタイム計測し、ヒト生細胞内蛋白質の立体構造変化を分単位精度で実時間解析を行うことに成功した。また、1D 31P スペクトルをリアルタイム計測し、HeLa 細胞で ATP や NADPH などリン酸含有代謝物の実時間定量解析にも成功した。

(4) ヒト生細胞内蛋白質の立体構造・運動性・分子間相互作用の特徴

バッファ中での解析結果と比較することで、(1)で生細胞内蛋白質の静的な高分解能構造の特徴を、(2)と(3)で生細胞内蛋白質の動的な構造の特徴を明らかにした。さらに、HeLa 細胞中での蛋白質薬剤相互作用のリアルタイム計測に成功しており(図 4)、創薬など様々な分野での利用が期待される。

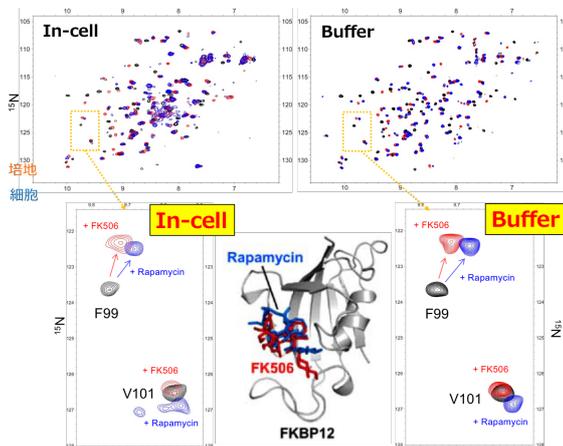


図 4. HeLa 細胞中とバッファ中での蛋白質薬剤相互作用の NMR 解析

<引用文献>

1. Serber Z *et al.* and Dötsch V. Evaluation of parameters critical to observing proteins inside living *E. coli* by in-cell NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 8895-8901 (2001); Selenko P *et al.* and Wagner G. Quantitative NMR analysis of the protein G B1 domain in *Xenopus laevis* egg extracts and intact oocytes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 103, 11904-11909 (2006); Sakai T *et al.* and Shirakawa M. In-cell NMR spectroscopy of proteins inside *Xenopus laevis* oocytes. *J. Biomol. NMR*, 36, 179-188 (2006); Hamatsu J *et al.* and Ito Y. High-resolution heteronuclear multidimensional NMR of proteins in living insect cells using a baculovirus protein expression system. *J. Am. Chem. Soc.*, 135, 1688-1691 (2013).
2. Inomata K *et al.* and Shirakawa M. High-resolution multi-dimensional NMR spectroscopy of proteins in human cells. *Nature*, 458, 106-109 (2009); Banci, L. et al. Atomic-resolution monitoring of protein maturation in live human cells by NMR. *Nat. Chem. Biol.*, 9, 297-299 (2013); Theillet FX *et al.* and Selenko P. Structural disorder of monomeric α -synuclein persists in mammalian cells. *Nature*, 530, 45-50 (2016).
3. Sakakibara D *et al.* and Ito Y. Protein structure determination in living cells by in-cell NMR spectroscopy. *Nature*, 458, 102-105 (2009); Tanaka T *et al.* and Ito Y. High-Resolution Protein 3D Structure Determination in Living Eukaryotic Cells. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 58, 7284-7288 (2019).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Hoch Jeffrey C, Baskaran Kumaran, Burr Harrison, Chin John, Eghbalnia Hamid?R, Fujiwara Toshimichi, Gryk Michael?R, Iwata Takeshi, Kojima Chojiro, Kurisu Genji, Maziuk Dmitri, Miyanoiri Yohei, Wedell Jonathan?R, Wilburn Colin, Yao Hongyang, Yokochi Masashi	4. 巻 51
2. 論文標題 Biological Magnetic Resonance Data Bank	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 D368 ~ D376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkac1050	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 Taoka Ken ichiro, Kawahara Ikumi, Shinya Shoko, Harada Ken ichi, Yamashita Eiki, Shimatani Zenpei, Furuita Kyoko, Muranaka Tomoaki, Oyama Tokitaka, Terada Rie, Nakagawa Atsushi, Fujiwara Toshimichi, Tsuji Hiroyuki, Kojima Chojiro	4. 巻 112
2. 論文標題 Multifunctional chemical inhibitors of the florigen activation?complex discovered by structure based high throughput screening	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 1337 ~ 1349
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.16008	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 Yamada Takeshi, Furuita Kyoko, Sakurabayashi Shuhei, Nomura Makoto, Kojima Chojiro, Nakatani Kazuhiko	4. 巻 50
2. 論文標題 NMR determination of the 2:1 binding complex of naphthyridine carbamate dimer (NCD) and CGG/CGG triad in double-stranded DNA	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 9621 ~ 9631
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkac740	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 Tanaka Yoshiyuki, Yamanaka Daichi, Morioka Saori, Yamaguchi Taishi, Morikawa Masayuki, Kodama Takashi S., Sychrovsk? Vladim?r, Kojima Chojiro, Hattori Yoshikazu	4. 巻 2
2. 論文標題 Physicochemical Characterization of the Catalytic Unit of Hammerhead Ribozyme and Its Relationship with the Catalytic Activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysica	6. 最初と最後の頁 221 ~ 239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biophysica2030022	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 Shinya Shoko, Katahira Ritsuko, Furuita Kyoko, Sugiki Toshihiko, Lee Young-Ho, Hattori Yoshikazu, Takeshita Kohei, Nakagawa Atsushi, Kokago Aoi, Akagi Ken-ichi, Oouchi Muneki, Hayashi Fumiaki, Kigawa Takanori, Takimoto-Kamimura Midori, Fujiwara Toshimichi, Kojima Chojiro	4. 巻 13
2. 論文標題 ¹⁹F chemical library and ¹⁹F-NMR for a weakly bound complex structure	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RSC Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 1100 ~ 1111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2md00170e	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 Harada Ken-ichi, Furuita Kyoko, Yamashita Eiki, Taoka Ken-ichiro, Tsuji Hiroyuki, Fujiwara Toshimichi, Nakagawa Atsushi, Kojima Chojiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Crystal structure of potato 14-3-3 protein St14f revealed the importance of helix I in StFDL1 recognition	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-15505-y	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 Furuita Kyoko, Inomata Kouki, Sugiki Toshihiko, Kobayashi Naohiro, Fujiwara Toshimichi, Kojima Chojiro	4. 巻 16
2. 論文標題 1H, 13C, and 15N resonance assignments of human glutathione peroxidase 4	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomolecular NMR Assignments	6. 最初と最後の頁 267 ~ 271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12104-022-10090-7	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 Ichimaru Kota, Yamaguchi Koji, Harada Kenichi, Nishio Yusaku, Hori Momoka, Ishikawa Kazuya, Inoue Haruhiko, Shigeta Shusuke, Inoue Kento, Shimada Keita, Yoshimura Satomi, Takeda Takumi, Yamashita Eiki, Fujiwara Toshimichi, Nakagawa Atsushi, Kojima Chojiro, Kawasaki Tsutomu	4. 巻 13
2. 論文標題 Cooperative regulation of PBI1 and MAPKs controls WRKY45 transcription factor in rice immunity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2397
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-30131-y	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 Furuita Kyoko, Hiraoka Marina, Hanada Kentaro, Fujiwara Toshimichi, Kojima Chojiro	4. 巻 595
2. 論文標題 Sequence requirements of the FFAT like motif for specific binding to VAP A are revealed by NMR	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 2248 ~ 2256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.14166	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 Sugiki Toshihiko, Lee Young-Ho, Alsanousi Nesreen, Murata Kaito, Kawamura Izuru, Fujiwara Toshimichi, Hanada Kentaro, Kojima Chojiro	4. 巻 639
2. 論文標題 A hybrid strategy combining solution NMR spectroscopy and isothermal titration calorimetry to characterize protein-nanodisc interaction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 114521 ~ 114521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2021.114521	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 Jibiki Kazuya, Liu Mo yan, Lei Chao sen, Kodama Takashi S., Kojima Chojiro, Fujiwara Toshimichi, Yasuhara Noriko	4. 巻 27
2. 論文標題 Biochemical propensity mapping for structural and functional anatomy of importin IBB domain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 173 ~ 191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12917	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 Furuita Kyoko, Sugiki Toshihiko, Takamuku Mika, Hattori Yoshikazu, So Masatomo, Kawata Yasushi, Ikegami Takahisa, Fujiwara Toshimichi, Kojima Chojiro	4. 巻 322
2. 論文標題 Sensitivity enhancement by sequential data acquisition for 13C-direct detection NMR	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Magnetic Resonance	6. 最初と最後の頁 106878 ~ 106878
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmr.2020.106878	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4件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Chojiro Kojima
2. 発表標題 NMR tools developed for drug discovery and its application to DNA targeting small molecules
3. 学会等名 The 7th International Symposium on Drug Discovery and Design by NMR (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Chojiro Kojima
2. 発表標題 19F-STD NMR for 3D structure modeling of a weakly bound protein-drug complex
3. 学会等名 The 4th International Symposium of Structure-Based Drug Discovery & 2022 Annual Conference of the Korean Society for Structural Biology Joint Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Chojiro Kojima
2. 発表標題 In-cell NMR as a sensitive tool to monitor physiological condition of Escherichia coli and HeLa cells
3. 学会等名 The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Chojiro Kojima
2. 発表標題 19F-STD NMR for 3D structure modeling of a weakly bound protein-drug complex
3. 学会等名 The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 編集：津本 浩平、前仲 勝実	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 368
3. 書名 創薬研究のための相互作用解析パーフェクト	

1. 著者名 執筆者：59名、技術情報協会	4. 発行年 2021年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 676
3. 書名 NMRによる有機材料分析とその試料前処理、データ解釈	

1. 著者名 編集：岩崎 憲治	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 144
3. 書名 医学のあゆみ「構造生命科学による創薬への挑戦」	

〔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
---------	---------

米国	UConn Health			
チェコ	Czech Academy of Sciences	Czech Technical University		
韓国	Korea Basic Science Institute	University of Science and Technology	Chungnam National University	
韓国	Korea Basic Science Institute	University of Science and Technology	Chungnam National University	