研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 3 年 5 月 2 7 日現在

機関番号: 14603

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2018~2020 課題番号: 18K04977

研究課題名(和文)ラマンスペクトル変化の深層学習による細胞の力学応答解析手法の開発

研究課題名(英文) An analysis of cellular mechanoresponse by Raman spectroscopy and deep laerning

研究代表者

安國 良平 (Ryohei, Yasukuni)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教

研究者番号:40620612

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):本研究では、細胞が力を感じる機構の解明を目指し、水中に集光した超短パルスレーザーが生み出す衝撃力を作用に作用させ、その刺激に対する細胞の生理応答を顕微鏡下でのイメージングと分光測定を組み合わせて解析した。フェムト秒レーザーをマウス筋芽細胞(C2C12)の近傍に集光して衝撃力を作用させると、細胞内で重要なシグ

ナル伝達物質であるCa2+の濃度が作用した力の大きさに依存して変化すること、さらに細胞内のpHのような環境が局所的に変化することを明らかにした。また衝撃力に対する細胞のシグナル伝達経路の一部を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義 本成果は衝撃力という極めて単純な力学作用に対する細胞の応答が明らかになったという点で、細胞が力を利用 して機能を調節する機構解明に重要な知見を得たことに加えて、衝撃力を利用してた細胞機能の制御可能性を示したことで学術的に重要な意義を持つ。

力を利用した生体機能の異常は組織の形成不全や癌化などとも大きく関わることが知られており、本研究により得られた成果を発展させた新しい医療技術などへの貢献が期待される。

研究成果の概要(英文): In this study, we aimed to elucidate the force sensing mechanism of mammalian cells from their physiological responses to the impulsive force induced by an ultrashort laser pulse focused in water. Cellular responses were evaluated using a combination of microscopic imaging and spectroscopic measurements.

When an impulsive force was applied to mouse myoblasts (C2C12) by focusing femtosecond laser in water, we found that intracellular Ca2+ signaling and changes in local environments such as pH were initiated depending on the magnitude of the applied force. We also identified the initial signal tranduction path of the intracellular Ca2+ signaling and the pH change in response to impulsive force.

研究分野: 応用物理学、光学

キーワード: フェムト秒レーザー誘起衝撃力 メカノバイオロジー カルシウムシグナリング 単一細胞解析 メカノレスポンス 顕微蛍光分光

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

運動や重力によって筋肉や骨の形成が促されるように、生体組織を構成するほとんど全ての細胞は、変形や周辺組織の硬さなどの機械刺激・機械的環境を利用して、移動・増殖・分化のような基本的な機能発現を調整していることが近年明らかになってきている。このような「力」に関連した細胞のシグナル伝達と機能制御の分子メカニズムがメカノバイオロジーとして活発に研究されている。

メカノバイオロジーにおけるシグナル伝達は、細胞膜の伸展や細胞骨格の伸張などの機械的な力により様々なタンパク質の構造が変形することをきっかけとした生化学反応により開始する。その後は複雑なネットワーク状のシグナル伝達反応が協奏的に連鎖し、最終的に関連する遺伝子群の発現へと至る。このような機械刺激に誘導される分子シグナルと遺伝子発現は、作用する機械刺激の強度・範囲・時間・周波数のようなパラメーターの組み合わせと強く関係していることが知られている。一方で、高精度に時空間制御された機械刺激を細胞へ与える手段の欠如から、多岐にわたる機械刺激のパラメーターに対して、実際にどのような分子シグナルが誘導され、どのような遺伝子群が発現するのか、それらの対応関係を系統的に明らかにすることは困難であった。

2.研究の目的

本研究では、作用強度・作用時間・作用周波数のような作用パラメーターを制御して機械刺激を細胞に作用させることで、各作用パラメーターと関連するシグナル伝達経路および発現する遺伝子群を明らかにし、機械刺激の制御により種々の細胞応答を誘導するための手法論を開拓することを目的とした。

3.研究の方法

細胞へ作用させる機械刺激として、近赤外フェムト秒レーザーが水中に誘起する衝撃力を利用した(図1)。近赤外フェムト秒レーザーパルスを水中に集光すると、多光子吸収をはじめとする非線形現象によって水のイオン化が生じ、プラズマ生成に続いてキャビテーションバブルが発生する。このキャビテーションバブルに押し出された水の流体力学的な衝撃力は、数マイクロ秒の時間スケールで数十マイクロメートルの範囲に局在して作用するため、高い時空間分解能で単一細胞に機械刺激を作用させることが可能となる。

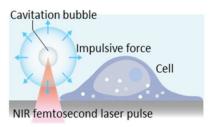


図1フェムト秒レーザー誘起衝撃力 を用いた細胞への機械刺激の付加

機械刺激に対する細胞の生理応答を測定・解析する手法として、計画当初には分子網羅的な情報が得られるラマン散乱スペクトル変化を深層学習によってクラスタリングし、その応答パターンの逆解析から細胞が識別している本質的な力学的刺激の正体および検出機構を明らかにすることを目指した。しかしながら、力学刺激に対する細胞が応答する時間スケールで解析に十分なラマン散乱スペクトルを得ることが困難であった。そこで当初の予定を変更し、細胞状態を検出する各種蛍光プローブを利用し、衝撃力作用前後における蛍光プローブの蛍光強度と分布・蛍光スペクトルの変化から、衝撃力の細胞への影響を評価した。またシグナル伝達に関わるチャネルの阻害剤を導入し機械刺激に関連するシグナル伝達経路の探索を行った。

4. 研究成果

(1)機械刺激に対する細胞の pH 応答

細胞内の pH はアミノ酸やリン酸、炭酸の緩衝作用により 7.4 付近に保持されているが、代謝や膜電位などの細胞状態の変化に影響を受ける。そこで機械刺激に対する細胞応答を理解するために細胞内 pH の変化を測定した。

細胞内 pH を測定するために、pH 変化を蛍光スペクトル変化から定量的に測定可能な SNARF-1 と、蛍光強度変化から高感度に検出できる BCECF を用いた。ガラスボトムディッシュにマウス筋芽細胞(C2C12)を培養して pH プローブを取り込ませた後、細胞近傍の培養液中に波長 800 nm、パルス幅 130 fs、パルスエネルギー150 nJ のフェムト秒レーザーパルスを NA が 0.5 の 20 倍対物レンズで集光し、細胞に衝撃力を作用させた。細胞試料にはマウス筋芽細胞である C2C12 を用いた。pH プローブの励起光源には波長 473 nm の CW DPSS レーザーを用い、分光器によるSNARF-1 の蛍光スペクトル測定と、高感度 CMOS カメラを用いた蛍光イメージングによるBCECF の蛍光強度変化の測定を行った。

図 2 に衝撃力を作用させる前後における代表的な SNARF-1 の蛍光スペクトル変化を示す。衝撃力の作用前と作用後 90 秒での SNARF-1 の蛍光スペクトル測定から 640 nm と 587 nm のピー

ク比の変化が観測され、衝撃力の作用前後でpHが7.4から7.2に変化したと推定された。

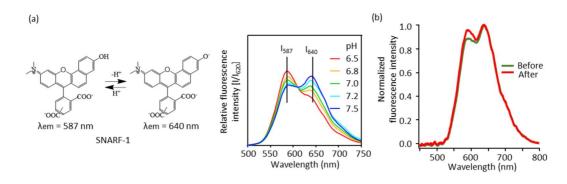


図 2(a)細胞内 pH に依存した SNARF-1 の蛍光スペクトル、(b)フェムト秒レーザー照射に伴う SNARF-1 の蛍光スペクトル変化

次にレーザー照射後の BCECF の蛍光強度変化を測定したところ、衝撃力作用 30 秒ほど急激な蛍光強度の減少が見られ、その後蛍光強度が回復する傾向がみられた(図 3)。これは機械刺激の作用により細胞内が過渡的に酸性化するが、30 秒ほどで pH を適正値に回復するような細胞の pH 調節機構が働いたことを示唆している。

SNARF-1 の蛍光スペクトルから測定した衝撃力の作用 90 秒後の細胞内 pH の変化量 (ΔpH) を 20 個の細胞に対してプロットすると衝撃力作用前の細胞の初期 pH が高い個体ほど、機械刺激による pH の減少量が大きくなる傾向がみられ、機械刺激の影響は細胞状態に影響を受けることが示唆された。

機械刺激に対する pH の変化機構を調べるために、まず H^+ の濃度勾配を利用して ATP を合成する F型 ATPase に着目した。 F型 ATPase は H^+ をミトコンドリアから細胞質に排出して細胞内 pH を下げる。そこで F型 ATPase の H^+ 輸送を阻害する oligomycin を添加してフェムト秒レーザー誘起衝撃力を作用させ、BCECF を用いて蛍光強度変化を測定した結果、oligomycin を添加していない場合より細胞内 pH の低下が促進される結果が得られた(図 3(a))。この結果は ATP の合成は機械刺激による細胞質の酸性化には寄与しないことを示唆しており、 ATP の合成量が減少したことで細胞質から細胞外へ H^+ を輩出するプロトンポンプが機能しなくなったために細胞内 pH の低下が促進されたと考えられる。

F型 ATPase による ATP 合成が細胞の酸性化の要因ではないことから、他の可能性として細胞容積の変化を伴うような機械刺激によって活性化することが知られており、細胞外から CI を取り込んで OH を HCO_3 の形で輩出することで細胞内の pH を下げる働きをもつ CI'/HCO_3 交換体の寄与を検討した。 CI を含まない緩衝液中でフェムト秒レーザー誘起衝撃力を作用させて蛍光強度変化を測定した結果、 CI を含む緩衝液中で見られたような pH の低下が観測されなかった(図 3(b))。以上の結果よりフェムト秒レーザー誘起衝撃力による細胞内 pH の低下の原因として CI'/HCO_3 交換体の活性化が寄与することが示唆された。

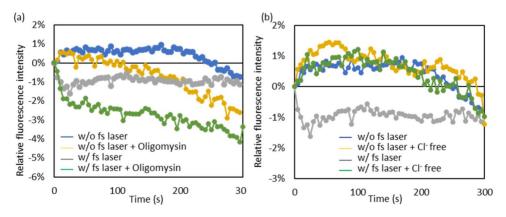


図3フェムト秒レーザー誘起衝撃力作用時の細胞内 BCECF の蛍光強度変化.
(a) Oligomycin の有無、(b) 緩衝液中の Cl-の有無における細胞内 pH の時間変化の比較.

(2)機械刺激に誘導されるカルシウムイオンシグナル伝達経路の探索

先行研究ではフェムト秒レーザー誘起衝撃力に対する細胞の生理応答として、細胞質内の Ca^{2+} 濃度上昇が生じることを報告していた (図 4(a))。機械刺激受容チャネルである TRPC1 及び TRPM7 をノックダウンした C2C12 を用いた Ca^{2+} 応答の測定より、衝撃力に対する Ca^{2+} 応答は機械刺激受容チャネルを介した細胞外からの Ca^{2+} 流入がきっかけとなることがすでに明らかになっている。いる。 Ca^{2+} 流入に続く Ca^{2+} 濃度の上昇経路を明らかにすることは続くシグナル伝達経

路と発現遺伝子を探索する上で重要となる。そこで細胞外からの Ca^{2+} 流入に続く細胞質への Ca^{2+} 放出経路として、細胞内 Ca^{2+} 貯蔵庫である小胞体の寄与と関連する Ca^{2+} 放出チャネルを探索した。

細胞内 Ca^{2+} を測定するために、 Ca^{2+} をキレートして蛍光を発する Fluo-8 を用いた。ガラスボトムディッシュにマウス筋芽細胞(C2C12)を培養して Fluo-8 を取り込ませた後、細胞膜から $20~\mu m$ の位置の培養液中に波長 800~nm、パルス幅 100~fs のフェムト秒レーザーパルスを NA が 0.5 の 20~eps 倍対物レンズで集光し、細胞に衝撃力を作用させた。機械刺激による細胞内の Ca^{2+} 濃度の変化は、刺激前の細胞内の蛍光強度 (F0)に対する刺激後の蛍光強度 (F)の比(F/F0)の変化として比較した。 Fluo-8 は波長 473~nm の CW DPSS レーザーを用いて励起し、高感度 CMOS カメラを用いた蛍光イメージングにより蛍光強度変化の測定を行った。

レーザー誘起衝撃力の作用による小胞体から細胞質への Ca^{2+} 放出の寄与を明らかにするために、小胞体に Ca^{2+} を運ぶイオンポンプである小胞体カルシウム ATP アーゼ(SERCA)を阻害する Thapsigargin (1 μ M)を添加して、小胞体中の Ca^{2+} 貯蔵量を減少させた。この状態で 150 nJ のフェムト秒レーザーパルスを集光して衝撃力を作用させたところ、Thapsigargin を添加していない場合と比較して Ca^{2+} 濃度の増加が抑制された(図 4(b))。この結果はレーザー誘起衝撃力の作用に対する細胞質内の Ca^{2+} 濃度上昇には小胞体からの Ca^{2+} 放出が寄与していることを示している。

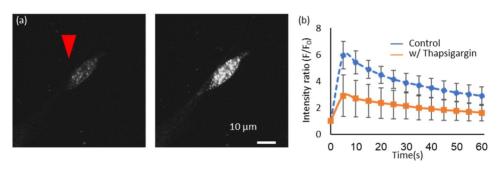


図 4(a)フェムト秒レーザー誘起衝撃力の作用に伴う細胞内に取り込ませた Fluo-8 の蛍光強度変化 . (b) Thapsigargin 作用下における相対蛍光強度の時間変化

この小胞体からの Ca^{2+} 放出チャネルとしては一般的に Ryanodine 受容体 (RYR)と Inositol triphosphate 受容体 (IP3R)が知られている。そこでまずは RYR に注目し、RYR に結合して Ca^{2+} 放出を阻害する Ryanodine ($10\,\mu$ M)を添加して、フェムト秒レーザーのパルスエネルギー175, 200, 225 nJ と変えて、作用強度の異なる衝撃力を C2C12 に作用させて細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化を測定した。その結果 Ryanodine の添加により 3 つの作用強度で Ca^{2+} 濃度の上昇抑制が観測された(図 S(a))。これは RYR を介して小胞体から Ca^{2+} が放出されることを示唆しており、衝撃力により外部から流入した Ca^{2+} によって RYR が活性化され Ca^{2+} 濃度増加が増幅されたと考えられる。

また Ca^{2+} 濃度の時間変化を衝撃力の作用強度に関して比較すると、パルスエネルギーが 175, $200\,n$ J の場合には Ryanodine を添加時に Ca^{2+} 濃度の上昇量のみが減少し、その応答時間は変化しなかったが、 $225\,n$ J の照射条件では Ca^{2+} 濃度の減少速度が緩やかになった(図 5(b))。 IP3R を介する Ca^{2+} 濃度上昇は、IP3 生成に複数の過程を経るため RYR を介した応答よりも時間がかかることが知られている。従って、 $225\,n$ J では IP3 の生成が誘導され IP3R を介した遅い Ca^{2+} 放出が生じたために、 Ca^{2+} 濃度の減少速度が低下したように見えたと考えられる。本研究結果は作用させる衝撃力の大きさによって IP3 や Ca^{2+} のようなシグナル伝達物質の濃度を調節できる可能性を示しており、シグナル伝達経路の制御に基づいた細胞の遺伝子発現制御技術への発展が期待される。

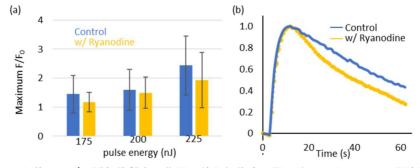


図 5 フェムト秒レーザー誘起衝撃力の作用に伴う細胞内に取り込ませた Fluo-8 の蛍光強度変化 . (a)Ryanodine 作用下における最大相対蛍光強度、(b)パルスエネルギーが 225 nJ の場合における Ryanodine の作用による相対蛍光強度の時間変化

5 . 主な発表論文等

「雑誌論文〕 計5件(うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 5件)

〔雑誌論文〕 計5件(うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 5件)	
1.著者名 Taufiq Indra Rukmana, Gabriela Moran, Rachel Meallet-Renault, Misato Ohtani, Taku Demura	4.巻
2.論文標題 Enzyme-Assisted Photoinjection of Megadalton Molecules into Intact Plant Cells Using Femtosecond Laser Amplifier	5 . 発行年 2019年
3.雑誌名 Scientific Reports	6.最初と最後の頁 17530
 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-54124-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 該当する
1.著者名 Ryohei Yasukuni, Raymond Gillibert, Mohamed N. Triba, Ruta Grinyte, Valery Pavlov and Marc Lamy de la Chapelle	4.巻 , 8
2.論文標題 Quantitative analysis of SERS spectra of MnSOD over fluctuated aptamer signals using multivariate statistics	5 . 発行年 2019年
3.雑誌名 Nanophotonics	6.最初と最後の頁 1477-1483
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/nanoph-2019-0041	 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 Rukmana Taufiq Indra、Moran Gabriela、M?allet-Renault Rachel、Clavier Gilles、Kunieda Tadashi、 Ohtani Misato、Demura Taku、Yasukuni Ryohei、Hosokawa Yoichiroh	4.巻
2.論文標題 Photoinjection of fluorescent nanoparticles into intact plant cells using femtosecond laser amplifier	5 . 発行年 2020年
3.雑誌名 APL Photonics	6.最初と最後の頁 066104~066104
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0001687	 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 Kitano Kazuya、Funatomi Takuya、Yasukuni Ryohei、Tanaka Kenichiro、Kubo Hiroyuki、Hosokawa Yoichiroh、Mukaigawa Yasuhiro	4.巻 29
2.論文標題 Super-resolution for a dispersive spectrometer using a tilted area sensor and spectrally varying blur kernel interpolation	5.発行年 2021年
3.雑誌名 Optics Express	6.最初と最後の頁 2809~2809
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1364/0E.414479	 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 Rukmana Taufiq Indra、Yasukuni Ryohei、Moran Gabriela、M?allet-Renault Rachel、Clavier Gilles、	4.巻 13
Kunieda Tadashi, Ohtani Misato, Demura Taku, Hosokawa Yoichiroh	_ 78.4= ==
2.論文標題	5.発行年
Direct observation of nanoparticle diffusion in cytoplasm of single plant cells realized by photoinjection with femtosecond laser amplifier	2020年
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Applied Physics Express	117002 ~ 117002
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.35848/1882-0786/abc490	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	該当する

〔学会発表〕 計18件(うち招待講演 3件/うち国際学会 3件)

1.発表者名

Keisuke Ide, Sohei Yamada, Kazunori Okano, Ryohei Yasukuni and Yoichiroh Hosokawa

2 . 発表標題

Evaluation of cellular response to femtosecond laser impulse based on spectral change of fluorescent proteins

3.学会等名

10th international conference on molecular electronics and bioelectronics (国際学会)

4 . 発表年

2019年

1.発表者名

田中幸宏, 山田壮平, 岡野和宣, 安國良平, 細川陽一郎

2 . 発表標題

フェムト秒レーザー誘起衝撃力を利用した細胞への分子導入における複数パルス照射効果

3 . 学会等名

第80回応用物理学会秋季学術講演会

4.発表年

2019年

1.発表者名

安國良平, 井出敬佑, 山田壮平, 岡野和宣, 細川陽一郎

2 . 発表標題

細胞内の蛍光スペクトル変化に基づく細胞状態評価手法の開発

3.学会等名

第80回応用物理学会秋季学術講演会

4.発表年

2019年

. The second
1.発表者名 安國良平, 井出 敬佑, 山田 壮平, 新岡 宏彦, 細川 陽一郎
스펙C I) 기교 경제터, 텍턴 (보 I) 경제경 (A/22) M에/U [경) W
2.発表標題
・
2/0/ / // / / / / / / / / / / / / / / /
3.学会等名
光化学討論会
4. 発表年
2019年
1.発表者名
并出敬佑,山田壮平,岡野和宜,安國良平,細川陽一郎
2.発表標題
フェムト秒レーザー誘起衝撃力に対する細胞応答の評価手法の開発
3.学会等名
OCU先端光科学シンポジウム
4.発表年
2019年
1.発表者名
田中幸宏,小柳朱里,山田壮平,岡野和宜,安國良平,細川陽一郎
2.発表標題
フェムト秒レーザー誘起衝撃力を利用した、標的細胞への分子導入
3.学会等名
OCU先端光科学シンポジウム
4. 発表年
2019年
1.発表者名
Ryohei Yasukuni, Sohei Yamada, Kazunori Okano and Yoichiroh Hosokawa
2.発表標題
Cellular Responses to Femtosecond Laser Induced Impulse
3. 学会等名
International micro processes and nanotechnology conference (国際学会)
4.発表年 2019年
2013 "

1 . 発表者名 Keisuke Ide, Sohei Yamada, Kazunori Okano, Ryohei Yasukuni and Yoichiroh Hosokawa
2 . 発表標題 Spectroscopic Evaluation of Cellular Response to Femtosecond Laser Induced Impulse
3 . 学会等名 Annual Meeting of the Physical Society of Taiwan
4 . 発表年 2019年
1.発表者名 小柳朱里,山田壮平,岡野和宣,安國良平,細川陽一郎
2 . 発表標題 細胞近傍へのフェムト秒レーザー照射による分子導入
3.学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会
4 . 発表年 2018年
1.発表者名 安國 良平,押川 悠城,岡野 和宣,山田 壮平,細川 陽一郎,Yuan Tsai-Lim, Ho Shu-Wei, Hsu Jung-Lung, Wu Yu-Te, Kao Fu-Jen
2 . 発表標題 フェムト秒レーザー誘起衝撃力に誘導される動物細胞の生理応答
3.学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会
4 . 発表年 2018年
1.発表者名 植栗 陽一,岡野 和宣,山田 壮平,安國 良平,細川 陽一郎
2 . 発表標題 フェムト秒レーザー誘起衝撃力に誘引される細胞内pH応答
3.学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 安國 良平, 小柳 朱里, ルクマナ タウフィク・インドラ, 植栗 陽一, 岡野 和宜, 山田 壮平, 細川 陽一郎
2 . 発表標題 近赤外超短パルス レー ザを用いた単一細胞の機能操作
3.学会等名 レーザー学会学術講演会第39回年次大会(招待講演)
4 . 発表年 2019年
1 . 発表者名 Kazuya Kitano, Takuya Funatomi, Ryohei Yasukuni, Kenichiro Tanaka, Hiroyuki Kubo, Yoichiroh Hosokawa, Mukaigawa Yasuhiro
2 . 発表標題 Spectral Super-resolution by Image Sensor Tilting
3 . 学会等名 OSA Optical Sensors and Sensing Congresses (OSA COSI2020)(国際学会)
4 . 発表年 2020年
1.発表者名 安國良平
2 . 発表標題 フェムト秒レーザー誘起衝撃力に応答する細胞のメカノトランスダクション解析
3.学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会(招待講演)
4.発表年 2020年
1.発表者名 上田勇真,Taufiq Indra Rukmana,國枝正,出村拓,安國良平,細川陽一郎
2 . 発表標題 フェムト秒レーザー分子導入に伴う植物細胞の生理状態の評価
3.学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会
4 . 発表年 2020年

1.発表者名
杉田龍紀,山田壮平,岡野和宣,安國良平,細川陽一郎
2.発表標題
フェムト秒レーザー誘起衝撃力に誘導される細胞内Ca2+濃度上昇の経路探索

3.学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会

4 . 発表年 2020年

1.発表者名 安國良平

2 . 発表標題

フェムト秒レーザーを用いた細胞の機械刺激とデータ駆動型細胞機能制御への展開

3.学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会(招待講演)

4 . 発表年 2020年

1.発表者名

安國良平, ルクマナ タウフィク・インドラ, 大谷美沙都, 出村拓, 細川陽一郎

2 . 発表標題 フェムト秒レーザーを用いた植物細胞のナノ粒子導入

3. 学会等名

レーザー学会学術講演会第40回年次大会

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
	新岡宏彦	大阪大学・データビリティフロンティア機構・特任准教授 (常勤)	
研究分担者			
	(70552074)	(14401)	

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
---------	---------