

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19301

研究課題名(和文)細胞核内クロマチン立体構造多型解析のための3次元電子顕微鏡像観測技術開発

研究課題名(英文) Devising new electron microscopy approach to explore the morphology of chromatin in cell nucleus

研究代表者

楯 真一 (Tate, Shin-ichi)

広島大学・統合生命科学研究科(理)・教授

研究者番号：20216998

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝情報物質DNAは、ヒストンタンパク質との複合体であるヌクレオソームが数珠状に連なったクロマチン繊維として細胞核内に周密に格納される。核内の格納されたクロマチンは、一定の形を保っているわけではなく、遺伝情報を読み出す際にダイナミックに立体構造を変化させる。逆に、核内クロマチン立体構造ダイナミクスが遺伝情報制御に関わる。しかし、核内クロマチンの立体構造をナノスケールで観測する技術はなく、核内クロマチン立体構造と遺伝情報制御の相関については十分に理解されていない。本研究では、FIB-SEMを用いて核内クロマチン立体構造をナノスケールで観測する技術を構築し、核内遺伝情報の新たな機構を明らかにする。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞の遺伝情報制御機構の解明は、ガンなど疾病発症機構や細胞の分化制御機構の理解につながる細胞生物学の中心的なテーマである。分子生物学は、DNAとタンパク質の局所的な相互作用を明らかにしてきた。一方で、最近の研究は、核内で遺伝情報を保持する「クロマチン」構造が、局所の分子間相互作用を調節する機構の存在を示唆している。しかし、核内クロマチン全体の立体構造を観測する技術が無いため研究されていない。私達は核内クロマチンの3次元構造を明らかにする電子顕微鏡技術を構築した。この技術により、クロマチン全体の構造変化による遺伝情報制御機構を解明する新たな細胞生物学研究が可能になる。

研究成果の概要(英文)：We have successfully observed the three-dimensional (3D) electron microscopic image of chromatin in cell-nucleus with focused ion-beam scanning electron microscopy (FIB-SEM). This gives the first example for describing the whole chromatin 3D structure within cell-nucleus at a single-cell level.

We have established the 3D structure analysis of the whole chromatin within cell nucleus. The fission yeast cells that harbor histone H2B-APEX2 fusion protein enabled the diaminobenzidine (DAB) coating around the chromatin fibers inside the cell nucleus, thus allowed the osmium-ion staining to give high contrast EM image of the chromatin within the cell nucleus. The numerical processing software devised in this research achieved very efficient reconstruction of the 3D EM image of chromatins from a series of SEM images from FIB-SEM. This EM technology will pave ways in the study of gene regulation from the whole chromatin 3D structural points of view.

研究分野：構造生物学

キーワード：FIB-SEM クロマチン構造 分裂酵母 電子顕微鏡

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

細胞内遺伝情報制御は、生命科学の中心的課題である。遺伝情報をコードする DNA は、ヒストタンパク質との複合体であるヌクレオソームが数珠状に連なったクロマチン繊維として核内に周密に格納されている (図 1)。核内のクロマチン繊維は、動的に形を変えて遺伝情報の読み出しに関わることが、近年確立された Hi-C 法により示されてきた。

Hi-C 法とは、核内で化学架橋反応を行う事で、核内クロマチン繊維中で空間的に近接している配列を次世代シーケンサーにより同定するという研究手法である。Hi-C 法により、細胞の状態に応じて核内に格納されるクロマチン繊維の全体構造が大きく変化することが示された。このことは、クロマチン繊維は、核内に周密に格納されているが、その空間制約の中でも全体構造を変化させることで遺伝情報制御を可能にするという新たな遺伝情報制御機構の存在を示唆した。

しかしながら、Hi-C 法で与えるクロマチン構造情報は、10 万個の細胞を使って得られるものであるため、外部刺激に応じて変化するクロマチン全体構造変化を鋭敏に捉えることはできない。Hi-C 法で捉えることができる構造変化は、エピゲノム状態の違いに伴うクロマチン全体高像変化のような、静的な構造の変化に限定される。外部刺激にตอบสนองしてダイナミックに形態を変えるクロマチン構造変化を捉えることはできない。

私達は、分裂酵母細胞をモデルとして、核内クロマチン繊維上の 133 箇所を GFP 標識を導入して細胞周期に応じて変化する核内クロマチン構造動態を観測した。その結果、核内クロマチンは、絶えず全体構造を変化させていることを観測した。クロマチン構造動態のトラジェクトリーを解析する事により、核内クロマチンはランダムに構造を変化させているのではなく、限られた構造状態間を遷移する特異的な運動をしていることも見いだした。クロマチン構造は、細胞の状態に応じて構造状態間を遷移することで遺伝情報制御をしていると考えられる。

時分割共焦点顕微鏡データにより示唆された核内クロマチン全体の構造変遷遷移の実体を明らかにするためには、一細胞レベルで核内クロマチン構造が、細胞ごとにどのように変化しているかを直接観測する必要がある。Hi-C 法は、上記のように細胞集団としての核内クロマチン構造の情報しか与えないが、Hi-C を一細胞レベルの核内クロマチン構造解析に適用した研究は報告されている。しかし、一細胞の Hi-C 解析から得られた構造情報は、期待される遺伝子座間の近接関係の数%程度でしかなく、とても一細胞レベルでのクロマチン構造変化を議論できるものではなかった。

そこで、本研究では、細胞核内のクロマチン構造を一細胞レベルで直接観測することにより、細胞が外部刺激に応じてダイナミックに構造変化する様子をナノスケールで直接観測することを目的とした。

ヌクレオソームレベルの構造解析は Cryo-EM で高分解能の解析ができる。しかし、直径が約 2  $\mu\text{m}$  となる分裂酵母の細胞核のサイズでは、Cryo-EM を使って構造解析するには対象が大きすぎる。最近、電子線に対する観測体の傾斜角度を様々に変えて観測体の 3 次元像を観測する tomography 透過電子顕微鏡 (TEM) 法を用いて細胞核内でクロマチン繊維が露出した領域のクロマチン構造を観測した報告がある。この報告では約 20 個のヌクレオソームをも含むクロマチンセグメントの立体構造を得ることに成功している。しかし、観測されたクロマチンセグメントが、どの遺伝子領域に対応するかまで特定する事ができない上に、露出した特殊な領域の構造しか観測することができないという計測技術としての限界がある。

上記の先行研究成果をもとに、本研究では測定法として、Focused-ion-beam scanning electron microscopy (FIB-SEM) を用いて、分裂酵母の核内クロマチン構造全体をそのまま計測する技術の構築をめざした。

## 2. 研究の目的

分裂酵母細胞を対象として、FIB-SEM を用いて核内クロマチン全体の構造を 3 次元電子顕微鏡像として観測する技術を構築する。

FIB-SEM 像から効率的に 3 次元電子顕微鏡像を再構築するための画像技術も同時に構築し、複数の核内クロマチン 3 次元構造を比較することで、細胞ごとに異なる核内クロマチン構造をナノスケールで明らかにする。

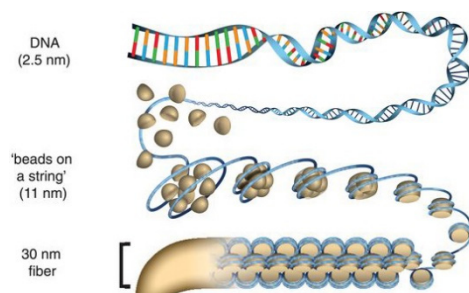


図 1: クロマチン繊維. ヌクレオソームが数珠状につながった繊維が核内に周密に格納される. (Ou et al. *Science* 357, eaag0025 (2017) より一部改変して引用).

### 3. 研究の方法

#### (1) 核内クロマチン繊維の導電染色技術確立

核内クロマチンの3次元電子顕微鏡像をFIB-SEMで観測するためには、核内クロマチン繊維を高いコントラストの電子顕微鏡像として観測するための導電染色が必要である。このため、本研究では、ヌクレオソームを構成するタンパク質であるH2BにperoxidaseであるAPEX2遺伝子を融合したタンパク質を定常的に発現する分裂酵母細胞を構築した。

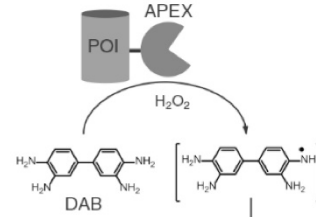


図2: ヒストン H2B-APEX2 融合タンパク質による DAB 重合膜形成によるクロマチン繊維の導電染色法。

Peroxidase APEX2 は細胞内で過酸化水素( $H_2O_2$ )を分解することにより APEX2 周囲ラジカル酸素を生成する (図2)。このラジカル酸素を使って diamino benzidine (DAB) のラジカル重合反応させることで、クロマチン繊維の周囲にオスミニウムイオン(Os)に親和性を持つ重合膜を形成する (図2)。

過酸化水素処理後に Os を DAB 重合膜にドープする事により細胞核内のクロマチン繊維を導電染色することができる。

#### (2) FIB-SEM による核内クロマチンの3次元電子顕微鏡像の計測

酵母細胞の核の直径は約  $2 \mu m$  である。このサイズの観測体 (specimen) の3次元電子顕微鏡像を観測するには、2次元SEM像を連続切片像をして観測して、3次元再構成する方法が必要である。連続的に超薄切片像をSEM観測して3次元像を再構成する Serial block-face (SB-SEM)法がしばしば細胞内機関の3次元像を観測するために用いられているが、SB-SEMではZ軸方向の分解能(50~100 nm)に限られるために酵母細胞核の内部構造を観測するためには十分ではない。そのため、本研究ではイオンビームで10 nm ずつ表面を削りながら連続SEM像を観測するFIB-SEMを用いた観測を行った (図3)。

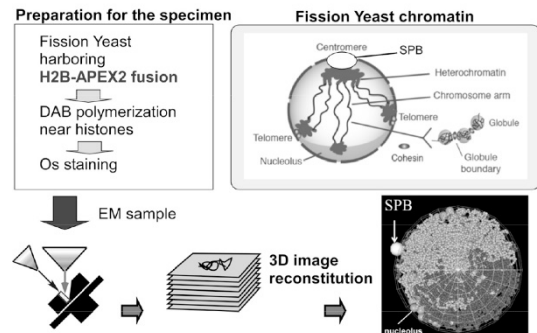


図3: FIB-SEM を用いた分裂酵母の核内クロマチン立体構造解析の概念図。

### 4. 研究成果

#### (1) H2B-APEX2 融合タンパク質発現分裂酵母細胞の構築と H2B-APEX2 の核内局在の確認

酵母細胞が持つ H2B 遺伝子の下流に APEX2 遺伝子を homologous recombination を介して導入した酵母細胞を構築した。融合タンパク質発現し核内に正しく局在していること、および核内で APEX2 が peroxidase としての機能を維持していることを確認した。

細胞内での H2B-APEX2 融合タンパク質の発現と局在を確認するために、同時に H2B-GFP 融合タンパク質を発現する細胞株を構築して確認を行った。APEX2 の核内での機能は  $H_2O_2$  に対して APEX2 が作用することで赤色に発色する色素 Amplex UltraRed を利用した(図4)。

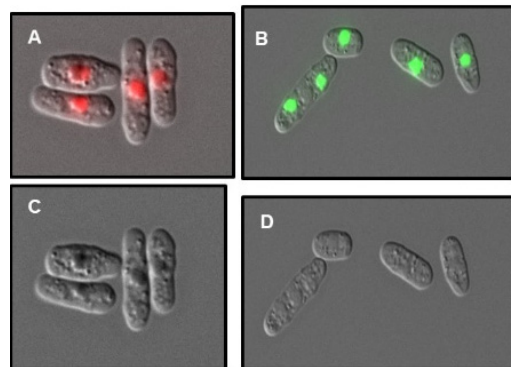


図4: H2B-APEX2 の細胞内局在と APEX2 の peroxidase 活性の確認。(A)H2B-APEX2 を発現する分裂酵母細胞に  $H_2O_2$  を作用させることで Amplex UltraRed の発色を確認。核内に発色が核内に局在していることから、H2B-APEX2 が核内に局在し、なおかつ APEX2 が活性を保持することが確認できた。(B)H2B-GFP の核内局在を GFP の蛍光の核内局在で確認した。(C)H2B-APEX2 を発現する酵母細胞に対して DAB を細胞中に導入した上で  $H_2O_2$  を加えた。DAB の核内での重合反応が進むことにより核内が黒く変色していることが確認できており、DAB の核内重合反応が起こったことが確認できた。(D)は、H2B-GFP を発現する酵母細胞に対して、同様に核内の DAB 重合反応を誘導した結果。(C)とは事なり、核内が黒く染まることはなく、DAB の重合は起こらないことが確認できた。このことは(C)で確認された核内黒く染まる現象が DAB 重合反応によることであることの確認となる。



## (2) 核内クロマチンを導電染色した試料の調製技術の確立

核内クロマチン構造に対するダメージを最小に抑えて、導電染色およびサンプルからの脱水を行うためのサンプル調製プロトコルを確立した。

プロトコル概要をまとめる。細胞をインタクトな状態固定するため、細胞壁を除く前に **glutaraldehyde** で化学固定する。その後、細胞壁を酵素処理により除く。その後、**DAB** を細胞中に導入させて、**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** を加えることで核内で **DAB** の重合反応を誘導する。DAB 重合膜形成後に、**OsO<sub>4</sub>** を細胞内に導入する事により核内クロマチンの導電染色する。その後は、電子顕微鏡試料とするために、細胞内の水分を除き、樹脂包埋する。

細胞試料調製法の確立は、繰り返し **TEM** 像を観測することにより、プロトコルの改善を繰り返した。最終的に図 5 に示すようなコントラストで核内クロマチン繊維を導電染色するプロトコルを確立した (図 5)。

### (3) 核内クロマチンの 3 次元電子顕微鏡像観測

上記で **TEM** 像でモニターしながら試料調製技術を最適化した後に、**FIB-SEM** を使った 3 次元電子顕微鏡像の観測に進んだ。

**FIB-SEM** 測定は、図 6 に示すように樹脂包埋した試料の表面をイオンビームで削り (**milling**) その後表面の **SEM** 観測し、削がさらに **milling** を進めて次の面の **SEM** 像を観測することを繰り返す。このため、**Z** 軸方向に観測面を移動させながら 2 次元の **SEM** 像を連続的に観測することになる。

今回の測定では **milling** の幅を **10 nm** に設定して **140** 枚の **SEM** 像を連続的に観測した。

得られた連続切片像から、電子顕微鏡像のコントラストもとにクロマチン繊維像のみを取り出す画像処理プログラムを作成して、自動的にクロマチン繊維像のみを取り出すこと (**segmentation**) に成功した。図 7 には、**segmentation** 後に再構成した分裂酵母細胞核内のクロマチン繊維像を示す (図 7)。

核内クロマチン画像のみを抽出して表示した図を図 8 に示す。この図では、核小体側から核内クロマチン構造を見ているため、くぼんだ表面が表に出ている (図 8)。

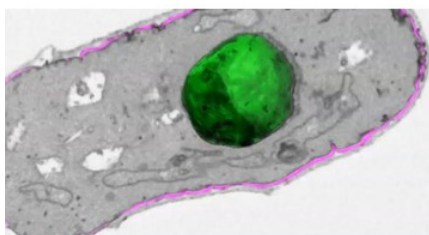


図 7: **FIB-SEM** で観測された **140** 枚の **SEM** 像から 3 次元再構成した分裂酵母細胞の核内クロマチン構造。クロマチン繊維を緑色で表示している。核小体は影のように暗く表示されている。細胞膜はピンク色で縁取りしている。細胞内小器官も観測されている。

### (4) 今後の計画

今回の研究では、計画通りに核内クロマチン構造をナノスケールで観測することに成功した。今後は、この技術をもとに核内クロマチン構造と機能との関連の精密解析を進めるための新たな構造解析技術の構築に進む。具体的には、電子顕微鏡像中での特定の遺伝子座の位置を特定するための技術の開発が必要である。これには、特定の遺伝子座に **GFP** 標識を導入

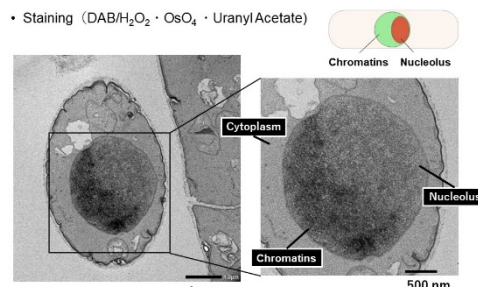


図 5: **H2B-APEX2** を使いクロマチン繊維を **DAB** 重合膜でコートする事により **Os** イオンによる導電染色を実現した。試料調製の課程では特に脱水の工程で細胞内構造が破壊されることがあり、細かなプロトコルの調整が必要であった。分裂酵母細胞核内の半分のスペースは、核小体で占められており、この部分にはクロマチン繊維がないために図 5 の電子顕微鏡像では薄く抜けて見える。一方、細胞膜や核膜の脂質からなる領域は **Os** イオンに親和性が高いために自然に染色される。細胞試料調製課程を最適化することにより、核膜構造を大きく歪めないで核内クロマチンを十分な感度で導電染色することに成功した。

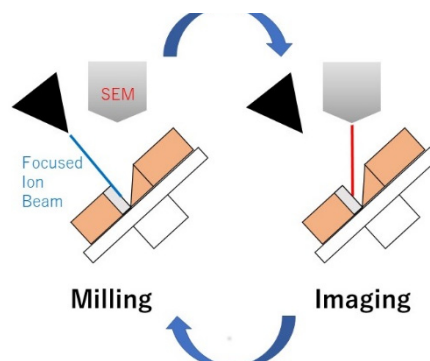


図 6: **FIB-SEM** による連続的な **SEM** 像の集積。10 nm の幅で **milling** を進めた。

した細胞の高解像共焦点像と電子顕微鏡像とを重ね合わせて観測する技術（CLEM : correlated light and electron microscopy）を適用する必要がある。今期の研究の中でもトライしたが、細胞試料の脱水の過程でわずかに構造がひずむために十分な精度で遺伝子座の位置を電子顕微鏡像上に位置づけることは困難であった。高圧凍結法を用いて脱水する等の新たな試料調製法を導入する必要がある。

しかし、今回の研究期間中に、世界に先駆けて核内クロマチン 3次元高像を電子顕微鏡で観測する技術構築できたことは大きい。今後のこの技術を発展させて、酵母細胞中での遺伝情報制御機構をクロマチン構造ダイナミックで解析する新たな研究を展開する。

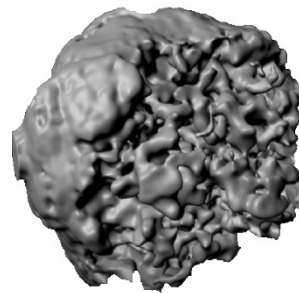


図 8 : FIB-SEM により観測された分裂酵母細胞核内クロマチン構造。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7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 Kawasaki Ryosuke, Tate Shin-ichi	4. 巻 21
2. 論文標題 Impact of the Hereditary P301L Mutation on the Correlated Conformational Dynamics of Human Tau Protein Revealed by the Paramagnetic Relaxation Enhancement NMR Experiments	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3920 ~ 3920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.3390/ijms21113920	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 Ohta, T., Yamada, R., Fujita, S., Takahata, T., Shiba, K., Machida, S., and Tate, S.	4. 巻 51
2. 論文標題 DOPG small unilamellar vesicles function as nano-carriers targeting the clustered lectin-like oxidized LDL receptor (LOX-1) on the cell surface	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Drug Delivery Sci. and Tech.	6. 最初と最後の頁 327-336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.03.014">https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.03.014</a>	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 Ito, H., Sugawara, T., Shinkai, S., Mizukawa, S., Kondo, A., Senda, H., Sawai, K., Suzuki, S., Takaine, M., Yoshida, S., Imamura, H., Kitamura, K., Namba, T., Tate, S., and Ueno, M.	4. 巻 511
2. 論文標題 Spindle pole body movement is affected by glucose and ammonium chloride in fission yeast	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 820-825
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.02.128">https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.02.128</a>	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 Born, A., Nichols, P. J., Henen, M. A., Chi, C. N., Strotz, D., Bayer, P., Tate, S., Peng, J. W., Vogel, B.	4. 巻 13
2. 論文標題 Backbone and side-chain chemical shift assignments of full-length, apo, human Pin1, a phosphoprotein regulator with interdomain allostery	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomolecular NMR Assignments	6. 最初と最後の頁 85-89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1007/s12104-018-9857-9">https://doi.org/10.1007/s12104-018-9857-9</a>	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 Ikura,T., Tochio,N., Kawasaki,R., Matsuzaki,M., Narita,A., Kikumoto,M., Utsunomiya-Tate,N., Tate,S., and Ito,N.	4. 巻 592
2. 論文標題 The trans isomer of Tau peptide is prone to aggregate, and the WW domain of Pin1 drastically decreases its aggregation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 3082-3091
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1002/1873-3468.13218">https://doi.org/10.1002/1873-3468.13218</a>	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 Saito,M., Hiratoko,S., Fukuba,I., Tate,S., and Matsuoka,H.	4. 巻 86
2. 論文標題 Use of a right triable chip and its engraved shape as a transferrable x-y coordiante system from light microscopy to electron microscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Electrochemistry	6. 最初と最後の頁 6-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.5796/electrochemistry.17-00058">https://doi.org/10.5796/electrochemistry.17-00058</a>	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 Umehara Kohei, Hoshikawa Miho, Tochio Naoya, Tate Shin-ichi	4. 巻 23
2. 論文標題 Substrate Binding Switches the Conformation at the Lynchpin Site in the Substrate-Binding Domain of Human Hsp70 to Enable Allosteric Interdomain Communication	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 528 ~ 528
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.3390/molecules23030528">https://doi.org/10.3390/molecules23030528</a>	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11件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Multiple-phosphorylation in the IDR in chromatin remodeler FACT tunes its remodeling activity
3. 学会等名 The 10th Asia-Pacific IDP symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Multiple-phosphorylation in the intrinsically disordered region (IDR) of chromatin remodeler FACT tunes its remodeling activity through conformational dynamics
3. 学会等名 The 8th Asia-Pacific NMR symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Structural properties of oxidized LDL receptor LOX-1 as a therapeutic target for atherosclerosis and cancers - significance of LOX-1 structure and dynamics in terms of drug design and drug delivery
3. 学会等名 Pharma Chemistry 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Structure and dynamics of intrinsically disordered proteins (IDPs) ; a hidden story of protein science
3. 学会等名 BK21-MSRI Special Seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Multiple-phosphorylation in the IDR in chromatin remodeler FACT tunes its remodeling activity
3. 学会等名 The 9th KRIBB ASIA-PACIFIC IDR SYMPOSIUM (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Multiple-phosphorylation to IDR in the chromatin remodeler FACT shows an 'ultra-sensitive response' in its nucleosome binding
3. 学会等名 BPS2019 ( 国際学会 )
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Intrinsically disordered proteins (IDPs) that constitute the other side of protein structure-function relations
3. 学会等名 The 9th International Conference on Green Technology ( 招待講演 ) ( 国際学会 )
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Chromatin structure and dynamics in fission yeast
3. 学会等名 The 1st Seoul National University-Hiroshima University Collaborative Symposium ( 招待講演 ) ( 国際学会 )
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Dynamic allostery in the interdomain dynamics of protein
3. 学会等名 Seminar Series in CMRS Institut des Sciences Analytiques ( 招待講演 ) ( 国際学会 )
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Dynamic allostery in folded protein and intrinsically disordered protein (IDP)
3. 学会等名 第56回 日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shin-ichi Tate
2. 発表標題 Functional roles of dynamic state transition among the conformational ensembles of protein mediated by intrinsically disordered regions (IDRs)
3. 学会等名 第91回 日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Shin-ichi Tate (Chapter 22)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer Singapore	5. 総ページ数 636
3. 書名 Experimental Approaches of NMR Spectroscopy, Akira Naito (Ed.)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Molecular Biophysics Lab. <a href="http://www.mls.sci.hiroshima-u.ac.jp/biophys/index.html">http://www.mls.sci.hiroshima-u.ac.jp/biophys/index.html</a>
--

## 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
研究 協力者	山田 健太郎  (Yamada Kentaro)	広島大学・理学研究科・大学院生  (15401)	博士課程前期