

令和 5 年 4 月 25 日現在

機関番号：82504

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07494

研究課題名(和文) 発がん感受性に寄与する表皮細胞とランゲルハンス細胞間の相互作用解析

研究課題名(英文) Functional analysis of interactions between Epidermal cells and Langerhans cells that contribute to skin tumor susceptibility

研究代表者

奥村 和弘 (Okumura, Kazuhiro)

千葉県がんセンター(研究所)・がんゲノムセンター 実験動物研究部・研究員

研究者番号：80584680

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：Pak1の3'非翻訳領域(3'UTR)に皮膚腫瘍修飾に関与する機能的SNPを同定した。がん耐性系統MSM/MsのPak1-3'UTRの候補SNPを、CRISPR/Cas9を用いてがん感受性FVB/Nに導入した。DMBA/TPA皮膚発がん実験により、腫瘍を強く抑制するSNP(Pak1 3'UTR-6C>T: rs31627325)を発見した。さらに、MBNL1はFVBアレル(6C/C)とより強く結合し、ポリアダニル化を通じてPak1の3'UTRの転写長および腫瘍形成を制御していた。したがって、Pak1の選択的ポリアダニル化はrs31627325によってシス制御されていることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんは遺伝性の疾患であることから、予防およびその治療には原因遺伝子同定とその機能解明が最重要となる。我々は日本産野生由来近交系マウスMSM/Msの発がん耐性に着目し、順遺伝学的解析とDMBA/TPA多段階皮膚発がんを組み合わせ、発がん感受性に関与する遺伝子およびその機能的塩基置換(SNP)の同定を試みてきた。本研究ではStmm1a遺伝子座の原因遺伝子の一つとしてPak1を同定し、その3'UTRのSNPが選択的ポリアダニル化を介して、Pak1の発現を制御し、多段階皮膚発がんに影響することを個体レベルで明らかにすることができた。

研究成果の概要(英文)：We identified a functional SNP in the 3' untranslated region of Pak1 that is responsible for the skin tumor modifier of MSM 1a locus. Candidate SNPs in the 3' untranslated region of Pak1 from resistance strain MSM/Ms were introduced into susceptible strain FVB/N using CRISPR/Cas9. The 7,12-dimethylbenz(a)anthracene/12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate skin carcinogenesis experiments revealed an SNP (Pak1-3' untranslated region-6C>T: rs31627325) that strongly suppressed skin tumors. Furthermore, MBNL1 bound more strongly to FVB-allele (6C/C) and regulated the transcript length in the 3' untranslated region of Pak1 and tumorigenesis through polyadenylation. Therefore, the alternative polyadenylation of Pak1 is cis-regulated by rs31627325.

研究分野：マウス遺伝学

キーワード：順遺伝学 DMBA/TPA化学発がん 日本産野生由来近交系 Pak1 選択的ポリアダニル化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

がんは遺伝性の疾患であることから、予防およびその治療には原因遺伝子同定とその機能解明が最重要となる。がんの約 80% が Sporadic ながんであり、低浸透率な遺伝変異の集積が複雑なネットワークを形成し発症する。近年では大量のヒトサンプルを直接解析する Genome-Wide Association Study (GWAS) が可能となり、がん発症と連鎖する一塩基多型 (SNPs) が検出されているが、それだけではがん発症の説明ができない、いわゆる「Missing heritability」問題がある。近年では、GWAS と全ゲノム情報を用いたインピュテーション解析により、ほとんどの遺伝率は説明可能であると予測されているものの、実際に治療に繋がるような原因遺伝子やその変異が明らかにはなっていないのが現状である。一方、マウス系統間の遺伝的背景効果を利用した発がん実験による原因遺伝子スクリーニングは古典的研究手法ではあるが、発がんに関わる重要な遺伝子同定に貢献してきた。加えて最近のゲノム編集による技術革新のアドバンテージや個体レベルで分子メカニズムが実証できること、さらに遺伝的バックグラウンドが置換可能であることなどから、がんの感受性のような孤発性に關する遺伝子の同定にはマウス研究も GWAS の補完的ツールとして有効であると考えられる。そこで、本研究はヒトの「Missing heritability」解決のため、発がんマウスモデルを用いた解析により、がん感受性に關する原因遺伝子を SNP レベルで明らかにする。また、我々が同定したがん感受性候補遺伝子である *Pak1* は表皮細胞以外にもランゲルハンス細胞および樹状細胞に強く発現している。そこでこれらの細胞間相互作用の解析を行うために *Pak1* コンディショナル KO マウスの作製に取り組む。

### 2. 研究の目的

本研究では、マウス系統間の皮膚発がん感受性遺伝子スクリーニングで抽出された責任候補遺伝子である *Pak1* の機能多型の同定とその解析を実施することを目的とする。また細胞特異的 *Pak1* コンディショナル KO マウスの作製を試みる。

### 3. 研究の方法

#### *Pak1*-3' UTR ルシフェラーゼ (Luc) レポーターアッセイ

がん抵抗性の MSM マウスと感受性の FVB マウスの *Pak1*-3' UTR 配列を pGL3 Luc レポーターベクターにクローニングした。さらに、MSM 型の SNP 変異を FVB 型へ置換したベクターを別個に 5 種類作製した。それらのベクターを C5N、B9 および D3 にトランスフェクションしアッセイに用いた。

#### *Pak1*-3' UTR 編集マウスの作製

Luc レポーターアッセイによって有意に Luc 発現に変動があった *Pak1*-3' UTR の SNP1 (rs31627325) および SNP2 (rs3654376) をターゲットとして CRISPR/Cas9 法による FVB マウス受精卵へのエレクトロポレーション変異導入を行った。得られたファウンダーマウスと FVB を交配し、その後ヘテロどうしを交配してそれぞれの変異系統でホモ個体を得た。

#### DMBA/TPA 多段階皮膚発がん実験

8-9 週齢マウスの背部皮膚を剃毛し、7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) と 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) を塗布し、その後 1 週間に 2 回 TPA を 20 週間塗布した。DMBA 塗布後、8 週間後から良性腫瘍数を 2 週間に 1 回、20 週までカウントした。また良性腫瘍から悪性腫瘍への悪性化は 40 週までカウントした。

#### 3' mRNA-sequence

各マウス (n=3) の皮膚組織からトータル RNA を採取し、バイオアナライザーによるクオリティチェックを行った。mRNA シーケンスライブラリーは、QuantSeq 3'mRNA-Seq Library Prep Kit FWD for Illumina を用いた。ライブラリーのシーケンシングは、Illumina NextSeq 500 システムでシングルエンドの 150 塩基対リードを実行した。リードは、Strand NGS を使用してマウス参照ゲノム mm10 にマッピングし、DeSeq によってリードの正規化を計算した。

#### RNA Immune Precipitation (RIP) アッセイ

FVB および *Pak1*-3' UTR マウスから Mouse Embryonic Fibroblast (MEF) を調整後、細胞密度  $1 \times 10^6$  で播種し、TPA (10 ng) を添加し、24 時間後に回収した。ネガティブコントロールは等量の DMSO を添加した。次に、処理した MEF を RIP バッファで溶解し、細胞溶解液を抗 MBNL1 または陰性コントロール IgG 抗体をコートした磁気ビーズと 4 でインキュベートし、免疫沈降した RNA を分離し RT-PCR で検出した。

#### *Pak1*<sup>fllox</sup> マウスの作製

FVB の受精卵に CRISPR/Cas9 法を用いて *Pak1* のエクソン 2 を挟み込んで 2 か所に loxp 配列

を挿入したゲノム編集マウスを作製した。

#### 4. 研究成果

我々はこれまでに日本産野生由来近交系 MSM のがん抵抗性に着目し、順遺伝学的手法と DMBA/TPA 多段階皮膚発がん実験を組み合わせ、がん耐性に関与する遺伝子群の同定を目指して研究を行ってきた。これまでに、マウス染色体上に *Skin Tumor Modifier of MSM (Stmm)* 遺伝子座を 12 箇所マップすることに成功している。その中で最も発がんに対して強い抵抗性を示す *Stmm1a* の候補遺伝子として p21 (Cdc42/RAC1)-activated kinases 1 (*Pak1*) をコンジェニックマッピングや各マウス系統の皮膚組織 RNA-sequence、ウエスタンブロット法などによって抽出した (図 1)。

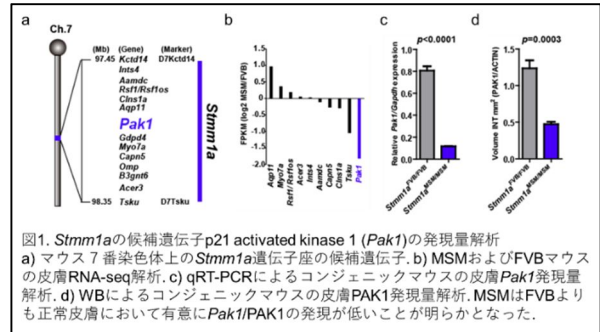


図1. *Stmm1a* の候補遺伝子 p21 activated kinase 1 (*Pak1*) の発現量解析  
a) マウス 7 番染色体上の *Stmm1a* 遺伝子座の候補遺伝子。b) MSM および FVB マウスの皮膚 RNA-seq 解析。c) qRT-PCR によるコンジェニックマウスの皮膚 *Pak1* 発現量解析。d) WB によるコンジェニックマウスの皮膚 *PAK1* 発現量解析。MSM は FVB よりも正常皮膚において有意に *Pak1*/PAK1 の発現が低いことが明らかとなった。

そこで我々は *Pak1*-3' UTR 変異に着目し解析を実施した。FVB および MSM の *Pak1*-3' UTR の配列を用いて Luc レポーターアッセイを実施した。正常マウス皮膚由来細胞株 C5N、扁平上皮がん細胞株 B9 および D3 のいずれの株においても MSM の配列の方が FVB 配列よりもレポーターの発現が低く制御されることが明らかとなった。次に MSM の SNP を FVB の塩基に置換するコンストラクトベクターを各 SNP で作成し、同様にレポーター実験を行ったところ、*Pak1*-3' UTR-6(rs31627325) および -171 (rs3654376) の 2 つの SNP において発現抑制が解除され、コントロールと比較し発現が逆転した (図 2)。

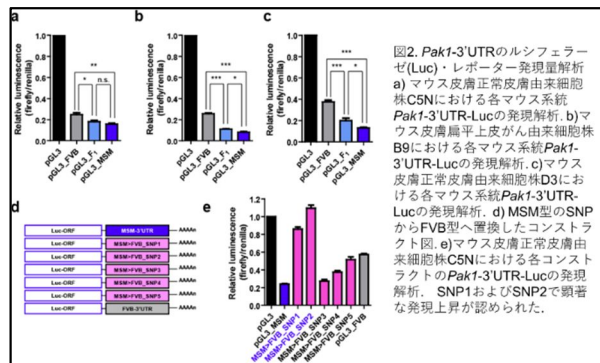


図2. *Pak1*-3' UTR のルシフェラーゼ (Luc) ・レポーター発現量解析  
a) マウス皮膚正常皮膚由来細胞株 C5N における各マウス系統 *Pak1*-3' UTR-Luc の発現解析。b) マウス皮膚扁平上皮がん由来細胞株 B9 における各マウス系統 *Pak1*-3' UTR-Luc の発現解析。c) マウス皮膚正常皮膚由来細胞株 D3 における各マウス系統 *Pak1*-3' UTR-Luc の発現解析。d) MSM 型の SNP から FVB 型へ置換したコンストラクト。e) マウス皮膚正常皮膚由来細胞株 C5N における各コンストラクトの *Pak1*-3' UTR-Luc の発現解析。SNP1 および SNP2 で顕著な発現上昇が認められた。

この 2 つの SNP をそれぞれ CRISPR/Cas9 法によって FVB 遺伝子背景の MSM 変異を持つ *Pak1*-3' UTR 編集マウスを作製した。これらのマウスを用いて DMBA/TPA 多段階皮膚発がん実験を行った。その結果、*Pak1*-3' UTR-6<sup>C/T</sup> マウスが有意に良性腫瘍数を低下させた。一方、*Pak1*-3' UTR-171<sup>T/A</sup> マウスでは変化はなかった。従って、MSM の発がん抵抗性には *Pak1*-3' UTR-6 の C から T への変異が重要であることが強く示唆された (図 3)。

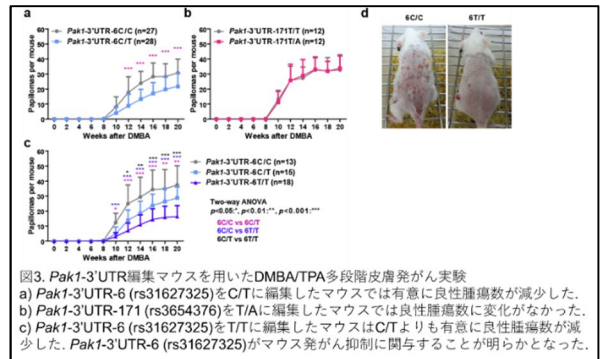


図3. *Pak1*-3' UTR 編集マウスを用いた DMBA/TPA 多段階皮膚発がん実験  
a) *Pak1*-3' UTR-6 (rs31627325) を C/T に編集したマウスでは有意に良性腫瘍数が減少した。b) *Pak1*-3' UTR-171 (rs3654376) を T/A に編集したマウスでは良性腫瘍数に変化がなかった。c) *Pak1*-3' UTR-6 (rs31627325) を T/T に編集したマウスは C/T よりも有意に良性腫瘍数が減少した。*Pak1*-3' UTR-6 (rs31627325) がマウス発がん抑制に関与することが明らかとなった。

この *Pak1*-3' UTR-6 の役割について検討した。6<sup>T/T</sup> マウスの正常皮膚における *Pak1* の発現をコントロールマウスと比較したところ、mRNA レベルおよびタンパクレベルにおいて、MSM とは逆に *Pak1* の発現が亢進していた。しかしながら、炎症プロモーターである TPA 処理後の皮膚の発現をモニターした結果、6<sup>T/T</sup> マウスにおいて *PAK1* の発現上昇が減弱を示した。また *PAK1* シグナリングに重要な *PAK1* の自己リン酸化においては、6<sup>T/T</sup> マウスで顕著に減弱しており、その下流の *MEK* のリン酸化も低下していた。従って、6<sup>T/T</sup> マウスは TPA 刺激に対する *PAK1* の発現上昇抑制と自己リン酸化抑制によって下流シグナルを減弱させている可能性が示唆された (図 4)。

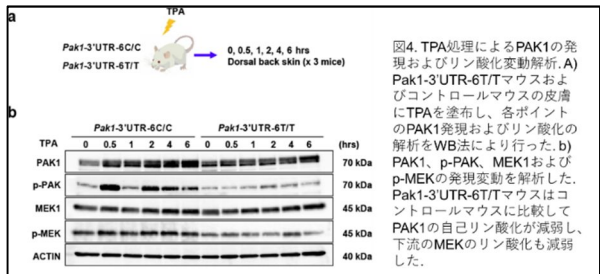


図4. TPA 処理による *PAK1* の発現およびリン酸化変動解析。A) *Pak1*-3' UTR-6T/T マウスおよびコントロールマウスの皮膚に TPA を塗布し、各ポイントの *PAK1* 発現およびリン酸化の解析を WB 法により行った。B) *PAK1*、p-*PAK*、*MEK1* および p-*MEK* の発現変動を解析した。*Pak1*-3' UTR-6T/T マウスはコントロールマウスと比較して *PAK1* の自己リン酸化が減弱し、下流の *MEK* のリン酸化も減弱した。

次にこの SNP による *Pak1* の発現調節の作用機序を検討した結果、当該 SNP が *Pak1* のポリアデニル化サイト (PAS) の選択的近位 PAS (pPAS) の近傍にあることに注目した。我々は SNP がポリアデニル化に影響を与えると推測し、ポリ A 配列検出用にカスタムした 3' mRNA-seq を実施した。その結果、6<sup>T/T</sup> マウスでは *Pak1*-3' UTR の pPAS のリード数が有意に低く、相対的に遠位 PAS (dPAS) が多くなる、つまり 3' UTR が長い転写産物が多く、当該 SNP によって *Pak1* のポリアデニル化が変化することが明らかとなった (図 5)。

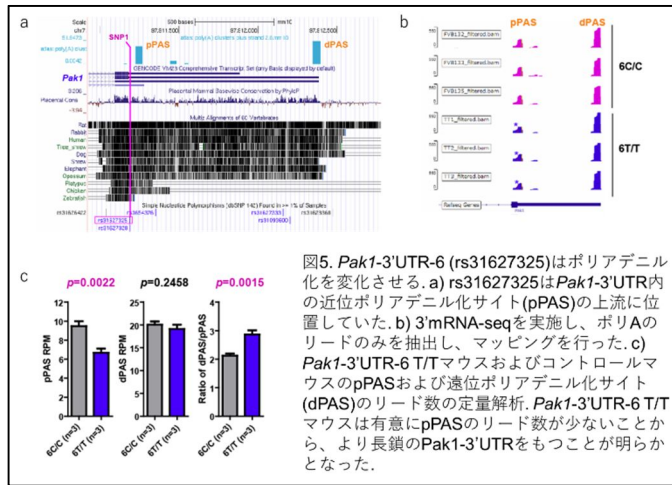


図5. *Pak1*-3'UTR-6 (rs31627325)はポリアデニル化を変化させる。a) rs31627325は*Pak1*-3'UTR内の近位ポリアデニル化サイト(pPAS)の上流に位置していた。b) 3'mRNA-seqを実施し、ポリAのリードのみを抽出し、マッピングを行った。c) *Pak1*-3'UTR-6 T/TマウスおよびコントロールマウスのpPASおよび遠位ポリアデニル化サイト(dPAS)のリード数の定量解析。*Pak1*-3'UTR-6 T/Tマウスは有意にpPASのリード数が少ないことから、より長鎖の*Pak1*-3'UTRをもつことが明らかとなった。

さらに、データベース上でこの SNP の位置に結合する RNA 結合因子を検索した結果、RNA プロセッシング因子である MBNL1 がヒットした。そこで、RNA 免疫沈降 (RIP) 法によって MBNL1 と *Pak1*-3' UTR の結合を比較した結果、TPA 処理後の 6C/C にのみ MBNL1 との結合が検出され、6T/T では検出されなかった (図 d)。MBNL1 は pPAS の近傍上流に結合した場合、pPAS のポリアデニル化を促進することがすでに報告されており、3' mRNA-seq の結果と一致した (図 6)。

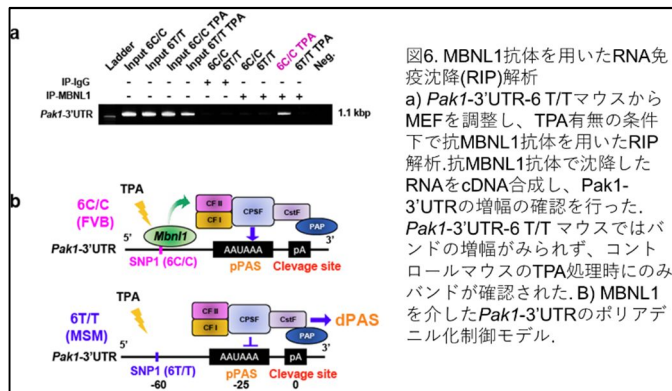


図6. MBNL1抗体を用いたRNA免疫沈降(RIP)解析  
a) *Pak1*-3'UTR-6 T/TマウスからMEFを調整し、TPA有無の条件下で抗MBNL1抗体を用いたRIP解析。抗MBNL1抗体で沈降したRNAをcDNA合成し、*Pak1*-3'UTRの増幅の確認を行った。*Pak1*-3'UTR-6 T/Tマウスではバンドの増幅がみられず、コントロールマウスのTPA処理時にのみバンドが確認された。B) MBNL1を介した*Pak1*-3'UTRのポリアデニル化制御モデル。

以上のことから、我々は、*Pak1* が *Stmm1a* の原因遺伝子の一つであること明らかにし、また *Pak1* の 3' UTR の SNP による選択的ポリアデニル化を介した腫瘍抑制機構モデルを提案した (図 7)。6<sup>T/T</sup> マウスでは TPA 処理後に PAK1 シグナルが減弱することや MBNL1 の結合が TPA 処理によって検出されることから、炎症などによる刺激と本機構が関連している可能性も考えられる。今後はヒトでも同様の機構が存在するかを明らかにすることで、新たながん予防や治療法の開発に貢献できると考えている。

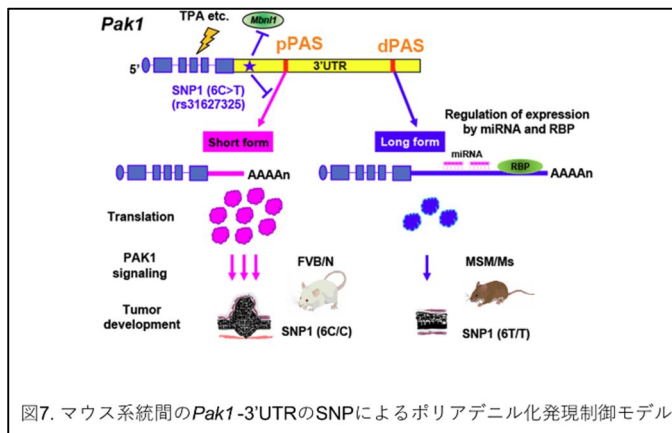


図7. マウス系統間の *Pak1*-3'UTR の SNP によるポリアデニル化発現制御モデル

加えて *Pak1* が発現するランゲルハンス細胞を含む樹状細胞および表皮細胞における機能の違いや、それらの細胞間の相互作用を明らかにするための解析が必要となる。我々は細胞特異的に *Pak1* を欠損できる *Pak1*<sup>lox</sup> マウスの作製にすでに成功している。さらに研究を進展させ細胞特異的 Cre マウスと *Pak1*<sup>lox</sup> マウスを交配し、それらの発がん実験を実施することで発がんにおける表皮細胞と樹状細胞の相互作用を明らかにしていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Okumura Kazuhiro, Saito Megumi, Wakabayashi Yuichi	4. 巻 70
2. 論文標題 A wild-derived inbred mouse strain, MSM/Ms, provides insights into novel skin tumor susceptibility genes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 272 ~ 283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.21-0017	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 Okumura Kazuhiro, Saito Megumi, Isogai Eriko, Wakabayashi Yuichi	4. 巻 13
2. 論文標題 The Japanese Wild-Derived Inbred Mouse Strain, MSM/Ms in Cancer Research	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1026 ~ 1026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13051026	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 Megumi, Sada Akane, Fukuyo Masaki, Aoki Kiyono, Okumura Kazuhiro, Tabata Yuko, Chen Yu, Kaneda Atsushi, Wakabayashi Yuichi, Ohki Rieko	4. 巻 142
2. 論文標題 PHLDA3 Is an Important Downstream Mediator of p53 in Squamous Cell Carcinogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1040 ~ 1049.e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2021.09.007	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 Okumura Kazuhiro, Saito Megumi, Isogai Eriko, Tokunaga Yurika, Hasegawa Yoshinori, Araki Kimi, Wakabayashi Yuichi	4. 巻 XXX
2. 論文標題 Functional Polymorphism in Pak1?3 Untranslated Region Alters Skin Tumor Susceptibility by Alternative Polyadenylation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 XXXX
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2022.02.009	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 Okumura K, Saito M, Yoshizawa Y, Ito Y, Isogai E, Araki K, Wakabayashi Y.	4. 巻 39
2. 論文標題 Pak1 maintains epidermal stem cells by regulating Langerhans cells and is required for skin carcinogenesis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncogene.	6. 最初と最後の頁 4756-4769
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-020-1323-3.	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, Kagawa N, Okumura K, Munakata H, Isogai E, Fukagawa T, Wakabayashi Y.	4. 巻 111
2. 論文標題 CENP-50 is required for papilloma development in the two-stage skin carcinogenesis model.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 2850-2860
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14533.	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 Okumura K, Saito M, Wakabayashi Y.	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 A wild-derived inbred mouse strain, MSM/Ms, provides insights into novel skin tumor susceptibility genes.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Exp Anim.	6. 最初と最後の頁 なし
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.21-0017.	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 Okumura K, Saito M, Isogai E, Wakabayashi Y.	4. 巻 13
2. 論文標題 The Japanese Wild-Derived Inbred Mouse Strain, MSM/Ms in Cancer Research.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers (Basel).	6. 最初と最後の頁 1026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13051026.	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7件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 奥村和弘
2. 発表標題 多段階皮膚がんマウスモデルを用いたがん修飾因子の同定
3. 学会等名 第68回日本実験動物学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥村和弘、齋藤慈、磯貝恵理子、荒木喜美、若林雄一
2. 発表標題 Pak1の3' UTR多型は代替ポリアデニル化を制御しマウス皮膚がん感受性に影響を与える
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥村和弘、齋藤 慈、吉澤康博、磯貝恵理子、荒木喜美、若林雄一
2. 発表標題 ランゲルハンス細胞のPak1遺伝子は皮膚幹細胞の維持に関与し多段階皮膚がんを制御する
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥村和弘、齋藤 慈、磯貝恵理子、荒木喜美、若林雄一
2. 発表標題 マウス系統間のPak1-3' UTRのSNPsはPAK1発現減少と腫瘍抑制に関連する
3. 学会等名 第66回実験動物学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥村和弘
2. 発表標題 MSMマウスにおける腫瘍抵抗性遺伝子の探索
3. 学会等名 第32回モロシヌス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥村和弘, 齋藤 慈, 磯貝恵理子, 荒木喜美, 若林雄一
2. 発表標題 順遺伝学に基づくMSMマウスの発がん抵抗性の解明
3. 学会等名 第34回発癌病理研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuhiro Okumura, Megumi Saito, Eriko Isogai, Yuichi Wakabayashi
2. 発表標題 Identification of responsible genes for Stmm loci conferring resistance to chemically induced skin tumors
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2019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
研究 分担者	若林 雄一  (Yuichi Wakabayashi)  (40303119)	千葉県がんセンター(研究所)・がんゲノムセンター 実験 動物研究部・部長   (82504)	



6. 研究組織（つづき）

	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	荒木 喜美  (Araki Kimi)  (90211705)	熊本大学・生命資源研究・支援センター・教授    (17401)	
研究協力者	長谷川 嘉則  (Hasegawa Yoshinori)  (30387683)	公益財団法人かずさDNA研究所・ゲノム事業推進部 遺伝子構造解析グループ・グループ長    (82508)	

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