

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06713

研究課題名(和文) ホヤ心臓の構築と動作に関する分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of cellular organization and operation in the ascidian heart

研究代表者

西野 敦雄 (Nishino, Atsuo)

弘前大学・農学生命科学部・教授

研究者番号：50343116

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)：心臓は、脊椎動物の生存に不可欠な器官であるが、その進化的起源については不明な点が多い。脊椎動物に最も近縁な無脊椎動物の系統に属するホヤ類の心臓は、拍動方向を定期的に反転させるという奇妙な特徴をもつ。我々は、カタユレイボヤの心臓において、二つの独立したペースメーカー細胞集団が心臓管の両端5%の領域(P領域とよぶ)に同在することを明らかにした。また本研究において、P領域と非P領域におけるトランスクリプトーム解析を行い、特定のイオンチャネル遺伝子が片方のP領域の心筋細胞に局限して発現することを明らかにした。この遺伝子をゲノム編集技術により破壊すると、心臓に明確な表現型が現れた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心臓の働きは、「生きている」状態をもっとも端的に象徴する。脊椎動物にとって、心臓は不可欠な器官だが、その進化的起源には不明な点が多く残されている。その理由の一つは、脊椎動物に最も近縁な無脊椎動物の系統である被囊動物がもつ心臓が、定期的に拍動する方向を変更するという、我々の心臓とは似ても似つかぬ奇妙な特徴を示すことにあると考えられる。我々は、ホヤと脊椎動物の心臓は、実は二つの振動子が結合されている系として共通していると考え、それらの間の共通点を探った。本研究は、拍動を制御するペースメーカー細胞の分子機構のレベルで、ホヤと脊椎動物の心臓には共通点があることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The heart is an essential organ in vertebrate animals, but its evolutionary origin is not so much clarified yet. Ascidiaceans belong to an animal group that is most closely related to the vertebrate lineage. Despite their close relationship to vertebrates, the heart of ascidiaceans is known to show a peculiar characteristic; the direction of pulsatile waves in the heart intermittently reverses. We analyzed the heart of *Ciona*, an ascidian experimental model and revealed that two independent cell populations that were located within < 5% terminal regions of the heart tube constitute sufficient pacemakers for heart pulsations. In addition, this study included transcriptome analyses among these pacemaker regions and non-pacemaker regions in between, which revealed that a particular ion channel encoding gene was expressed in one of the pacemaker cell populations. A gene knock-out analysis on this gene using TALEN constructs led to a severe phenotype in the heart.

研究分野：進化生理学

キーワード：ペースメーカー細胞 リズム生成 進化 脊索動物 尾索動物 被囊動物 心臓 拍動

1. 研究開始当初の背景

近年、哺乳類の心臓の研究は精力的に進められており、その形態形成・生理・再生医学的な知見が多角的に収集され、それぞれの分子メカニズムの理解も深まっている。我々の心臓には、「洞房結節」と「房室結節」という自律的に活動電位を発する特殊な心筋細胞集団が二つ独立に備わるが、このうち特に洞房結節が速いリズムを刻んで房室結節の遅いリズムをマスクすることで、心臓全体の拍動リズムを支配するとされる。この二つのペースメーカー細胞集団が、心臓の中で適切な位置に適切なリズムを刻むものとして生まれる構築プランは、脊椎動物系統を通じて普遍的なものだが、この固有の構築プランがどのような進化的起源をもつのか、未だよく分かっていない。

ホヤは、脊椎動物に最も近縁な無脊椎動物の系統に属する動物群である。その系統学的な位置から、ホヤは脊椎動物の起源と進化の理解に本質的な示唆を与える動物とみなされてきた。ホヤの心臓は、単層の心筋細胞の上皮シートから構成されている。この上皮シートは管状の形態を取って U 字型に長く伸び、この「心臓管」に沿って拍動の波が伝播することによって、管の中を通る体液の流動が引き起こされる(図1)。最近のホヤと脊椎動物の心臓の発生過程に関する比較研究から、それらの器官としての相同性が広く認識されるようになってきた。しかしその一方で、このホヤの心臓には拍動方向が定期的に反転するという奇妙な特徴があることが古くから知られ、その拍動方向反転の仕組みの詳細は 100 年以上の長きにわたって不明なままだった。

我々はこのような背景を踏まえ、ホヤの一種カタコウレイボヤの心臓を対象として、以下の二点に関する研究を立案した。

脊椎動物の心臓の構築プランはどのような進化的起源をもつのか？

ホヤ類の心臓の拍動方向が反転するのはどのような仕組みによるのか？

2. 研究の目的

我々は本研究の開始に先立って、カタコウレイボヤの心臓において、(i)二つの独立したペースメーカー細胞集団が心臓管の両端 5% の領域 (P 領域とよぶ) に限定的に存在し、(ii)P 領域以外の心筋細胞群 (非 P 領域) は自律的に拍動しないことを見出していた。また、(iii)一方の P 領域のリズムが他方より速いと、遅い側のリズムは顕在化しないこと、(iv)取り出した鰓側の P 領域と臓側の P 領域 (それぞれ PH 領域、PV 領域とよぶ) は、互いに異なる“変調リズム”を刻むことを観察していた(藤掛と西野, 2018, 日本動物学会)。以上の結果は、ホヤと脊椎動物の心臓が、「二つの独立したペースメーカー細胞集団が互いに異なるリズムを刻み、速いリズムを刻む方が他方の遅いリズムをマスクする」という動作原理を、互いに共有していることを示唆する。

本研究において我々は、ホヤの心臓がその両端にもつ二つのペースメーカー細胞集団 (P 領域) を分子レベルで特徴づけ、さらに実験生理学的に示された拍動反転の仕組みのモデルを数理的に検証することにより、長年謎だった拍動反転機構の解明につなげ、さらには脊椎動物の心臓の起源ととらえうる組織構築・動作原理上の特徴を分子レベルで提示することを目的として取り組んだ。

最近、脊椎動物の心臓発生に重要な役割を果たすことが知られている転写因子群の相同遺伝子が、ホヤの心臓発生にも重要であることが明らかになってきている。そうであるならば、「リズムを生み出す P 領域」と「受動的に収縮し、刺激を伝播する非 P 領域」の区画化や生理機能の分子メカニズムも、進化の歴史を超えて共通している可能性があるが、この問題に切り込む研究はこれまで行われていなかった。我々は、この P 領域と非 P 領域のパターニングと拍動反転機構に関する問題の焦点が、「心臓ペースメーカー細胞が自律的に活動電位を発する仕組み」の発現およびその機能的進化にあると考え、自律的な活動電位生成に関わるさまざまなイオン輸送体の発現と分子機能の解析、心臓の P 領域パターニングに関する解析、数理モデルによる実証的解析を行った。

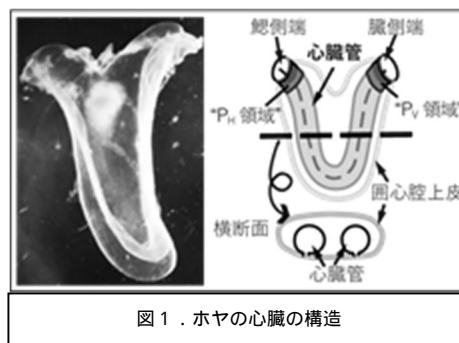


図1. ホヤの心臓の構造

3. 研究の方法

(1) PH 領域, PV 領域, 非 P 領域のトランスクリプトーム比較

カタコウレイボヤ成体を NBRP カタコウレイボヤ (野生型) (AMED) から入手して、その心臓管を単離した。心臓管の末端部は、鰓側の末端を PH 末端、胃側の末端を PV 末端とよぶ。心臓管をさらに両末端部と中心部に分け、拍動を継続した末端部を PH または PV 領域、拍動を停止した中心部を非 P 領域として収集した。PH, PV, 非 P 領域について、それぞれの領域ごとのサンプルを溶解して RNA 精製を行い、RNA-seq 解析を行うための十分量のサンプルを得た。RNA-seq データ

の取得を外部委託し (Filgen 社), 得られた生データについて, アダプター配列の除去, カタコウレイボヤにおける遺伝子モデルリストとの照合, TPM (transcripts per million) 値の算出を研究室において行った。全遺伝子モデルに関する発現量 (TPM 値) の比較を行うとともに, 特にすでにリストアップしていた転写因子をコードしている 312 遺伝子, イオンチャネルのサブユニットをコードしている 184 遺伝子, 細胞間シグナル伝達因子や 2 次メッセンジャー生成に関与する因子をコードする 167 遺伝子に特に注目して, 遺伝子産物の量と P 領域と非 P 領域の間の量比に注目して比較解析を行った。

(2) P 領域における HCN チャネル群の解析

上記の PH, PV 領域と非 P 領域の RNA-seq 解析の結果に基づき, カタコウレイボヤの HCN チャネル遺伝子群の解析を行った。カタコウレイボヤのゲノムの中に, HCN-a, -b, -c という 3 つの遺伝子を同定し, その全長の cDNA を心臓由来の RNA サンプルの逆転写物のプールから 5' -RACE と 3' -RACE を行うことによって得た。

この全長配列からプローブを作成し, 心臓管における空間的な発現パターンを in situ hybridization によって解析した。心臓管に対して in situ hybridization を行う方法は確立していなかったため, 本研究室において分担研究者と連携してプロトコルを確立した。Alkali-Phosphatase を Fast Red により赤蛍光で, Peroxidase を Tyramide Signal Amplification の方法にしたがって緑蛍光で検出する方法により, 2 種の転写産物の所在を同時に検出することも行った。

HCN チャネル群の遺伝子について, ゲノム編集技術により心臓において破壊する実験を行った。カタコウレイボヤでは, TALEN が有効であることが知られているので, 体全体ないし心臓特異的に発現が誘導される TALEN のコンストラクトを構築した。体全体で発現するコンストラクトについては EF1alpha 遺伝子のプロモータを, 心臓特異的に発現を誘導するコンストラクトについては, すでに心臓原基特異的な発現が知られる Mesp 遺伝子のプロモータを用いた。TALEN 発現コンストラクトは, 研究室で自作したエレクトロポレータを用いて受精卵に導入した。同じプロモータの下で発現が誘導され, 2A ペプチド配列により自己切断されて遊離する mCherry の蛍光により, コンストラクトが導入された個体を選抜した上で表現型の解析を行った。

(3) P 領域におけるレチノイン酸分解酵素の解析

同じく上記の RNA-seq 解析の結果に基づき, レチノイン酸酵素 Cyp26 に注目して解析を行った。カタコウレイボヤの Cyp26 遺伝子について, 心臓管に対して in situ hybridization を行った。また上記と同様に, TALEN コンストラクトを作製し, このコンストラクトをエレクトロポレーションによって受精卵に導入した。

(4) 拍動イベントの時系列解析

単離したカタコウレイボヤの心臓を, ディッシュにコートしたシルガード上にサボテンの針を使って固定した。この際, 上心嚢上皮と囲心嚢上皮を刺すのみで, 心臓管には傷をつけないようにした。このようにシルガード上に固定した心臓をビデオで撮影して, 拍動方向の反転が起こる際, および心臓管を半分に切断する前後の拍動パターンを記録した。この拍動パターンを記録した動画を ImageJ に読み込み, 心臓管の両末端の P 領域における輝度の変化を定量化し, 拍動の時間パターンを時系列データとして可視化した。また, さらにこの時系列データを, Python3 を使ってウェーブレット変換し, 拍動の時間パターンの周波数特性を分析した。

(5) 数理モデルによる拍動反転が起こる要件の解明

P 領域を体現するペースメーカー能を備えた細胞 (P 細胞) が両端に存在する 20 細胞からなる細胞列を仮定し, その両端で自律的に発せられた活動電位が, 間にある非 P 領域の作業心筋細胞にギャップ結合を介して伝播するというモデルを立てた。すべての細胞が FitzHugh-Nagumo 方程式にしたがって膜電位が決定されるとし, 両端の P 細胞は振動系 (自律的に活動電位を発する) のパラメータ条件をもち, 間の作業心筋細胞は興奮系 (隣接する細胞からの入力依存的に活動電位を発する) のパラメータ条件をもつと考えた。膜電位変化の時空間パターンを 4 次のルンゲ=クッタ法で近似して可視化した。

4. 研究成果

(1) PH 領域, PV 領域, 非 P 領域のトランスクリプトーム比較

PH 領域, PV 領域, 非 P 領域のそれぞれ独立 3 サンプル分の RNA-seq データを得て比較解析を進めた結果, P 領域で特に高い, あるいは低い, 発現量を示すイオンチャネルや転写因子, シグナル伝達因子を見出した。特にイオンチャネルをコードする 184 遺伝子に関する発現量を比較したものを図 2 に示す。さまざまな遺伝子が P 領域に, あるいは PH 領域ないし PV 領域ないし非 P 領域に相対的に高い発現量を示していることが明らかになった。このことが, 心臓の両末端に自律拍動能が限局する構築プランのもとになっていると考えられる。

この中で, 特に HCN チャネル遺伝子群において, P 領域にとくに強い発現があること, そして, パラログにより PH 領域で多いか PV 領域で多いかが異なるという興味深い特徴が見て取れた (図 3)。脊椎動物の心臓において, この HCN はまさに洞房結節や房室結節にペースメーカー能を付与するイオンチャネルであると考えられている因子であることから, 我々は本研究において, カタコウレイボヤが備える 3 つの HCN チャネルのパラログ遺伝子に注目して以降の解析を進めることにした。

また, シグナル伝達因子に注目した解析を行うプロセスで, 脊椎動物の心臓の形成過程におい

て、細胞増殖の制御やパターンニングに重要な役割を果たすレチノイン酸のシグナル伝達経路に関わる因子群のうち、ホヤの心臓においては Cyp26 というレチノイン酸の分解酵素の遺伝子産物が、非 P 領域に比べて P 領域で 3 倍以上の発現量を示すことが判明した。そこで、Cyp26 遺伝子についても注目して解析を進めることにした。

(2) P 領域における HCN チャネル群の解析

我々は、カタコウレイボヤのゲノム中に 3 つの HCN パラログ遺伝子が存在することを確認し、それらの全長の cDNA 配列のクローニングを行って、それぞれ HCN-a, HCN-b, および HCN-c とした。これらの心臓における遺伝子発現パターンを明らかにするために、カタコウレイボヤから取り出した心臓を固定し、さらに固定サンプルをスライドガラス上に貼り付けてから in situ hybridization を行うプロトコルを研究室で開発した。さらに研究分担者のグループの協力に基づく改良を経て、かなり高感度でシグナルを検出できるようになった。

その結果、HCN-c 遺伝子が心臓管の H 末端部において、リング状に発現することが分かった。また、2 色の蛍光色素でシグナルを検出する方法を適用することにより、すでに心臓管の末端部に存在することが知られていた、ペプチド産生に関わる PC2 遺伝子を発現する細胞 (PC2 陽性細胞) と、この HCN-c 陽性細胞は隣接していること、そしてこの HCN-c 陽性細胞は心筋細胞で発現するミオシン重鎖遺伝子も発現していることも示した。すなわち、ホヤの心臓においては、脊椎動物のペースメーカー能の発現に本質的に関わるイオンチャネルのパラログが、P 領域にまさに発現しており、しかもペプチド産生を行うような神経内分泌細胞的な細胞ではなく、特殊な心筋細胞に発現していることを示す。脊椎動物の心臓における洞房結節や房室結節のペースメーカー細胞も特殊な心筋細胞であるとみなされている。本研究の結果は、脊椎動物の心臓ペースメーカーの起源を考えるうえで興味深い示唆を与えるものと考えられる。

この HCN-c 遺伝子の発現を抑制するために、心臓領域特異的に遺伝子破壊を行う実験を行った。心臓特異的な発現を示す Mesp 遺伝子のプロモータ領域に TALEN コンストラクトを接続して、研究室で自作したエレクトロポレータによってこのコンストラクトを受精卵に導入し、心臓で TALEN が発現した個体を選抜して変態させたところ、TALEN が発現した個体においては心臓に明確な異常が観察されることが分かった。現在も詳細を解析している。

一方で、HCN-a と HCN-b 遺伝子については、心臓末端における遺伝子発現を in situ hybridization によっては検出できていない。さらに高感度な検出法を試みているところであり、またこれらについても心臓領域特異的な TALEN コンストラクトの導入実験を行っている。

(3) P 領域におけるレチノイン酸分解酵素の解析

レチノイン酸酵素 Cyp26 に注目し、その cDNA の配列に基づきプローブを作製して取り出した心臓に対して in situ hybridization を行った。その結果、RNA-seq 解析の結果とも対応するように、PH 領域と PV 領域の双方で強い発現シグナルが検出された。また、Cyp26 遺伝子に対して、心臓特異的に TALEN コンストラクトを発現させたところ、発現が観察された幼若体において有意に心拍が抑制される結果を得た。現在、さらに解析を進めているところである。

(4) 拍動イベントの時系列解析

カタコウレイボヤの成体から単離した心臓を透明なシルガード上にピンで留め、その拍動パターンを解析した。心臓管の中央部分で切断する操作を行う前後で、PH 領域と PV 領域でどのような周波数特性をもった拍動が起こるか、ウェーブレット変換を行って解析をしたところ、切断前に拍動の波が生じる側の末端における拍動リズムが、切断後においてもその末端で継続し、反対側の末端においては、その周波数よりも低い周波数特性をもつ傾向が明確に示された。また、切断をしていない心臓において、拍動がいったん止まって拍動反転が起こるパターン (休止) では、拍動周波数が徐々に減少した後で休止が起こり、その後、反対側からの拍動の波が始まること、そして、一方からの拍動の波が伝わっているのもう一方からの拍動の波が起こって、心臓管の中央部で二方向からの波がぶつかるイベントが起こった末に拍動反転が起こるパターン (衝突) では、拍動の波が起きていた側の末端の周波数を上回る形で拍動反転が達成されることが分かった。

(5) 数理モデルによる拍動反転が起こる要件の解明

上記の (4) の結果に基づき、FitzHugh-Nagumo 方程式のパラメータを、両末端の P 細胞で興奮系から興奮系に移行させるように変化させるようなモデル上での実験を行った。その結果、片

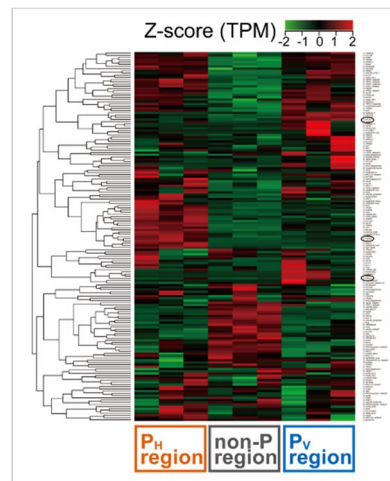


図2 .ホヤ心臓におけるイオンチャネル遺伝子群の領域別の発現量比較

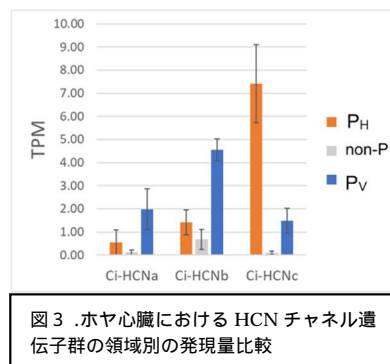


図3 .ホヤ心臓における HCN チャネル遺伝子群の領域別の発現量比較

方の P 細胞においては振動系から興奮系に移行させるのに対し、もう一方の P 細胞においては興奮系から振動系に移行するようにパラメータを変化させると、実際に、活動電位の伝播方向の反転現象が、休止期を伴う形で、モデル上で再現できることが分かった。また、一方の P 細胞において振動系が維持されたまま、他方の P 細胞において興奮系から振動系に移行するようにパラメータを変化させると、実際に、活動電位の伝播方向の反転現象が、衝突期を伴う形でモデル上において再現できることが分かった。以上の結果は、ホヤの心臓の反転現象は、両末端に位置する独立した P 領域において、興奮系と振動系のそれぞれの状態への移行が互いに異なった時間パターンで起こることによって十分に起こりえることを示すものである。

脊椎動物においても HCN チャネルの発現抑制や Cyp26 の発現抑制が心臓の形成に重大な欠損を引き起こすことが知られている。脊椎動物の心臓の P 領域が二つ独立に存在していることを考えても、これら (1) ~ (5) の成果は、ホヤの心臓における P 領域と非 P 領域からなる組織構築プランの理解を本質的に推し進めるものとなっただけでなく、我々哺乳類のものを含め、脊椎動物の心臓がもつ構築プランの基本形の提示につながるものであると期待できる。現在進行中の機能解析の結果を含め、本研究で明らかになることは、人体の成り立ちの理解にもつながる洞察を与えるものとなる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kawai Takafumi, Hashimoto Masaki, Eguchi Natsuki, Nishino Junko M., Jinno Yuka, Mori-Kreiner Risa, Aspaker Mans, Chiba Daijiro, Ohtsuka Yukio, Kawanabe Akira, Nishino Atsuo S., Okamura Yasushi	4. 巻 296
2. 論文標題 Heterologous functional expression of ascidian Nav1 channels and close relationship with the evolutionary ancestor of vertebrate Nav channels	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 100783 ~ 100783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.100783	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 Matsuo Koichi, Tamura Ryota, Hotta Kohji, Okada Mayu, Takeuchi Akihisa, Wu Yanlin, Hashimoto Koh, Takano Hidekazu, Momose Atsushi, Nishino Atsuo	4. 巻 9
2. 論文標題 Bilaterally asymmetric helical myofibrils in ascidian tadpole larvae	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 800455
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2021.800455	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 Takashi Hara, Shuya Hasegawa, Yasushi Iwatani, Atsuo S. Nishino	4. 巻 225
2. 論文標題 The trunk-tail junctional region in Ciona larvae autonomously expresses tail-beating bursts at ~20 second intervals.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Biology	6. 最初と最後の頁 jeb243828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2021.04.12.439438	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8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤掛雄馬, 西野純子, 笹倉靖徳, 西野敦雄
2. 発表標題 カタウレイボヤ心臓ペースメーカー細胞におけるHCNチャネル群の特異的な発現
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会（京都大会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長谷川修也, 原隆志, 岩谷靖, 西野敦雄
2. 発表標題 カタコウレイボヤ幼生の尾部の付け根には約20秒を測るタイマーが存在する
3. 学会等名 日本動物学会令和4年度東北支部大会 (弘前大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本篤郎, 西野敦雄
2. 発表標題 マボヤ幼生の筋細胞表面のアクチン繊維が平行に並ぶ要因の探索
3. 学会等名 日本動物学会令和4年度東北支部大会 (弘前大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤掛雄馬, 西野純子, 西野敦雄
2. 発表標題 カタコウレイボヤの心臓におけるイオンチャンネルに注目したRNA-seq解析およびHCNチャンネルの発現解析
3. 学会等名 日本生理学会第99回大会 (仙台大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤掛雄馬, 西野敦雄
2. 発表標題 カタコウレイボヤの心臓における拍動反転機構の実験生理学的解明
3. 学会等名 日本動物学会92回大会 (オンライン米子大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田峻馬, 笹平素生, 西野純子, 西野敦雄, 曾我部篤
2. 発表標題 ヨウジウオ科魚類におけるバソトシン1a1受容体遺伝子の消失
3. 学会等名 日本動物学会第92回大会 (オンライン米子大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西野純子, 井上潤, 神田真司, 西野敦雄
2. 発表標題 脊椎動物の頭部筋肉に特異的なミオシン重鎖遺伝子MYH16 の起源と進化
3. 学会等名 日本動物学会令和2年度東北支部大会 (オンライン開催)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西野将智, 黒岩夏澄, 西野敦雄
2. 発表標題 マボヤ幼生における被囊形成プロセス
3. 学会等名 日本動物学会令和2年度東北支部大会 (オンライン開催)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 西野敦雄 (末光隆志 総編集、著者多数)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 772
3. 書名 動物の事典 (「初期発生、幼生型と進化」の項目を執筆)	

〔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	藤原 滋樹 (Fujiwara Shigeki) (40229068)	高知大学・教育研究部自然科学系理工学部門・教授 (16401)	
研究分担者	藤本 仰一 (Fujimoto Koichi) (60334306)	大阪大学・大学院理学研究科・准教授 (14401)	

	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	岩谷 靖 (Iwatani Yasushi)	弘前大学・理工学研究科・准教授 (11101)	
研究協力者	笹倉 靖徳 (Sasakura Yasunori)	筑波大学・下田臨海実験センター・教授 (12102)	

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