

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：32670

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2016

課題番号：24370038

研究課題名(和文) ヒメミカツキモの性染色体領域解析による生殖様式進化の解明

研究課題名(英文) Analysis of evolution of sexual reproductive system in *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex, comparing sex-chromosome like regions

研究代表者

関本 弘之 (Sekimoto, Hiroyuki)

日本女子大学・理学部・教授

研究者番号：20281652

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：ヒメミカツキモのヘテロタリック株には、遺伝的に異なる+型株と-型株が存在する。本研究では、-型ゲノム特異的に存在する転写因子遺伝子CpMinus1を発見した。さらに、+型細胞内で異所的にCpMinus1を発現させた形質転換体は、いずれも交配相手が存在しない環境で弱い生殖反応を示した。また複数の株で、-型のように、+型に対して顕著に接合反応を示した。-型化した1株を用い、比較transcriptome解析を行ったところ、-型株と同様の遺伝子発現パターンへと顕著に変化していた。以上より、ヘテロタリック株において、CpMinus1遺伝子は主要な性決定遺伝子として機能することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We focused on *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex (*C. psl.* complex), which is one of the unicellular charophycean algae. They have two sexes: mating type plus (mt+) and mating type minus (mt-). However, the mechanism of sex determination had not been clarified. In this study, we found a gene, which was highly linked to mt- phenotype of the progenies. It encoded a putative transcription factor and was named CpMinus1. To evaluate the function, a construct for ectopic expression was prepared and introduced into mt+ strain. Among 6 stable transformants, 5 showed sexual reaction without mating partners, like as the case of homothallic strains. Two transformants (R5 and R6) tended to form zygotes with mt+ strain but not with mt- strain. The gene expression profile of strain R5 was drastically changed to that of mt- strains. We concluded that the CpMinus1 gene was responsible for both the expression of mt- phenotype and the suppression of mt+ phenotype in *C. psl.* complex.

研究分野：植物生殖生理学

キーワード：ミカツキモ 性決定遺伝子 性染色体 有性生殖 生殖様式

1. 研究開始当初の背景

本研究で注目した単細胞接合藻類であるヒメミカヅキモは、分子系統学的解析や微小形態の観察から、陸上植物ともっとも近縁な単細胞藻類であることが支持されており、また遺伝子導入系も確立し、植物の有性生殖の基本部分解明のためのモデル生物と位置づけられる。これまで、遺伝的に異なる+、-型細胞の間で有性生殖して、接合子を形成するヘテロタリック株(他殖系統)を用いた研究を進めており、二種類の糖タンパク質性の性フェロモンを介した細胞間コミュニケーションの実体が明らかにされ、有性生殖または性発現に関連する88種の遺伝子群が明らかにされている。しかしながら、これらはいずれも両接合型ゲノムに存在している遺伝子であり、これらを統御している接合型特異的なゲノム領域、性決定遺伝子の実体については不明であった。

一方、この種には、ヘテロタリック株(他殖系統)に加えてクローン内で接合子をつくるホモタリック株(自殖系統)が存在する。さらにヘテロタリック株には、生殖隔離した多くの交配群が存在しており、一部の系統では、ホモタリック株と部分的な他家接合反応を示す(Tsuchikane et al. 2011 Sex Plant Reprod)。このように、ヒメミカヅキモは、生殖隔離、生殖様式の進化の実体を理解する上で、非常に適している。さらに、新学術領域・ゲノム支援によるサポートを得て、+、-型細胞それぞれの概要ゲノム配列も解析が進んでいた。これらを踏まえて、ヒメミカヅキモを中心に、植物の性分化と性決定システム、生殖様式の進化の理解が進むことが期待されるようになった。

2. 研究の目的

本研究では、①ヒメミカヅキモの+型、-型細胞のそれぞれの概要ゲノム配列を比較し、性染色体領域を推定する。また、両性のゲノムより作製したBACライブラリーより、性染色体領域を含むクローンのスクリーニングとシーケンス解析を行い、両性の性染色体を構成する遺伝子群を詳細に明らかにする。得られた複数の性特異的遺伝子を、順次ヒメミカヅキモへ遺伝子導入し、性転換が起こるかどうかを検証し、性決定遺伝子を同定する。また、ホモタリック株について、ヘテロタリック株で見出された性決定遺伝子を探索し、生殖システムの進化に伴い、損機能にどのような変化が起こったかを検討する。

これらを総合して、植物における性分化、生殖機構の進化とゲノム変化との関係を包括的に理解することを目指すことを最終的な目的とした。

3. 研究の方法

(1) 概要ゲノム解析と接合型特異的な contig の探索

ゲノム支援により、ヒメミカヅキモ+型、-型それぞれの株について、Illumina HiSeq 2000, または 2500 を用いた paired end library (180、250、300、および 500 bp)、および mate-pair library (3 kb、5kb および 10 kb) の配列データを取得した。得られた short read data について、ALLPATHS-LG によるアセンブルを行い、+型細胞、-型細胞それぞれの概要ゲノム配列を決定した。さらに、それぞれの概要ゲノム情報を比較し、接合型特異的な contig を探索した。

ゲノム解読については、PacBio RSII によるシーケンシングも行い、FALCON によるアセンブルも行った。

(2) RNA-seq 解析

栄養生殖期(+型、-型それぞれ)、性分化期(+型、-型それぞれ)、有性生殖初期、有性生殖後期、接合子発芽期の計7種から RNA を調製し、Illumina GAIIx による short read data を Trinity によりアセンブルした。また、どの遺伝子のタグが何回出現するかにもとづき発現プロファイリングを行った。

(3) 性特異的遺伝子群の連鎖解析

RNA-seq、概要ゲノム解析をもとに、100% 片方の接合型細胞のみに存在している遺伝子群、および接合型特異的なゲノム contig を探索した。子孫の分離集団において、接合型と連鎖しているかどうかを PCR 解析によって確認した。

(4) 性染色体領域に存在する遺伝子の逆遺伝学的解析

接合型特異的な転写因子について、反対の性で強制発現させた形質転換体を作成し、表現型解析を行った。

(5) ホモタリック株における、ヘテロタリック株・性決定遺伝子オルソログの同定と解析

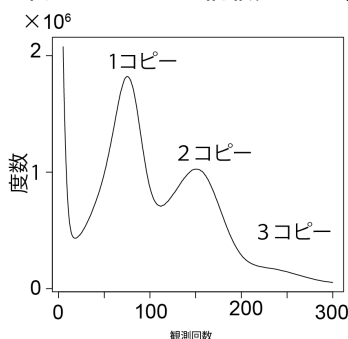
ホモタリック株の RNAseq 解析を行い、ヘテロタリック株の性決定遺伝子候補のオルソログを探索した。得られたオルソログについて、発現変動を解析すると共に、その発現を抑制した形質転換体を作成して、表現型を解析した。

4. 研究成果

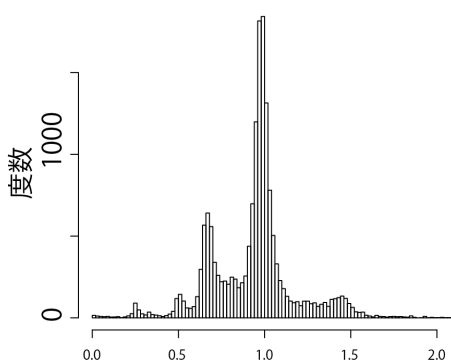
(1) 概要ゲノム解読

Illumina short read data を用いて、ALLPATHS-LG による解析を行ったが、+型および-型ゲノムの Contig N50 が 5.5 kb 及び 8.5 kb に、scaffold N50 が 70 kb 及び 64 kb になり、scaffold 長の合計は約 250 Mb に留まり、scaffold は十分につながらなかった。その理由として、ヒメミカヅキモのゲノムにおいて大規模な 2~3 コピー領域が存在し、さらに性により異なる多型があるという複雑な現象が関連していると考えられ、k-mer グラフで 2 倍から 3 倍に相

当するピークが認識された。



また、scaffold に+型、-型それぞれのリードデータをマッピングしたときの厚みの比が、1:2, 2:3 になる領域が多数見られることから、系統によってそのコピー数も異なっていると考えられた。



一型scaffold毎の+型リードと-型リードのマップ数の割合

さらに、P6-C4 ケミストリーによる PacBioRSII データ (+型、-型とも 23 セル分、30x ゲノムに相当) を取得したところ、FALCON による解析で、Contig N50 が 200 kb (contig 数は約 3000) にまで大きく改善したが、シーケンスの厚みの振れ方が不安定で精度に疑問が残るとともに、この解析からは、性染色体全体を捉えられなかった。

(2) RNAseq 解析を足がかりとした性決定遺伝子候補の同定

Illumina short read data をアセンブルした結果、68635 の contig が得られた。それらの contig に対して、各ステージにおける発現プロファイリングを行い、+型細胞のみで発現すると思われる 184 contigs と-型細胞のみで発現すると思われる 90 contigs を取得した。さらに、これらを概要ゲノムに照らし合わせ、ゲノム特異的と思われる contigs を+型、-型ともに3つずつ見出した。

(3) 子孫株における連鎖解析と *CpMinus1* の同定

上記で得られた contigs について、20 の子孫株の示す性表現と連鎖するかを調べた。その結果、2つの-型特異的 contigs が子孫株の-型性表現と完全に連鎖を示した。このうちの一方は、転写因子をコードしており、性決定に関わる可能性が高いとして、*CpMinus1*

と名付けた。もう一方については、非常に発現量が低く、全長の配列のクローニングも困難であり、さらに遺伝子機能の推定も不可能であったため、以後の解析では、*CpMinus1* に絞ることとした。

(4) *CpMinus1* の逆遺伝学的解析

+型株において *CpMinus1* cDNA を *CpHSP70* プロモーター制御下にて発現させた形質転換体を作成したところ、いずれも交配相手が存在しない環境で弱い生殖反応を示す、ホモタリック株に似た性質を示した。中でも R5、R6 の 2 株は、+型と混合することで顕著に接合反応を示し、-型との混合ではほとんど接合子を形成せず、まるで-型のように振舞った。さらに、+型株、-型株、R5 株を窒素源欠乏条件で培養し、それぞれから 36 SE の short read データ(x 3) を取得した。各条件を比較し、q value を $1E-05$ 未満に設定し DEG (Differentially Expressed Genes) を得たところ、+型・R5 間で 218 contigs が検出され、そのうちの 167 contigs は+型・-型間でも DEG として検出された。共通する 167 contigs に注目すると、+型に対する発現変動パターンは、R5 および-型で完全に一致した。以上より、R5 が-型の形質を強く保持しており、*CpMinus1* 遺伝子の存在がヒメミカツキモの性を決定することが明らかになった。

(5) ホモタリック株における *CpMinus1* オルソログ遺伝子の解析

ホモタリック株(naga37s-1) の RNAseq 解析を行ったところ、*CpMinus1* 相同遺伝子 (*CpMinus1N*) の存在が明らかになった。*CpMinus1N* 遺伝子は、有性生殖初期にのみ顕著に発現した。次に、*CpMinus1N* 遺伝子の発現抑制用コンストラクトを導入した naga37s-1 形質転換体を確立した。接合を誘起したところ、形質転換体の接合子形成率が低下する傾向が観察され、ホモ株の自殖に *CpMinus1N* 遺伝子が必要とされることが示唆された。また、形質転換体を近縁なヘテロ株と掛け合わせたところ、+型細胞との接合率が増加したことから、-型細胞へと他殖化する傾向が示唆された。以上より、接合様式の決定に *CpMinus1N* 遺伝子が関与することが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 10 件)

Sekimoto, H. (2017) Sexual reproduction and sex determination in green algae, *Journal of Plant Research*, in press. (査読有)

Abe, J., Hori, S., Sato, M., Sekimoto, H. (2016) Concanavalin A disrupts the release of fibrous material necessary for

zygote formation of a unicellular charophycean alga, *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex. *Frontiers in Plant Science* 7:1040. doi: 10.3389/fpls.2016.01040 (査読有)

Abe, J., Hirano, N., Komiya, A., Kanda, N., Fujiwara, A., Hori, S., Tsuchikane, Y., Sekimoto, H. (2016). Preparation of knockdown transformants of unicellular charophycean alga, *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex. *Bio-protocol* 6(10): e1813. <http://www.bio-protocol.org/e1813> (査読有)

Delaux, P-M. et al.. Sekimoto, H. (員数 22、7 番目), Nishiyama, T. (員数 22、8 番目) (2015) The algal ancestor of land plants was pre-adapted for symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 112: 13390-13395. doi:10.1073/pnas.1515426112 (査読有)

Hirano, N. et al.. Abe, J. (員数 8、3 番目), ... Tsuchikane, Y. (員数 8、7 番目), Sekimoto, H. (員数 8、8 番目) (2015) A receptor-like kinase, related with cell wall sensor of higher plants, is required for sexual reproduction in the unicellular charophycean alga, *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex. *Plant Cell Physiol.* 56: 1456-1462. doi:10.1093/pcp/pcv065 (査読有)

Tsuchikane, Y., Nakai, A., Sekimoto, H. (2014) Detailed analysis on the parthenospore formation in *Closterium moniliferum* (Zygnematophyceae, Charophyta). *Phycologia* 53 (6): 571-578. DOI: 10.2216/14-35R1.1 (査読有)

Sato, M., Sakayama, H., Sato, M., Ito, M., Sekimoto, H. (2014) Characterization of sexual reproductive processes in *Chara braunii* (Charales, Charophyceae). *Phycol. Res.* 62: 214-221. doi: 10.1111/pre.12056 (査読有)

Hiraide, R., Kawai-Toyooka, H., Hamaji, T., Matsuzaki, R., Kawafune, K., Abe, J., Sekimoto, H., Umen, J., Nozaki, H. (2013) The evolution of Male-Female sexual dimorphism predates the gender-based divergence of mating locus gene *Mat3/RB*. *Mol. Biol. Evol.* 30(5): 1038-1040. doi:10.1093/molbev/mst018 (査読有)

Hori, S., Sekimoto, H., Abe, J. (2012) Properties of cell surface carbohydrates in sexual reproduction of the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex (Zygnematophyceae, Charophyta). *Phycol. Res.* 60: 254-260. doi: 10.1111/j.1440-1835.2012.00656.x (査読有)

Tsuchikane, Y., Tsuchiya, M., Hindák, F., Nozaki, H., Sekimoto, H. (2012) Zygospore

formation between homothallic and heterothallic strains of *Closterium*. *Sex Plant Reprod.* 25 : 1-9. DOI 10.1007/s00497-011-0174-z (査読有)

[学会発表] (計 42 件)

今詩織、神田奈保、藤原安理、市川真知子、関本弘之「CRISPR/Cas9 システムを利用したヒメミカヅキモのマイナス型細胞特異的受容体型キナーゼ遺伝子 *CpRLK2* の機能解析」日本植物生理学会第 58 回大会、鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市) 2017 年 3 月 18 日

露木奈津美、神田奈保、小宮あゆみ、川井絢子、土金勇樹、西山智明、関本弘之「ヒメミカヅキモの *CpMinus1* 遺伝子の逆遺伝学的解析」日本植物生理学会第 58 回大会、鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市) 2017 年 3 月 18 日

神田奈保、西山智明、土金勇樹、関本弘之「CRISPR/Cas9 システムを利用したヒメミカヅキモのマイナス型細胞特異的受容体型タンパク質 *CpRPL1* の機能解析」日本植物生理学会第 58 回大会、鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市) 2017 年 3 月 17 日

神田奈保、関本弘之「ヒメミカヅキモの受容体型タンパク質 *CpRPL1* の逆遺伝学的解析」日本植物学会第 80 回大会、沖縄コンベンションセンター (沖縄県・宜野湾市) 2016 年 9 月 16 日

川井絢子、金澤愛樹、早川靖彦、関本弘之「エレクトロポレーションによるシャジクモ藻類ヒメミカヅキモの安定形質転換系の確立」日本植物学会第 80 回大会、沖縄コンベンションセンター (沖縄県・宜野湾市) 2016 年 9 月 16 日

関本弘之「シャジクモ藻類ヒメミカヅキモの性決定機構の解析」日本植物学会第 80 回大会、沖縄コンベンションセンター (沖縄県・宜野湾市) 2016 年 9 月 16 日 (招待講演)

Sekimoto, H., Komiya, A., Nishiyama, T. “The *CpMinus1* gene, specifically localized on the mating-type minus genome, is responsible for the sex determination of heterothallic *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex” EMBO Workshop –New model systems for early land plant evolution, Vienna, Austria, June 24, 2016.

Hiroyuki Sekimoto「Sexual reproduction and sex determination of green algae」第 79 回日本植物学会、新潟大学 (新潟県・新潟市) シンポジウム “Fusion” in Fertilization: Interdisciplinary Collaboration among Plant and Animal Scientists, 2015 年 9 月 7 日 (招待講演)

小宮 あゆみ、阿部 淳、川井 絢子、

鈴木 穰、豊田 敦、藤山 秋佐夫、大槻 涼、土金 勇樹、西山 智明、関本 弘之「*CpMinus1* 遺伝子はヒメミカツキモの性を決定する」日本植物学会第 79 回大会、新潟・朱鷺メッセ(新潟県・新潟市)2015 年 9 月 8 日

神田 奈保、市川 真知子、小野 彩花、土金 勇樹、関本 弘之「ヒメミカツキモの受容体型タンパク質 CpRLP1 の機能解析」日本植物学会第 79 回大会、新潟・朱鷺メッセ(新潟県・新潟市)2015 年 9 月 7 日

Komiya, A., Abe, J., Kawai, J., Suzuki, Y., Ootsuki, R., Tsuchikane, Y., Nishiyama, T., Sekimoto, H. “The *CpMinus1* gene, specifically localized on the mating-type minus genome, is responsible for the sex determination of heterothallic *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex” 6th European Phycological Congress, London, England, August 25, 2015.

Kanda, N., Ichikawa, M., Ono, A., Tsuchikane, Y., Abe, J., Sekimoto, H. “Characterization of a sex-specific receptor-like protein, expressing during the conjugation of heterothallic *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex” 6th European Phycological Congress, London, England, August 25, 2015.

Sekimoto, H. “A receptor-like kinase, related with cell wall sensor of higher plants, is responsible for sexual reproduction in the unicellular charophycean alga, *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex” 6th European Phycological Congress, London, England, August 25, 2015.

土金 勇樹、横山 佳奈、鈴木 穰、西山 智明、関本 弘之「ホモタリックなヒメミカツキモにおける *CpMinus1* 相同遺伝子の機能解析」日本藻類学会第 39 回大会、九州大学(福岡県・福岡市)2015 年 3 月 21 日

横山 佳奈、関本 弘之、鈴木 穰、西山 智明、土金 勇樹「自殖するミカツキモにおける性決定遺伝子 *CpMinus1* の機能解析」日本植物分類学会第 14 回大会、福島大学(福島県・福島市)2015 年 3 月 6 日

川井 絢子、阿部 淳、鈴木 穰、豊田 敦、藤山 秋佐夫、土金 勇樹、西山 智明、関本 弘之「シャジクモ藻類ヒメミカツキモにおける陸上植物特異的な転写因子の探索と発現解析」日本植物学会第 78 回大会、明治大学(神奈川県・川崎市)2014 年 9 月 14 日

市原 健介、滝口 若菜、原 真由美、土金 勇樹、阿部 淳、関本 弘之「ヒメミカツキモの性フェロモンと結合するファシクリン I タンパク質の機能解析」日本植

物学会第 78 回大会、明治大学(神奈川県・川崎市)2014 年 9 月 12 日

土金 勇樹、西山 智明、関本 弘之「接合藻ヒメミカツキモにおけるホモタリズムの進化」日本植物学会第 78 回大会、明治大学(神奈川県・川崎市)2014 年 9 月 12 日

小宮 あゆみ、阿部 淳、川井 絢子、鈴木 穰、豊田 敦、藤山 秋佐夫、大槻 涼、土金 勇樹、西山 智明、関本 弘之「ヒメミカツキモの型細胞ゲノム特異的遺伝子 *CpMinus1* の機能解析」日本植物学会第 78 回大会、明治大学(神奈川県・川崎市)2014 年 9 月 12 日

関本 弘之「シャジクモ藻類ヒメミカツキモの有性生殖機構」第 84 回日本動物学会、岡山大学(岡山県・岡山市)シンポジウム「受精機能と生殖戦略の進化～藻類から脊椎動物まで」2013 年 9 月 26 日(招待講演)

⑳ 関本 弘之、平野 直子、大槻 涼、川井 絢子、土金 勇樹、西山 智明、阿部 淳「シャジクモ藻類ヒメミカツキモの有性生殖制御」第 77 回日本植物学会、北海道大学(北海道・札幌市)シンポジウム「アルガルセックス：有性生殖と生活環制御が切り拓く藻類バイオの新戦略」2013 年 9 月 13 日(招待講演)

㉑ 平野 直子、土金 勇樹、丸川 祐佳、阿部 淳、関本 弘之「ヒメミカツキモの有性生殖に関わる受容体型キナーゼ CpRLK1 の生理機能」日本植物学会第 77 回大会(北海道大学)2013 年 9 月 13 日

㉒ Tsuchikane, Y., Sekimoto, H. “Characterization of a conjugation processes in homothallic *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex” 10th International phycological congress, Orlando, Florida USA, August 9, 2013.

㉓ Sekimoto, H., Hirano, N., Marukawa, Y., Abe, J., Tsuchikane, Y. “A receptor-like kinase responsible for the progress of sexual reproduction of a charophycean alga, *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex” 10th International phycological congress, Orlando, Florida USA, August 6, 2013.

㉔ 土金 勇樹、西山 智明、関本 弘之「生殖隔離に関わる性フェロモンのゲノムレベルでの特徴」日本藻類学会第 37 回大会、山梨大学(山梨県・甲府市)2013 年 3 月 28 日

㉕ Sekimoto, H., Hirano, N., Marukawa, Y., Tsuchikane, Y., Abe, J. “Intercellular communication in sexual reproduction of a unicellular charophycean alga, *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex” International Symposium on the Mechanisms of Sexual Reproduction in Animals and Plants, Nagoya, November 16, 2012. (招待講演)

㉖ Tsuchikane, Y., Sekimoto, H. “Sexual recognition between homothallic and heterothallic strains of *Closterium*” International

Symposium on the Mechanisms of Sexual Reproduction in Animals and Plants, Nagoya, November 15, 2012.

⑳ Hirano, N., Marukawa, Y., Hashiba, S., Tsuchikane, Y., Abe, J., Sekimoto, H. "A novel receptor-like protein kinase, CpRLK1, involved in the sexual reproduction of a unicellular charophycean alga, *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex." International Symposium on the Mechanisms of Sexual Reproduction in Animals and Plants, Nagoya, November 14, 2012.

㉑ 関本弘之、滝口若菜、原真由美、高橋紗也香、土金勇樹、阿部淳「ヒメミカツキモの性フェロモン PR-IP Inducer 結合分子の特性解析」日本植物学会第 76 回大会、兵庫県立大学（兵庫県・姫路市）2012 年 9 月 15 日

〔図書〕(計 4 件)

分担執筆「藻類ハンドブック」(渡辺信編著)性フェロモン(関本弘之、p. 271-275) (株)エヌ・ティー・エス、(2012)

分担執筆「動植物の受精学」(澤田均 編著)「第 4 章 藻類の有性生殖(野崎久義、関本弘之、p. 60-75)」化学同人(京都)(2014). 総ページ: 333

Sekimoto, H., Abe, J., Tsuchikane, Y. (2014) Mechanism of sexual reproduction in fresh water microalgae. In "Reproductive Biology of Plants", Ramawat, K.G. ed. CRC press. 総ページ: 380

Sekimoto, H., Tsuchikane, Y., Abe, J. (2014) Sexual reproduction of a unicellular charophycean alga, *Closterium peracerosum-strogosum-littorale* complex. In "Sexual Reproduction in Animals and Plants", Sawada, H. et al. eds. Springer. 総ページ: 480

〔その他〕

ホームページ等

<http://mcm-www.jwu.ac.jp/~sekimoto/~/Site/Home.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関本 弘之 (SEKIMOTO, Hiroyuki)
日本女子大学・理学部・教授
研究者番号: 20281652

(2) 研究分担者

西山 智明 (NISHIYAMA, Tomoaki)
金沢大学・学際科学実験センター・助教
研究者番号: 50390688

(3) 連携研究者

阿部 淳 (ABE, Jun)
日本女子大学・理学部・学術研究員

研究者番号: 10424764

土金 勇樹 (TSUCHIKANE, Yuki)
日本女子大学・理学部・助教
研究者番号: 20434152

(4) 研究協力者

川井 絢子 (KAWAI, Junko)
日本女子大学・理学部・学術研究員
研究者番号: 30727673

大槻 涼 (OOTSUKI, Ryo)
日本女子大学・理学部・学術研究員
研究者番号: 10646962

小宮 あゆみ (KOMIYA, Ayumi)

藤原 安理 (FUJIWARA, Anri)

神田 奈保 (KANDA, Naho)

金澤 愛樹 (KANAZAWA, Manaki)