報道解禁：日本時間 2025 年 9 月 23 日午前 4 時・23 日付朝刊

PRESS RELEASE

2025 年 9 月 22 日
理化学研究所、東京大学
株式会社ユーグレナ、山形大学
鶴岡工業高等専門学校、高知大学
長崎大学、横浜市立大学

ユーグレナにおけるイントロンの非従来型配列規則を解明

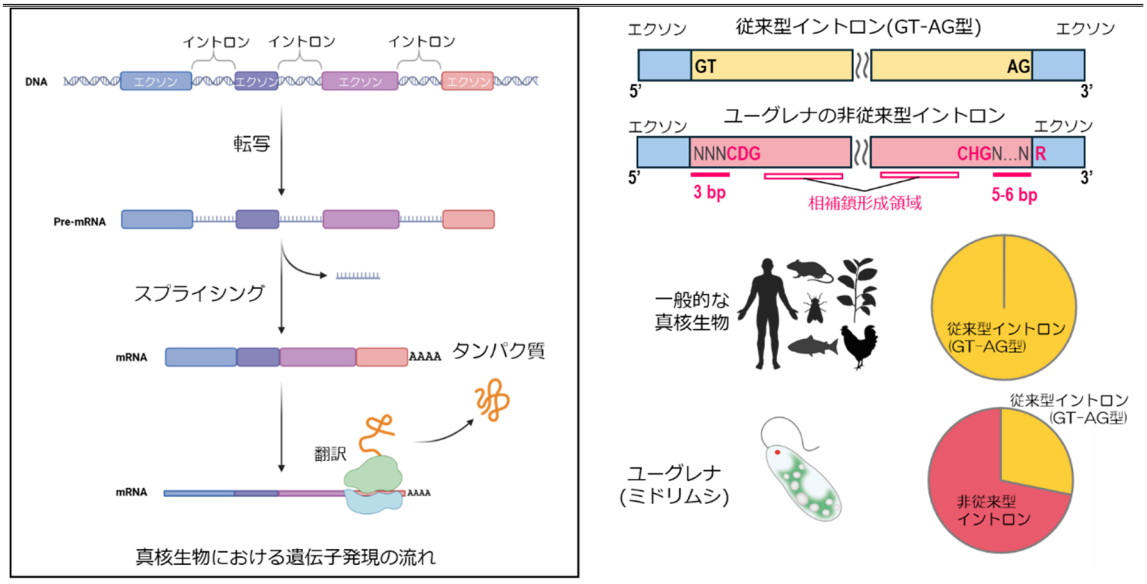
ー真核生物の新たな遺伝子発現の塩基配列ルールー

概要

理化学研究所（理研）環境資源科学研究センターバイオ生産情報研究チームの野村俊尚客員主管研究員（山形大学農学部准教授）、キム・ジュンシク研究員、持田恵一チームディレクター（最先端研究プラットフォーム連携（TRIP）事業本部藻類資源アップサイクル研究チーム副チームディレクター、長崎大学情報データ科学部教授、横浜市立大学木原生物学研究所客員教授）、東京大学大学院理学系研究科化学専攻の合田圭介教授、株式会社ユーグレナの鈴木健吾エグゼクティブフェロー（理研 TRIP 事業本部藻類資源アップサイクル研究チームチームディレクター）、鶴岡工業高等専門学校創造工学科基盤教育グループの伊藤卓朗准教授、高知大学農林海洋科学部の櫻井哲也教授らの共同研究グループは、真核生物の遺伝子発現において重要な過程である mRNA スプライシング[1]において、ユーグレナ[2]（和名：ミドリムシ）では、従来の真核生物で広く見られる配列ルールに加えて、全く異なるルールに従うイントロン[3]を多数併用していることを明らかにしました。

本研究は、従来型と非従来型の二つのイントロンが共存する生物種の実例を分子遺伝学的に示した初めての成果であり、ゲノム編集[4]による合成イントロンの導入と合わせることで、遺伝子機能の発現制御などへの応用が可能になると期待されます。

本研究は、科学雑誌『*Proceedings of the National Academy of Sciences*（*PNAS*）』オンライン版に 9 月 22 日の週に掲載されます。



真核生物の遺伝子発現とユーグレナゲノムの非従来型イントロン
（Created in BioRender. Mochida, K. (2025) https://BioRender.com/cmake22）

背景

私たちヒトを含む真核生物の遺伝子の多くは、タンパク質のアミノ酸配列などをコードするエクソン[3]と呼ばれる領域と、非コード領域として mRNA のプロセッシングの過程でスプライシングという機構により除去されるイントロンと呼ばれる領域で構成されています。正確に遺伝子機能を発現するには、スプライシングを担うタンパク質が、ゲノム DNA 上で正確にイントロンの領域を認識する必要があるため、一般的なイントロンの末端は、はじまりが「G（グアニン）T（チミン）（まれに GC（シトシン））」の 2 塩基で、終端は「A（アデニン）G」の 2 塩基で構成されています。この配列ルールにのっとっていないイントロンはまれであるため、「GT-AG ルール」は真核生物の遺伝子発現機構における基本的なルールとして分子生物学の教科書に記載されるとともに、ゲノム DNA 配列から遺伝子構造を探索する際の重要な目印となっています。

これまで、ユーグレナの一部の遺伝子では、GT-AG ルールにのっとっていないイントロンが存在することが報告されていましたが、そうした非従来型のイントロンがゲノム上にどれくらい存在し、この非従来型のイントロンをスプライシングするための配列ルールが存在しているのかは明らかにされていませんでした。そのため、ユーグレナゲノムにコードされている遺伝子とその構造も十分に解明されていませんでした。そこで、本研究では、ユーグレナのイントロンをゲノムワイドに調査するとともに、非従来型のイントロンのスプライシングに必要な配列ルールの解明に挑みました。

研究手法と成果

今回、共同研究グループは、ユーグレナのゲノム上の遺伝子構造を網羅的に解

析し、大半のイントロン領域の DNA 配列が、教科書的に知られている GT-AG ルールにのっとっていないことを見いだしました。GT-AG ルールを逸脱した配列の特徴が、スプライシングに関与するかどうかを調べるために、これまでに開発したゲノム編集技術[注)] を用いて、塩基を書き換えた合成イントロンをユーグレナゲノム内に導入し、そのスプライシングの成否を確認する実験を重ね、これらの非従来型イントロンのスプライシングに必要な DNA 配列の構成要素を解読しました。さらに、この構成要素を持つ完全に人工的な DNA 配列をユーグレナに導入しても、正確にスプライシングを誘導できることを示しました。具体的な研究とその成果は次の通りです。

まず、共同研究グループは、ユーグレナ藻類の中で比較的ゲノムサイズが小さいとされるユーグレナ・アジリス（*Euglena agilis*）の全ゲノム解析とトランスクリプトーム（細胞内の全転写産物）解析による発現遺伝子の配列解読を行い、発現遺伝子の配列をゲノム配列にマッピングすることで、エクソン-イントロン構造を調べました。その結果、ゲノム上に見いだした約 65 万カ所のイントロンのうち、71.8%のイントロンが GT-AG ルールから逸脱していることが示唆されました。この GT-AG ルール逸脱型イントロン（非従来型イントロン）とエクソンとの境界領域の配列を観察すると、いくつかの配列に特徴があることが示唆されました。

具体的には、①非従来型イントロンは開始側に CAG に富むモチーフ（保存的な配列）、終端側に CTG に富むモチーフを有する、②エクソン-イントロン境界から数えて、CAG モチーフの前に 3 塩基、CTG モチーフの前に 5 塩基の間隔がある、③イントロンの終端の隣の塩基（後ろ側エクソンの開始塩基）はプリン塩基[5]（A または G）に富む、④CAG モチーフ、CTG モチーフからそれぞれイントロンの内側に向かって 10 塩基程度の塩基対を形成する相補配列[6]領域で構成されている、というものでした（図 1）。

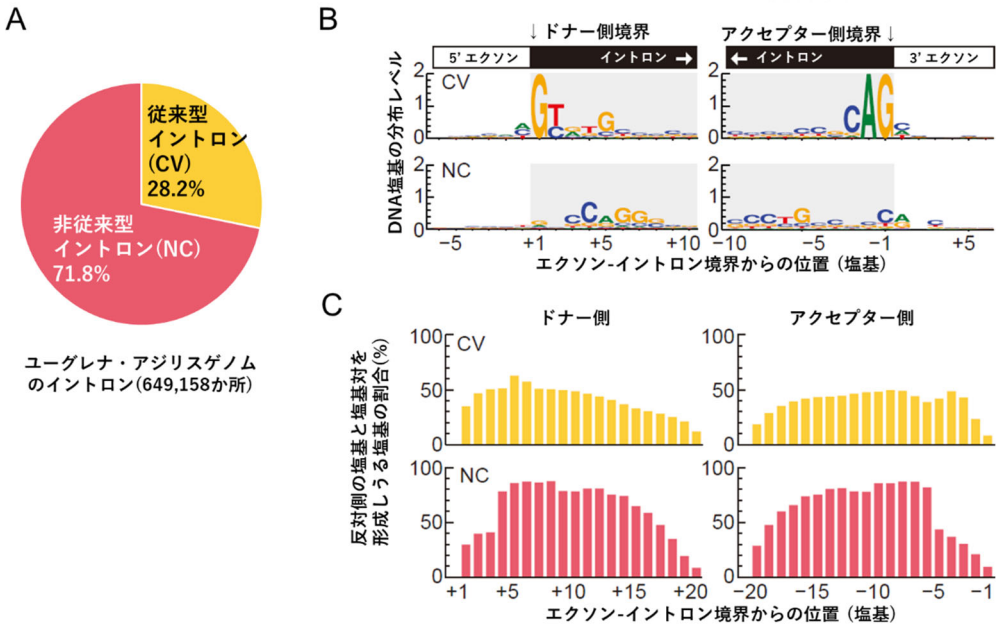


図 1 ユーグレナ・アジリスのゲノム中のイントロン

（A）ユーグレナ・アジリスのゲノム中のイントロンにおける従来型イントロン（CV）と非従来型イントロン（NC）の分布。従来型イントロンは末端配列が GT-AG または GC-AG ルールにのっとっているもの、非従来型イントロンは、それら以外を集計した。(B) 従来型イントロン（CV）と非従来型イントロン（NC）のエクソン-イントロン境界の塩基配列プロファイル。（C）エクソン-イントロン境界からイントロンの内部に向かっての塩基対を形成する塩基の分布の従来型イントロン（CV）と非従来型イントロン（NC）の比較。

次に、これらの配列の特徴がユーグレナの非従来型イントロンのスプライシングの成否に関わるかを調べました。まず、ユーグレナ・アジリスのゲノム上から、50 塩基程度の短いイントロン配列を見つけ、それらをゲノム編集によりユーグレナ・グラシリス（*Euglena gracilis*）のパラミロン（貯蔵多糖）合成に関わる *EgGSL2* 遺伝子の第 2 エクソンに導入し、パラミロン顆粒（かりゅう）の蓄積と *EgGSL2* 遺伝子から転写された mRNA の配列を調べました。このユーグレナ・アジリス由来のイントロンを導入したグラシリス系統の細胞では、パラミロン顆粒の蓄積が観察されていました。また、これらの系統においては、*EgGSL2* 遺伝子から転写された mRNA の配列では、導入したユーグレナ・アジリスイントロンが正しくスプライシングを受けて除去されていました。従って、同様の現象は、グラシリスに由来する 49 塩基のイントロンでも再現することが可能でした。これらのことから、50 塩基程度の DNA 配列内に、ユーグレナの非従来型イントロンのスプライシングに必要な配列要素が含まれていることが示唆されました。また、これらのイントロンの塩基配列を人為的に改変して *EgGSL2* 遺伝子に導入し、パラミロン顆粒の蓄積と関連性を調べることで、どの塩基配列の特徴がスプライシングに必要か調べることが可能になりました（図 2）。

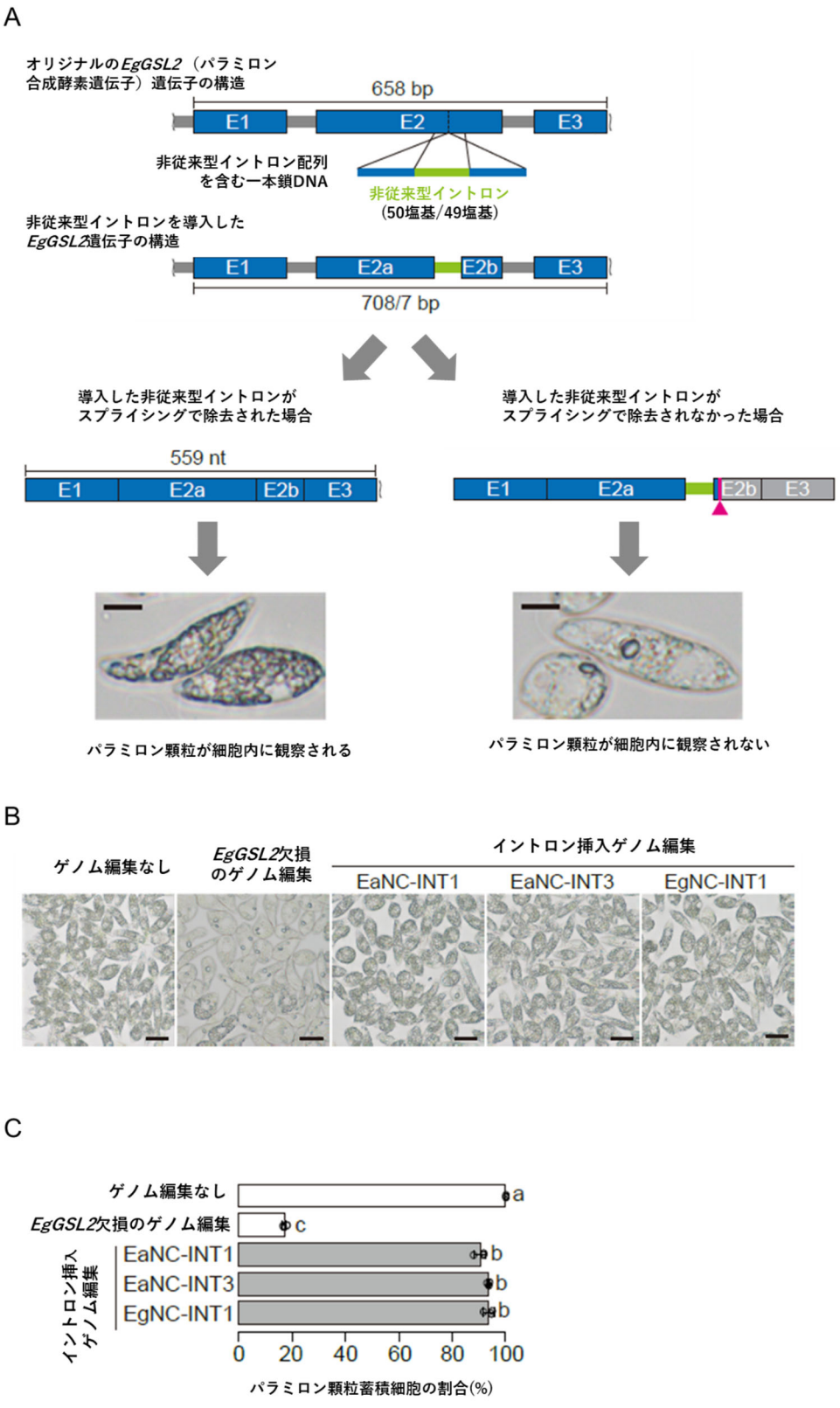


図 2 *EgGSL2* 遺伝子第 2 エクソン内部へのイントロン導入とパラミロン顆粒の蓄積

（A）ユーグレナ・グラシリスの *EgGSL2* 遺伝子の構造と、ゲノム編集による第 2 エクソン（E2）内部へのイントロンの導入、および導入イントロンのスプライシング評価の模式図。実験では、50 塩基程度の非従来型イントロンの配列を導入できる 1 本鎖オリゴデオキシヌクレオチド（ssODN）をゲノム編集により *EgGSL2* 遺伝子の第 2 エクソン内部へ導入した。これにより *EgGSL2* 遺伝子の第 2 エクソン E2 は E2a と E2b に分断される。E2a と E2b の間のイントロンが正しくスプラシングを受けて除去されると、オリジナルと同じアミノ酸配列をコードする mRNA がつくられるため、ユーグレナの細胞内でパラミロン顆粒がつくられる。一方、正しくスプライシングされない場合は、正しい mRNA がつくられないため、細胞内でパラミロン顆粒はほとんど観察されない。（B）ユーグレナ・アジリス由来のイントロン（EaNC-INT1 および EaNC-INT3）とグラシリス由来のイントロン（EgNC-INT1）を導入したグラシリス細胞の観察結果。（C）イントロンを導入した細胞集団におけるパラミロン顆粒蓄積細胞の割合。

パラミロン顆粒の蓄積を指標としたスプライシングの評価方法を用いて、まず、イントロンの端部に特徴的な CAG と CTG のモチーフ配列がスプライシングに必要かを調べるため、天然イントロンのこの部分の配列を 1 塩基ごとに置換した合成イントロン配列を *EgGSL2* 遺伝子に導入してスプライシングの成否を調べました。結果として、この 3 塩基のモチーフの塩基配列を変更するとスプライシングされなくなったことから、この塩基配列がスプライシングに必要であることが分かりました。

次に、前のエクソンの終端から CAG までの塩基数と CTG から次のエクソンまでの塩基数にルール性があるかどうかを検証するため、それぞれの領域の塩基数を変えた合成イントロン配列を *EgGSL2* 遺伝子に導入し、スプライシングの成否を調べました。すると、前のエクソンの終端から CAG までは 3 塩基である必要があり、CTG から次のエクソンまでの塩基数は 5 塩基が最もスプライシング効率が高く、この塩基を 1 塩基ずつ減らすと mRNA の発現レベルが徐々に低下しました（図 3）。これらのことから、イントロン上の CAG と CTG のモチーフ配列とエクソン間の塩基数もスプライシングに重要であることが分かりました。

さらに、イントロン後のエクソンの最初の塩基は A か G（プリン塩基）に偏っている点についても、他の塩基である T や C に編集し、スプライシングとの関連を調べました。結果として、このエクソンの開始塩基もプリン塩基であることがスプライシングに必要であることが示唆されました。

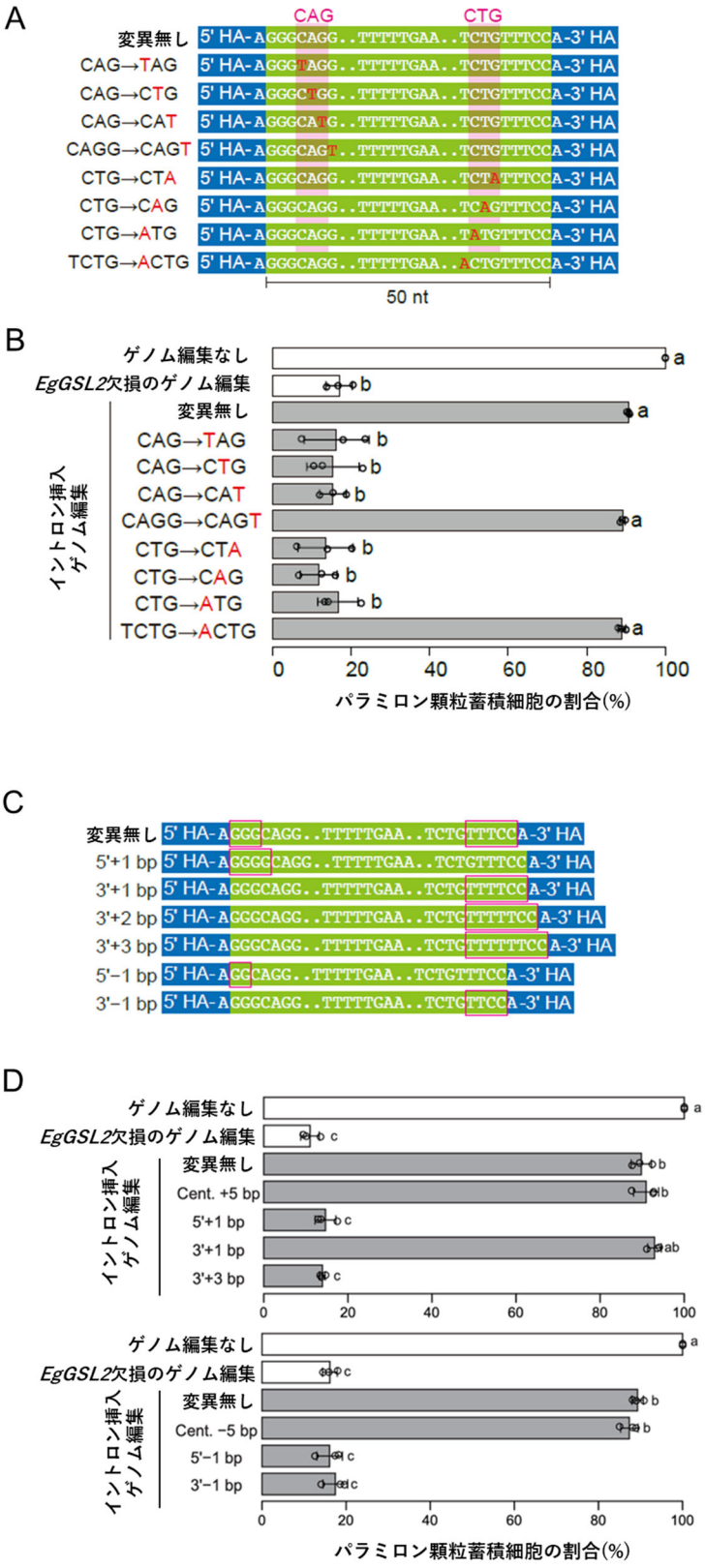


図 3 変異型イントロンの導入とパラミロン顆粒の蓄積によるスプライシングの評価

（A）CAG モチーフと CTG モチーフを 1 塩基ずつ編集するための改変イントロン配列。（B）（A）の改変イントロン配列を導入した細胞集団におけるパラミロン顆粒蓄積細胞の割合。（C）イントロン開始点と CAG モチーフの間、および CTG モチーフからイントロンの終端までの間の塩基数とスプライシングの関連性を調べるための改変イントロン配列。（D）（C）の改変イントロン配列を導入した細胞集団におけるパラミロン顆粒蓄積細胞の割合。Cent. -5bp と Cent. +5bp は、イントロンの長さの変化の影響を調べるために、それぞれイントロンの中央部に 5 塩基の欠損あるいは 5 塩基の挿入を持ち、その他の部位は変異がない改変イントロン配列を導入した場合のパラミロン顆粒蓄積細胞の割合。

そして、CAG モチーフ、CTG モチーフからそれぞれイントロンの内側に向かう 10 塩基程度の塩基対を形成する領域についてスプライシングにおける必要性を検証しました。そのために、これまでに判明したスプライシングに必要な配列要素とこの領域に相補配列を持つ人工イントロンと、この領域に相補配列がないイントロンをそれぞれ合成し、*EgGSL2* 遺伝子に導入してスプライシングの成否を調べました。結果として、この相補配列領域の相補性をなくしたイントロンは、スプライシングされなかったことから、この領域の塩基配列の相補性も、ユーグレナの非従来型イントロンのスプライシングに必要であることが示唆されました。この実験で用いた合成イントロン配列は、ここまでの実験で明らかとなったスプライシングに必要と考えられる配列要素を組み合わせて設計した人工イントロン配列であることから、ユーグレナの非 GT-AG イントロンのスプライシングに必要な配列要素が特定できたといえます（図 4）。

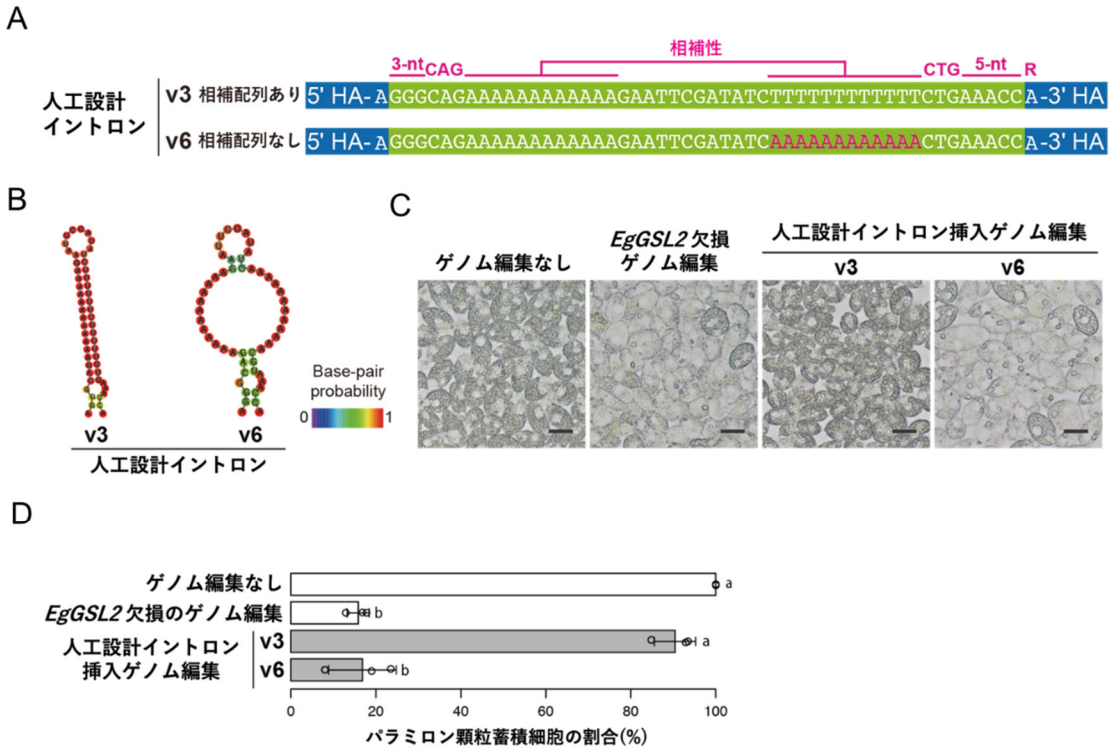


図 4 スプライシングに必要と考えられる配列要素を含んだ人工設計イントロン

（A）スプライシングに必要と考えられる配列要素を含み、イントロンの内側の相補鎖領域の相補性に違いのある人工設計イントロン。人工設計イントロン v3 は A-T 塩基対が 12 塩基連続する。人工設計イントロ

ン v6 は、その領域がどちらも A であり相補差を形成しない。（B）人工設計イントロン v3 と v6 の塩基対形成による 2 次構造予測結果。（C）人工設計イントロン v3 と v6 を導入した細胞集団の顕微鏡観察像。スケールバーは 25 マイクロメートル（μm、1μm は 100 万分の 1 メートル）。（D）人工設計イントロン v3 と v6 を導入した細胞集団におけるパラミロン顆粒蓄積細胞の割合。

さらに、CAG と CTG のモチーフ配列の位置が入れ替わった、CTG-CAG 型のイントロンもユーグレナ・アジリスのゲノム中に存在していました。このモチーフを入れ替えたイントロンを導入した場合も、スプライシングが可能であることが実験によって検証できたことで、それぞれのモチーフの中央の A と T は入れ替え可能であることが明らかになりました。

こうして解読された非 GT-AG イントロンの配列ルールに基づいて、ユーグレナ・アジリスの遺伝子構造を再評価しました。その結果、従来型の GT-AG ルールにのっとったイントロンが 28.2%であり、非従来型で CAG-CTG モチーフとその派生型を含む配列ルールに従うイントロンは 54.2%に上りました（両者の特徴を持つイントロン 0.8%を含む）。依然として不確かなエクソン-イントロン境界を持つイントロンは全体の 17.7%であり、ユーグレナのゲノムの半分以上のイントロンが、本研究で明らかになったイントロンの配列ルールにのっとっていることが示唆されました。

注）2019 年 6 月 17 日プレスリリース「ミドリムシでの高効率ゲノム編集に成功」
https://www.riken.jp/press/2019/20190617_1/

今後の期待

本研究により、真核生物の遺伝子発現機構において、常識的な GT-AG ルールとは全く異なるスプライシングのためのイントロン配列ルールがユーグレナの多くの遺伝子で採用されていることが明らかになりました。

研究の出発点は、ユーグレナの遺伝子構造を網羅的に調べた際に、GT-AG ルールに基づくゲノム解析に用いるソフトウエアでは、遺伝子構造をほとんど見つけることができない問題に出合ったことでした。また、ユーグレナのゲノム編集により塩基書き換えや正確な配列導入が可能になったことで、イントロンの塩基の重要性を 1 塩基単位で検証することが可能になりました。

本研究でスプライシングの可否を調べたユーグレナ・グラシリスは、健康食品やバイオ燃料の原料として利用が進む微細藻類であり、遺伝子構造の正確な理解はゲノム編集による改良に不可欠です。本成果は、ユーグレナにおける有用物質の生産に関わる代謝経路の同定や改変を可能にするとともに、二酸化炭素の固定と資源化を目的としてバイオマスの生産性を向上するための形質の改良につながると期待されます。

本研究成果は、国際連合が定めた 17 の目標「持続可能な開発目標（SDGs）[7]」のうち、「13.気候変動に具体的な対策を」「2.飢餓をゼロに」「7.エネルギーをみんなにそしてクリーンに」に貢献するものです。

報道解禁：日本時間 2025 年 9 月 23 日午前 4 時・23 日付朝刊

論文情報

＜タイトル＞
Genetic dissection of nonconventional introns reveals co-dominant noncanonical splicing code in Euglena
＜著者名＞
Toshihisa Nomura, June-Sik Kim, Osamu Iwata, Koji Yamada, Kohei Atsuji, Yukiko Uehara-Yamaguchi, Takuhiro Yoshida, Komaki Inoue, Kotaro Takahagi, Tetsuya Sakurai, Kazuo Shinozaki, Takuro Ito, Kengo Suzuki, Keisuke Goda, and Keiichi Mochida
＜雑誌＞
Proceedings of the National Academy of Sciences（*PNAS*）
＜DOI＞
未定

補足説明

[1] スプライシング
mRNA からイントロン（[3]参照）を取り除き、エクソン（[3]参照）をつなぎ合わせる細胞内での遺伝情報の編集過程のこと。1 塩基でもずれると正常なタンパク質ができないため、生命にとって極めて重要なプロセスであり、非常に精密に制御されている。同じ遺伝子から複数の異なるタンパク質をつくり出すことも可能にしている。

[2] ユーグレナ
ユーグレナ属の微細藻類の一種で、植物と動物の両方の特徴を持つ珍しい単細胞生物。植物のように光合成を行う一方で、動物のように鞭毛（べんもう）で泳ぎ回ることもできる。池や沼に広く生息し、生物の進化を理解する上で重要な原始的な真核生物として研究されている。近年では健康食品やバイオ燃料の原料としても注目を集めている。和名はミドリムシ。

[3] イントロン、エクソン
遺伝子は「エクソン」（タンパク質の設計図として使われる部分）と「イントロン」（最終的には使われない部分）で構成されている。遺伝子からタンパク質がつくられる際、まず mRNA に DNA の塩基配列の情報が転写され、その後イントロンが取り除かれてエクソンがつなぎ合わされ、成熟した mRNA ができる。この仕組みにより、エクソンのつなぎ方を変える選択的スプライシングにより同じ遺伝子から異なるタンパク質をつくることも可能になる。

[4] ゲノム編集
生物の DNA（遺伝情報）を人工的に正確に改変する技術。CRISPR-Cas9 などの最新技術により、狙った遺伝子の特定部位を切断・修正できる。医療での遺伝性疾患治療や、農業での品種改良などに応用されている。一方で、倫理的課題や安全性について社会全体での議論も重要とされている。

[5] プリン塩基

DNA や RNA を構成する核酸塩基は A（アデニン）、C（シトシン）、G（グアニン）、T（チミン）、U（ウラシル）の 5 種類があり、その基本構造から二つに分類され、A と G をプリン塩基、C、T、U をピリミジン塩基という。

[6] 相補配列

DNA や RNA を構成する塩基は、特定の組み合わせで水素結合をつくりやすい性質がある。この「対になる関係」を相補性という。DNA では、A と T、G と C がそれぞれ相補的に結合する。RNA では、A と U、G と C が相補的に結合する。一本鎖の RNA の一部が折り畳まれてヘアピンのような 2 次構造をつくることがあり、その際も相補配列が結合して構造をつくる。

[7] 持続可能な開発目標（SDGs）

2015 年 9 月の国連サミットで採択された「持続可能な開発のための 2030 アジェンダ」にて記載された 2016 年から 2030 年までの国際目標。持続可能な世界を実現するための 17 の目標、169 のターゲットから構成され、発展途上国のみならず、先進国自身が取り組むユニバーサル（普遍的）なものであり、日本としても積極的に取り組んでいる（外務省のホームページから一部改変して転載）。

共同研究グループ

理化学研究所　環境資源科学研究センター
バイオ生産情報研究チーム
客員主管研究員　野村俊尚　（ノムラ・トシヒサ）
（山形大学　農学部　准教授）
研究員　キム・ジュンシク
（Kim June-Sik）
（岡山大学　特任准教授）
テクニカルスタッフⅠ　山口（上原）由紀子
（ヤマグチ（ウエハラ）・ユキコ）
テクニカルスタッフⅡ（研究当時）　井上小槙　（イノウエ・コマキ）
研修生（研究当時）　高萩航太郎　（タカハギ・コウタロウ）
チームディレクター　持田恵一　（モチダ・ケイイチ）
（最先端研究プラットフォーム連携（TRIP）事業本部
藻類資源アップサイクル研究チーム　副チームディレクター、
長崎大学　情報データ科学部　教授、横浜市立大学　木原生物学研究所　客員教授）

機能開発研究グループ（研究当時）
グループディレクター（研究当時）　篠崎一雄　（シノザキ・カズオ）
（環境資源科学研究センター　センター長（研究当時）、
名誉研究員、栄誉研究員）

東京大学　大学院理学系研究科　化学専攻
教授　合田圭介　（ゴウダ・ケイスケ）
（カリフォルニア大学（米国）ロサンゼルス校　工学部生体工学科　非常勤教授、
武漢大学（中国）　工業科学研究院　非常勤教授、
東北大学　国際放射光イノベーション・スマート研究センター　客員教授）

株式会社ユーグレナ
研究企画開発課　課長（研究当時）　岩田　修　（イワタ・オサム）
中央研究所　共同所長　山田康嗣　（ヤマダ・コウジ）
R&D センター　主任研究員　阿閉耕平　（アツジ・コウヘイ）
エグゼクティブフェロー　鈴木健吾　（スズキ・ケンゴ）
（理研最先端研究プラットフォーム連携（TRIP）事業本部
藻類資源アップサイクル研究チーム　チームディレクター）

鶴岡工業高等専門学校　創造工学科基盤教育グループ
准教授　伊藤卓朗　（イトウ・タクロウ）

高知大学
農林海洋科学部　教授　櫻井哲也　（サクライ・テツヤ）

研究支援

本研究は、内閣府革新的研究開発推進プログラム（ImPACT）「セレンディピティの計画的創出による新価値創造（プログラムマネージャー：合田圭介）」、科学技術振興機構（JST）産学共創プラットフォーム共同研究推進プログラム（OPERA）「低 CO_2 と低環境負荷を実現する微細藻バイオリファイナリーの創出（研究分担者：持田恵一、JPMJOP1832）」、同革新的 GX 技術創出事業（GteX）「先端的植物バイオものづくり基盤の構築（研究分担者：持田恵一、JPMJGX23B0）」、同地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム（SATREPS）「微細藻類による二酸化炭素の固定と資源化によるエネルギーおよび食料資源の持続的生産システムの創出（研究代表者：持田恵一、JPMJSA2204）」、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業基盤研究（C）「応用利用に向けたユーグレナにおけるパラミロン粒形態制御の分子機構解明（研究代表者：野村俊尚）」による助成を受けて行われました。

発表者・機関窓口

＜発表者＞　※研究内容については発表者にお問い合わせください。
理化学研究所　環境資源科学研究センター
バイオ生産情報研究チーム
客員主管研究員　野村俊尚　（ノムラ・トシヒサ）
（山形大学　農学部　准教授）
研究員　キム・ジュンシク　（Kim June-Sik）
チームディレクター　持田恵一　（モチダ・ケイイチ）
（最先端研究プラットフォーム連携（TRIP）事業本部
藻類資源アップサイクル研究チーム　副チームディレクター、
長崎大学　情報データ科学部　教授、横浜市立大学　木原生物学研究所　客員教授）
Tel: 0235-28-2903（野村）、045-503-7077（持田）　Fax: 045-503-9609（持田）
Email: tnomura@tds1.tr.yamagata-u.ac.jp（野村）、keiichi.mochida@riken.jp（持田）

東京大学　大学院理学系研究科　化学専攻
教授　合田圭介　（ゴウダ・ケイスケ）
Tel: 03-5841-4329　Email: goda@chem.s.u-tokyo.ac.jp

株式会社ユーグレナ
エグゼクティブフェロー　鈴木健吾　（スズキ・ケンゴ）
（理研最先端研究プラットフォーム連携（TRIP）事業本部
藻類資源アップサイクル研究チーム　チームディレクター）

鶴岡工業高等専門学校　創造工学科基盤教育グループ
准教授　伊藤卓朗　（イトウ・タクロウ）
Tel: 0235-25-9148　Email: takuro@tsuruoka-nct.ac.jp

高知大学　農林海洋科学部
教授　櫻井哲也　（サクライ・テツヤ）

＜機関窓口＞
理化学研究所　広報部　報道担当
Tel: 050-3495-0247
Email: ex-press@ml.riken.jp

東京大学　大学院理学系研究科・理学部　広報室
Tel: 03-5841-8856
Email: media.s@gs.mail.u-tokyo.ac.jp

株式会社ユーグレナ　広報チーム
Tel: 03-3454-4907
Email: press@euglena.jp

山形大学　総務部　総務課秘書　広報室
Tel: 023-628-4008
Email: yu-koho@jm.kj.yamagata-u.ac.jp

鶴岡工業高等専門学校　総務課総務係
Tel: 0235-25-9034
Email: s-soumu@tsuruoka-nct.ac.jp

高知大学　広報・校友課広報係
Tel: 088-844-8643
Email: kh13@kochi-u.ac.jp

長崎大学　広報戦略本部
Tel: 095-819-2007
Email: kouhou@ml.nagasaki-u.ac.jp

横浜市立大学　研究・産学連携推進課
Email: kenkyu-koho@yokohama-cu.ac.jp