

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：13801

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2009～2013

課題番号：21110010

研究課題名(和文)プラズマプロセスによる微粒子マイクロ表面のバイオ活性制御技術の開発と医療応用

研究課題名(英文)Development of Plasma Processing Technology for Controlling Biological Activity of Fine Particles and Its Medical Application

研究代表者

永津 雅章(Nagatsu, Masaaki)

静岡大学・創造科学技術大学院・教授

研究者番号：20155948

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 49,600,000円、(間接経費) 14,880,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ナノ～マイクロサイズの微粒子のバイオ・医療応用を目的とし、ナノサイズ境界面を有する微粒子とプラズマとの表面相互作用に関する基礎的研究を実施した。主な研究成果として、(1)プラズマプロセスによる微粒子表面官能基修飾のメカニズム解明および官能基数の定量評価、(2)アミノ基修飾磁気ナノ微粒子を用いたインフルエンザウイルスの高濃度化法の開発、(3)ZnOナノ蛍光体のプラズマ表面修飾および多糖類の固定化技術の開発等が挙げられる。研究期間に亘る研究成果として、著書・解説9編、査読付学術論文57編、国際会議94件(招待講演10件)、国内学会186件(招待講演16件)の発表を行った。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we have carried out the fundamental study on the plasma surface interaction with fine particles having nano-interface for aiming at bio-medical application of nano- and micro-sized particles. The main research results are (1) the clarification of the mechanism for surface modification of nanoparticles by plasma processing and the quantitative evaluation of functional group populations, (2) the development of condensation method of influenza virus using aminated magnetic nanoparticles, (3) the development of plasma surface modification and immobilization of polysaccharide onto ZnO nanoparticles, and so on. The research achievements during the research period are 9 multi-authored books and reports, 57 journal papers, 94 International conference presentation(10 invited talks), and 186 domestic conference presentation(16 invited talks)

研究分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学・工学基礎 ・ 応用物理一般

キーワード：プラズマ科学 表面・界面物性 ウイルス バイオテクノロジー

1. 研究開始当初の背景

研究開始当初における医療分野へのプラズマ応用に関する研究については、すでに米国の研究者グループらを中心とした「Plasma Medicine」に関する国際的なコミュニティの形成が精力的に進められ、平成 19 年にプラズマ医療に関する第 1 回国際会議が開催されている。わが国においては、平成 20 年度にプラズマ・核融合学会において「プラズマバイオ融合科学への新展開」に関する専門委員会が発足されたのを契機に、その後、他学会との連携も含め、多くの研究者が当該分野の研究に参画し、組織的な研究が行われるようになってきた。

本研究の申請に先立ち、申請者らは、平成 16 年度より 3 年間、科研費基盤研究 B の採択を受け、「マイクロ波プラズマを用いた低温プラズマ滅菌技術の開発および医療分野への応用展開」を行ってきた。それらの研究成果は、平成 18 年度より採択された特定領域研究(公募研究)、さらに、平成 20 年度より科研費基盤研究 B の採択を受け、プラズマプロセス技術をさらに展開した「バイオポリマー材料の低温プラズマプロセス技術の開発」に関する研究を実施した。また、平成 21 年度より 2 年間「プラズマ反応場を用いた先進的タンパク質合成・分解技術の開発」に関する研究を挑戦的萌芽研究の採択を受けて実施し、平成 21 年度からの本新学術領域研究実施に向けた研究基盤を整備してきた。

2. 研究の目的

本研究では、様々な材質の大きさ数 nm~ μm サイズの微粒子のバイオ・医療応用に注目し、プラズマと微粒子との物理的・化学的表面相互作用、さらにプラズマによる微粒子表面の機能性付加や、微粒子のもつ生物機能の消失など、ナノサイズ境界面を有する微粒子とプラズマとの表面相互作用に関する基盤的研究を行うことを目的としている。

3. 研究の方法

本研究では、上記目的を達成するため、プラズマと微粒子材料とのナノスケールレベルでの相互作用に関するプラズマ物理・化学に関する研究を実施した。以下に、平成 21 年度より 25 年度までの 5 年間における主な研究実施項目を列記する。

(1) 各種材料を用いた微粒子の作製とその構造解析：(平成 21~23 年度)

- ・レーザーアブレーションあるいは DC アーク放電を用いた微粒子作製を行う。また作製した微粒子の構造解析を TEM を用いて行う。

(2) 微粒子クーロン結晶構造を実現するためのプラズマ装置整備：(平成 21~24 年度)

- ・プラズマ実験用真空容器を設計作製する。
- ・プラズマ実験装置を用いたクーロン結晶構造の ICCD 高速検出器による観察。

(3) プラズマ化学修飾による各種微粒子の表面修飾：(平成 22~25 年度)

- ・プラズマ処理による金属あるいは酸化物微粒子の生体適合性や抗血栓性などのバイオ活性機能の発現あるいは不活化などの制御。

- ・四重極質量分析器による微生物とプラズマラジカルの表面相互作用の定量的評価。

(4) 化学修飾された微粒子への多糖類などの固定化：(平成 23~25 年度)

- ・アミノ基などの化学修飾微粒子表面にデキストランなどの多糖類を固定化。

- ・液体クロマトグラフを用いたサンプル分析

(5) 微粒子蛍光体などの微粒子表面の生体適合性の付加：(平成 24~25 年度)

- ・プラズマ修飾による ZnO ナノ微粒子表面への官能基修飾。

- ・アミノ基修飾 ZnO 微粒子表面への多糖類固定化。

4. 研究成果

(1) はじめに

本報告書では、平成 21 年度から 25 年度までに実施した上記の実験項目のうち、①各種材料を用いた微粒子の作製とその構造解析、②ナノ~マイクロサイズの微粒子の表面を処理するためのプラズマ装置の整備、③プラズマ化学修飾による各種微粒子の表面修飾、④表面修飾されたナノ微粒子へのデキストランなどの多糖類の添加、および⑤ナノ蛍光体などの微粒子表面への生体適合性の付加など、本計画研究における各研究実施項目について主な研究成果について報告する。

(2) 各種材料を用いたナノ微粒子の作製とその構造解析

直流アーク法により作成したグラファイト層で被覆化された磁性体ナノ微粒子のサイズ分布および TEM 画像を図 1 に示す。

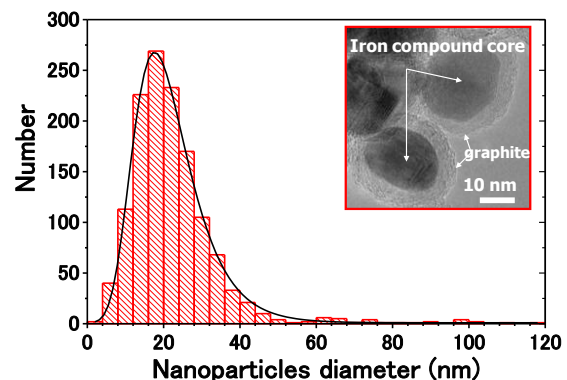


図 1 磁性ナノ微粒子サイズ分布と TEM 画像

粒子径は 10-30nm 程度であり、コア部の鉄微粒子の周りに多層グラファイトが覆った構造であることが分かる。図 2 に XRD による解析結果を示す。コア部の鉄結晶成分の 45°付近に見られるピークに加え、26.6°においてグラファイト層の成分が確認できる。また、炭化鉄あるいは酸化鉄成分の存在も確認できる。EDS による元素マッピング測定からも、鉄粒子内部に酸素が含まれている結果が

得られている。

なお、コア微粒子材料として、鉄以外にニッケル、コバルト、サマリウムについても、同様に実験を行っており、いずれもグラファイト外包磁気ナノ微粒子構造となっていることを TEM 解析により確認している。

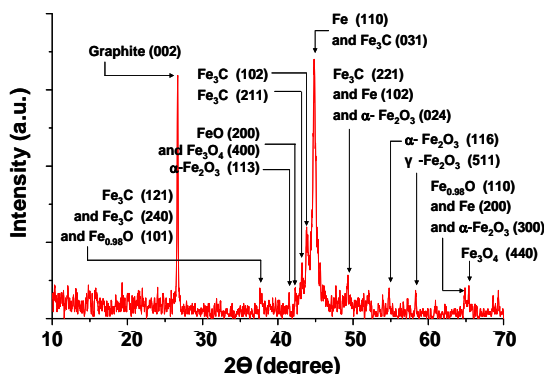


図2 鉄ナノ微粒子のXRDスペクトラム

さらに最近では、金をコア粒子材料として用いた場合についても、グラファイト層で被覆された直径約 20nm の金ナノ微粒子構造となっていることであることを確認している。

(3) ナノ～マイクロサイズの微粒子表面を処理するためのプラズマ装置の整備

微粒子とプラズマとの相互作用の効率を高めるため、基板ステージに外部より負電圧パルスを加える実験系を整備した。図3に示したように、ステージ上にガラス製のペトリ皿を置き、微粒子の散逸を防ぐため円筒状のガラス管でカバーをしている。ステージ下部からの負電圧を加えるため、ペトリ皿の中央部に空けた穴を通して円盤状金属電極に接続している。RF プラズマを放電させた後、電圧-1 kV、パルス幅 50 μ s、デューティ比 50 % の負パルス電圧の印加時間を 2 秒から 60 秒間変化させた。

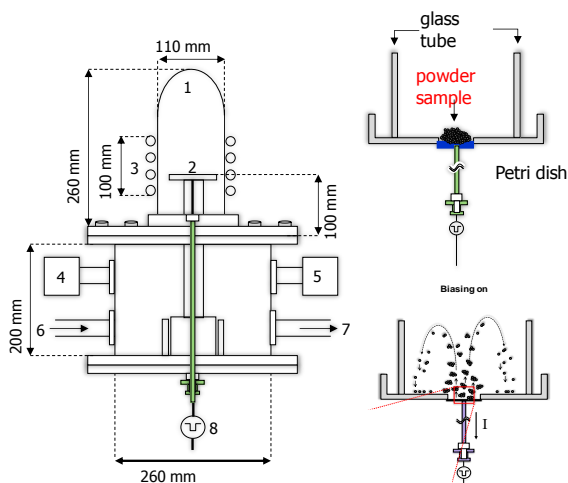


図3 磁気ナノ微粒子表面修飾のための RF プラズマ実験装置の概要

これまでの実験から、バイアスを印加しない場合に比べ、バイアスを 1.5 秒印加した場

合には N/C 比が約 2.7 倍向上することを確認している。負バイアスを印加した後、1~2 分間程度のプラズマ処理で、N/C 比がほぼ飽和していることから、極めて短時間のプラズマ微粒子表面相互作用により、表面修飾が実現できていることを示している。

平成 25 年度では、微粒子噴上げ回数を変化させた場合のアミノ基量を比較する実験を行った。ここで、微粒子表面のアミノ基数の定量では、化学的誘導体法を用いた。アミノ基誘導体法では、SPDP 溶液とグラファイト外包磁気ナノ微粒子を反応させることで、一つのアミノ基に対して SPDP 一分子が結合する。さらに SPDP 分子を結合させた微粒子に DTT 溶液を加え反応させると、SPDP 分子の S-S 結合を破壊することができる。S-S 結合が破壊された SPDP 分子から分離された P2T 分子を含む溶液の 343 nm での吸光度を測定することにより溶液に含まれる P2T 分子数を定量することができる。一つの P2T 分子はアミノ基一つに対応するため、微粒子表面におけるアミノ基数の測定が可能となる。図4は、微粒子噴上げ回数を3回まで繰り返した場合のアミノ基数の変化を示している。基板ステージ上に微粒子を置いただけの場合と比べると、噴上げを行わない場合と比べて、約 2.5 倍にアミノ基数が増加し、粒子 1 個当たり約 75,000 のアミノ基数となっている。

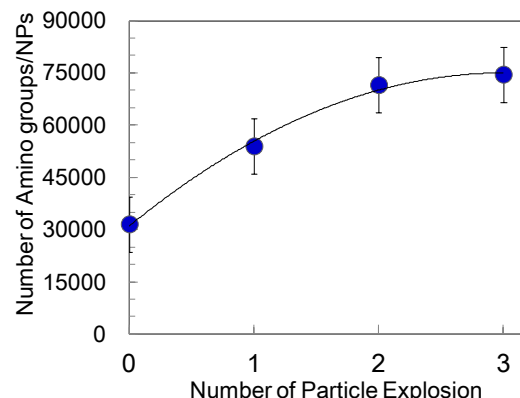


図4 微粒子噴上げ回数とアミノ基数との関係

(4) プラズマ化学修飾による各種微粒子の表面修飾

ナノ微粒子の表面化学修飾の最適化を行うため、Ar プラズマの前処理の効果およびアンモニアプラズマによるアミノ基修飾におけるプラズマ処理時間および RF パワーの効果を調べる実験を行った。前処理の Ar プラズマ照射時間を 12.5 分まで変化させた磁気微粒子をアンモニアプラズマで 10 分間処理した場合のアミノ基数の変化を測定した。また、ラマン・スペクトル解析により、Ar プラズマ処理時間の増加とともに、D ピークと G ピークの強度比 I_D/I_G が増大し、Ar プラズマ処理時間 5 分でアミノ基数も最大になっており、未処理の場合に比べ、アミノ基数が約 3 倍に増加している結果が得られている。

また、Ar プラズマによる前処理時間の最適値として5分とし、アンモニアプラズマの処理時間および RF パワーを変化させた場合のアミノ基数を図 5 に示す。処理時間 30 秒ではパワーの増加とともにアミノ基数も増えるが、処理時間が3分の場合には、RF パワーが 50W を越えると減少傾向にあることが分かる。これは、アミノ基の生成に寄与する反応とアミノ基を消滅させる反応のバランスによるものと考えられる。RF パワーの増減により、プラズマ中の電子密度や各種ラジカルの生成密度も変化するため、アミノ基修飾数を最大にするための RF パワーと処理時間に強い相関があることを示している。

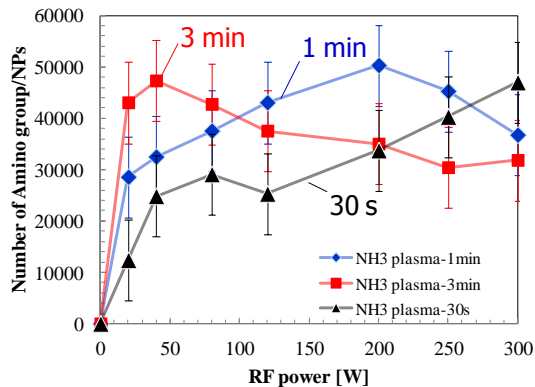


図 5 NH₃ プラズマの処理時間および RF パワーを変化させた場合のアミノ基数

なお、本研究では、アミノ基修飾以外にも、RF プラズマの放電ガスとして水蒸気を微量添加した Ar ガスを用いることによって、カルボキシ基修飾が可能であることを実験的に確認している。

(5) 表面修飾されたナノ微粒子へのデキストランなどの多糖類の添加

アミノ基修飾を行った磁気ナノ微粒子表面にウイルス抗体を固定化し、抗原抗体反応を利用した磁気微粒子によるウイルスの磁気回収およびその濃縮化に関する研究を実施した。(図 6 参照) 磁気ナノ微粒子によるウイルス濃縮を行うため、ナノ微粒子表面に修飾したアミノ基に H1N1 インフルエンザウイルスに対する 2 種類の抗体 C111 および C179 を磁気ナノ微粒子表面に固定化した。

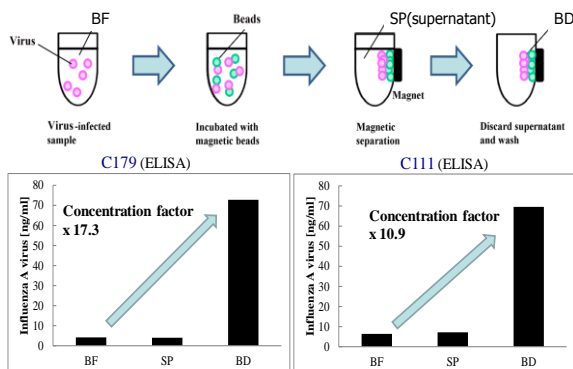


図 6 抗体結合磁気ナノ微粒子とインフルエンザウイルスの反応手順とウイルス濃縮化実験の結果

次に、抗体を固定化した磁気ナノ微粒子を用いて、インフルエンザウイルスの濃縮実験を行った。インフルエンザウイルスを含ませたサンプルを BF (濃縮前サンプル) とし、抗体固定化磁気ナノ微粒子をサンプルに挿入し、磁気による微粒子回収を行った。回収した後の溶液を SP (上清)、回収した微粒子を BD (濃縮後サンプル) とした。これらの BF、SP、BD の各サンプルについて、1 ml 中に含まれるインフルエンザウイルスの量を測定した結果を図 6 に示す。抗体 C111 では BF に対する BD の濃縮率はおよそ 10.9 倍、抗体 C179 では濃縮率はおよそ 17.3 倍であり、両者の抗体の場合にも 10 倍以上のウイルス濃縮化を確認した。これらの結果は、市販の磁気ビーズを用いた場合の結果よりも数倍優れており、本手法の有用性を示している。今後、磁気微粒子の官能基修飾率の改善により、ウイルス濃縮率の更なる向上が期待される。

(6) ナノ蛍光体などの微粒子表面への生体適合性の付加

図 7 は、ZnO ナノ微粒子のバイオイメージング応用の概略を示している。作製した ZnO ナノ微粒子をアンモニアプラズマにより表面修飾した後、アミノ基に選択的に結合するリガンド (配位子) を固定化し、特定の受容体である標的分子に結合させて、蛍光標識を行うものである。

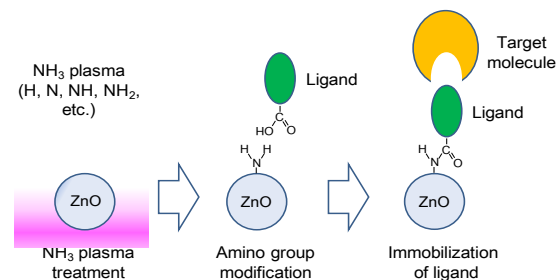


図 7 ZnO ナノ微粒子のバイオイメージング応用の概略

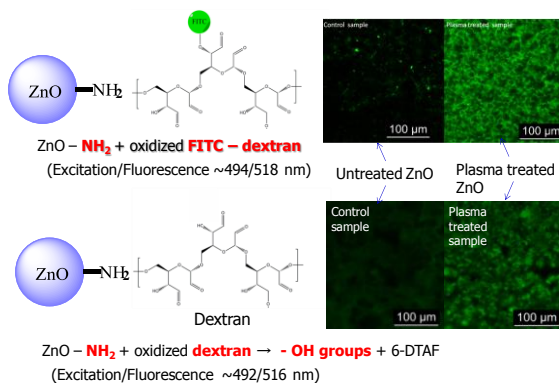


図 8 アミノ基修飾 ZnO ナノ微粒子表面へのデキストラン固定化

図 8 は、表面波励起アンモニアプラズマを用いてアミノ基修飾した ZnO ナノ微粒子表面に、蛍光標識つきデキストランあるいは蛍光色素などによる蛍光観察の結果を示している。

アンモニアプラズマ処理を行った ZnO 微粒子の FITC 蛍光標識デキストランを用いた結果から、明らかにプラズマ修飾の効果を確認している。また、デキストランを固定化した後に、デキストランに含まれる OH 基に選択的に結合する蛍光色素 (6-DTAF) を用いた実験においても、アンモニアプラズマ処理によりアミノ基が修飾され、デキストランが固定化されたことを示している。これらの結果は、ウイルス検出用のナノ蛍光体としての応用の可能性を示唆している。

(7) まとめ

本研究では、磁性体ナノ微粒子のバイオ・医療分野への応用を目指し、プラズマと微粒子との物理的・化学的表面相互作用、さらにプラズマによる微粒子表面の機能性付加、ナノサイズ境界面を有する微粒子とプラズマとの表面相互作用に関する研究を行った。

RF プラズマによるグラファイト層でカプセル化された鉄ナノ微粒子の表面化学修飾、およびその表面にデキストランなどの多糖類や糖鎖を固定化する実験を実施し、ウイルスに選択的に結合する抗体を微粒子表面に固定化する実験を行い、10 倍以上のウイルス濃縮化に成功した。さらに、微粒子表面のアミノ基修飾率の向上を図るために、基板ステージに負電圧を印加し、イオン衝撃効果による微粒子の RF プラズマ中への噴上げ効果を試験し、バイアスを印加しない場合に比べて約 2.5 倍のアミノ基修飾率の向上を確認した。

また、紙面の都合により割愛したが、大気圧プラズマジェットを用いたバイオチップの作製技術の開発を目的とし、ポリマー表面にマイクロサイズのドットアレイ状に官能基修飾を作製する方法の開発を行った。この実験では、大気圧プラズマジェットの先端に 100nm 程度の開口を有するキャピラリーを取り付けたプラズマジェットを用い、ポリマー表面上へ照射し、アミノ基修飾を直接行った。現在までに、直径約 2 ミクロンサイズのドットパターン状のアミノ基修飾に成功しており、大気圧下においてマスクレスパターンニングによるバイオチップの作製の可能性を示した。平成 25 年度では、垂直配向成長させたドットアレイ状のカーボンナノチューブ基板を用い、空間制御した官能基修飾が可能であることを実験的に示した。今後、本研究の成果を活用して、プラズマプロセスによるナノ微粒子のバイオ・医療分野への応用に関する研究を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 57 件)

1. T. E. Saraswati, S. Tsumura, and M. Nagatsu, "High-efficiency plasma surface modification of graphite-encapsulated magnetic nanoparticles using a pulsed particle explosion technique", Jpn. J. Appl. Phys. 53 (2014) 010205. 査読有

2. R.V. Bekarevich, S. Miura, A. Ogino, A.V. Rogachev, M. Nagatsu, "The Effect of Substrate on the Low-Temperature Carbon Nanomaterials Growth by Microwave Excited Surface-wave Plasma Chemical Vapor Deposition", J. Phys.: Conf. Series 417 (2013) 012042(5pp) 査読有
3. T. E. Saraswati, A. Ogino, M. Nagatsu, "RF Plasma-Activated Immobilization of Biomolecules onto Graphite-Encapsulated Magnetic Nanoparticles", Carbon, 50 (2012) pp.1253-1261. 査読有
4. Y. Zhao, A. Ogino, and M. Nagatsu, "Mass Spectrometric Study on Inactivation Mechanism of Spore-forming Bacteria by Low-pressure Surface-wave Excited Oxygen Plasma", Appl. Phys. Lett. 98 (2011)191501(3pages). 査読有
5. Y. Zhao, A. Ogino, and M. Nagatsu, "Effects of N₂/O₂ gas mixture ratio on microorganisms inactivation in low-pressure surface wave plasma", Jpn. J. Appl. Phys. 50 (2011) 08JF05 (5pages). 査読有
6. Q. Ma, T. E. Saraswati, A. Ogino, M. Nagatsu, "Improvement of UV Emission from Highly Crystalline ZnO Nanoparticles by Pulsed Laser Ablation under O₂/He Glow Discharge", Appl. Phys. Lett. 98 (2011) 051908. 査読有
7. C. Chen, D. Lu, B. Liang, A. Ogino, X. Wang, and M. Nagatsu, "Amino Group Introduction onto Multiwall Carbon Nanotubes by NH₃/Ar Plasma Treatment", Carbon, 48 (2010) pp.939-948. 査読有
8. R. Kakei, A. Ogino, F. Iwata, M. Nagatsu, "Production of Ultrafine Atmospheric Pressure Plasma Jet with Nano-capillary", Thin Solid Films, 518 (2010) pp.3457-3460. 査読有
9. M. K. Singh, A. Ogino, M. Nagatsu, "Inactivation Factors of Spore Forming Bacteria Using Low-pressure Microwave Plasmas in N₂ and O₂ Gas Mixture", New J. Phys. 11 (2009) 115027(15pp). 査読有
10. C. Chen, B. Liang, A. Ogino, X. Wang and M. Nagatsu, "Oxygen Functionalization of Multiwall Carbon Nanotubes by Microwave Excited Surface-Wave Plasma Treatment", J. Phys. Chem. C 113 (2009) pp. 7659-7665. 査読有 他 47 編 (査読有)

〔学会発表〕 .

〔国際会議〕(計 94 件、招待講演 10 件)

1. M. Nagatsu, "Plasma Surface Functionalization of Nano-sized Materials for Biomedical Application", 6th ISPlasma/7th ICPLANTS (Invited Talk), Meijo University, Nagoya (2014.3.2).
2. M. Nagatsu, M. A. Ciolan, E. Yang, Y. Mochizuki, H. Cho, et al., "Nano/micro-sized

Plasma Surface Modifications for Biomedical Applications", AEPSE 2013 (Invited Talk), Jeju, Korea (2013.8. 25-30).

3. M. Nagatsu, M.A. Ciolan, et al., "Low-Temperature Plasma Processing for Biomedical Applications", 19th Symposium on Application of Plasma Processes, (Invited Talk) Mala Fatra, Slovakia(2013.1. 26-31).
4. M. Nagatsu, M. Ogata, T. E. Saraswati, K. Kawamura, A. Ogino, and T. Usui, "Immobilization of Biomolecules onto Magnetic Nanoparticles Functionalized by RF Plasma and Its Medical Application", ICPM-4 (Invited Talk), Orleans, France, (2012.6.17-21).
5. M. Nagatsu, R. V. Bekarevich, A. Balmakov, I. Motrescu, A. Ogino, A. Murakawa, M. Ogata and E. Y. Park, "Low-Temperature Microwave Plasma Processing of Micro- and Nano-Structured Materials for Bio-Medical Applications", 2012 MRS Spring Meeting (Invited Talk), San Francisco, USA (2012.4.9-4.13). 他 89 件

[国内学会] (計 186 件、招待講演 16 件)

1. 永津 雅章, 楊 恩波, Anchu Viswan, 張 皓, 古閑 一憲, 白谷 正治, "プラズマプロセスによるグラファイト被覆金属ナノ微粒子の表面修飾", 第 61 回応用物理学会春季学術講演会 (招待講演), 青山学院大 (2014.3.18).
2. 永津雅章, 楊恩波, ミハイ チョラン, イウリアナ モトレスク, "プラズマのバイオ応用における先駆的研究", 第 26 回プラズマ材料科学シンポジウム(SPSM26) (招待講演), 九大(2013.9.23).
3. 永津雅章, "先進プラズマを用いたバイオプロセスの新展開", 日本学術振興会第 153, 154, 131 委員会合同研究会(招待講演), 名古屋大学 (2013.6.20).
4. 永津 雅章, 趙 穎, 荻野 明久, "低温プラズマプロセスのバイオ・医療応用 (プラズマエレクトロニクス賞を受賞して)", 2012 年 秋季第 73 回応用物理学会学術講演会 (招待講演), 愛媛大学, (2012.9.11-14).
5. 永津 雅章, 荻野 明久, "プラズマ源の開発と医療・バイオ応用への展開", プラズマエレクトロニクス分科会 20 周年記念特別シンポジウム(招待講演), 名古屋大学 (2011.10.22). 他 181 件

[図書] (計 3 件)

1. 永津雅章 (分担執筆), "大気圧プラズマの技術とプロセス開発", 監修: 沖野晃俊, 第 V 編 医療・バイオ応用, 第 1 章プラズマ滅菌, (株) シー・エム・シー出版 (2011.8).
2. M. Nagatsu (分担執筆), "Sterilization and disinfection by plasma: Sterilization mechanisms, biological and medical applications", Eds. A. Sakudo and H. Shintani,

pp.123-138, Nova Science Publishers, Inc. New York, (2010. 10).

3. 永津雅章 (分担執筆), "大気圧プラズマ基礎と応用一", 日本学術振興会 プラズマ材料科学第 153 委員会編, 第 3 章 3.4 高周波放電, pp.96-113, 第 6 章 6.8.3 滅菌, pp.381-387, オーム社 (2009. 10).

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

1. 名称: 組成物, フィルター, 滅菌方法, 及び菌検出方法
発明者: 永津 雅章
権利者: 静岡大学
種類: 特許
番号: 特願 2011-48219
出願年月日: 2011 年 3 月 4 日
国内外の別: 国内
2. 名称: 荷電粒子ビーム生成装置及び荷電粒子ビーム生成方法
発明者: 永津 雅章
権利者: 静岡大学
種類: 特許
番号: 特願 2011-254205
出願年月日: 2011 年 11 月 21 日
国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.eng.shizuoka.ac.jp/~plasma/japan/lab/index.html>

受賞 (指導学生の受賞も含む、計 18 件)

1. 永津雅章, 応用物理学会、「フェロー表彰」受賞 (2014.6.5).
 2. 永津雅章, 日本学術振興会 プラズマ材料科学 第 153 委員会「第 15 回プラズマ材料科学賞・基礎部門賞」受賞(2013.8.19).
 3. 永津雅章, Zhao Ying、荻野明久, 応用物理学会プラズマエレクトロニクス分科会「第 10 回プラズマエレクトロニクス賞」受賞 (2012. 3.15).
 4. 永津雅章, 財団法人浜松電子工学奨励会「第 25 回 (平成 23 年度) 高柳記念賞」受賞(2011.12.18).
 5. 永津雅章, 荻野明久, 平成 23 年度プラズマ・核融合学会「第 16 回技術進歩賞」受賞(2011.11.22).
- 他 13 件

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永津 雅章 (NAGATSU MASAACKI)
静岡大学・創造科学技術大学院・教授
研究者番号: 20155948

(2) 研究分担者

荻野 明久 (OGINO AKIHISA)
静岡大学・工学研究科・准教授
研究者番号: 90377721