

平成 21 年 4 月 17 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2008

課題番号：18580122

研究課題名 (和文) ヒト肺由来セレノリン酸合成酵素アイソザイムの研究

研究課題名 (英文) Studies on Isozymes of Human Lung Selenophosphate Synthetase

研究代表者

田村 隆 (TAMURA TAKASHI)

岡山大学・大学院自然科学研究科・准教授

研究者番号：40253009

研究成果の概要：

必須微量元素セレンは、抗酸化作用、免疫賦活化作用、ホルモン調節作用、がん予防効果など、多くの有益な生理活性を示す微量必須ミネラルである。高齢化社会におけるQuality of Lifeの維持に関心が高まる中で、セレンの持つ多彩で有益な生理活性に注目が集まっている。ところが必要摂取量の僅か10倍程度の摂取で過剰障害が表れるリスクがあるので、セレンの有益な生理活性を社会全体で享受するためには、セレン代謝に関わる知的基盤の確立が必要不可欠である。本研究はセレン同化経路の解明に焦点を当て、1) 亜セレン酸の還元代謝にチオレドキシシン還元酵素が関わることを初めて明らかにし、2) ヒトのセレノリン酸合成酵素の触媒機能ドメインを新たに発見し、3) これまで機能不明とされたセレノリン酸合成酵素アイソザイムSps1がSps2の機能を抑制するアンチザイムとして作用することを初めて明らかにすることができた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,200,000	0	1,200,000
2007年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	660,000	4,060,000

研究分野：酵素化学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：食品生化学、食品機能、栄養生化学、栄養化学

1. 研究開始当初の背景

微量必須元素セレンの多彩な生理的機能は、活性中心にセレノシステイン(SeCys) 残基を持つセレン含有酵素の触媒機能によって発現されるとの理解が確立しつつある。SeCysはオ

パールコドン(UGA)によって指定される特殊なアミノ酸であり、その翻訳機構の解明を目指して国内外において精力的に研究が進められてきた。SeCysはtRNA上で生合成されるが、その際には活性化されたセレン前駆体として

セレノリン酸($\text{HSe-PO}_3\text{H}_2$)の供給が必要とされる。このことは原核生物、真核生物について明らかにされてきたところであるが、食品成分として摂取されたセレンがどのような代謝経路を経てセレノリン酸に変換されるのかについては不明な点が数多く残されていた。

食品に含まれるセレンとしては、無機の亜セレン酸塩が最も化学的に安定で、無機セレン源の主成分である。従来定説として、亜セレン酸(4価のセレン)は細胞内に取り込まれてからグルタチオン(GSH)によって2価のセレニド(H_2Se)にまず還元されてセレノリン酸合成酵素の基質となることが広く受け入れられてきた。しかし、グルタチオンによる亜セレン酸の還元反応を*in vitro*で行うと、2価のセレニドの形成に留まらず、原子価ゼロの元素状セレンとして析出するので、この定説には再検討の余地がのこされていた。

またセレノリン酸合成酵素の構造と機能解析は*E. coli*や*Haemophilus influenzae*のSelD蛋白質などバクテリア由来の酵素について詳細に行われてきた。ほ乳類のセレノリン酸合成酵素にはSps1, Sps2の2つのアイソザイムが存在しており、Sps2はそれ自身がセレノシステイン残基を持つセレン含有酵素であり高い触媒能を持つが、Sps1は活性中心に触媒作用に必要とされるSeCys残基またはCys残基がThr残基に置換されており当然ながらセレノリン酸合成の触媒作用を示さず、その生理的意義について全く解明されていない。

2. 研究の目的

(1) 亜セレン酸還元代謝の解明 亜セレン酸の還元代謝に関わる還元代謝系を解明するために、ヒトのセレノリン酸合成酵素Sps2を発現させた大腸菌細胞をモデル細胞として亜セレン酸同化機構の解析を行った。大腸菌はセレン含有酵素としてギ酸脱水素酵素(FDH)を嫌氣的条件下で発現する。FDHの酵素活性はベ

ンジルピロロゲン(BV)を紫色に発色させるので簡便に調べることが出来る。セレノリン酸は化学的に不安定な代謝中間体であり、その生成を直接定量することは極めて困難である。しかし、発現したセレン蛋白質の触媒能であれば、これを鋭敏に検定することは可能である。本研究ではこのような*in vivo*実験系を用いて亜セレン酸還元に関わる代謝系を検討した。

亜セレン酸還元系に関わる酵素系を細胞レベルで解明したことを受けて、次に蛋白質レベルで亜セレン酸還元反応を再構築してその実証試験を行った。即ち、チオレドキシン、チオレドキシ還元酵素、セレノリン酸合成酵素SELdを個別に組換え蛋白質として発現させた。さらに、チオレドキシン系による亜セレン酸還元反応の速度論解析を行い、SELdとの共役反応も検討した。

(2) セレノリン酸合成酵素のドメイン機能解析 ヒトのセレノリン酸合成酵素の2つのアイソザイム遺伝子Sps1, Sps2は互いに配列相同性が高く、活性中心残基がThr(Sps1)とSeCys(Sps2)である以外は一次構造を良く保存している。しかし、Sps1のThrをCysに置換してもセレノリン酸合成活性は認められず、活性中心の残基の違いだけでは触媒能の有無を説明できない。そこで両蛋白質のアミノ酸配列を比較してアミノ酸配列が大きく異なる領域を交換して、キメラな組換えSps遺伝子を調製して、*in vivo*アッセイ系によるセレノリン酸合成を評価した。その結果、ほ乳類Spsの触媒機能に必要とされるアミノ酸配列を新たに発見できた。

また触媒能を示さないSps1の生理機能の同定を目指して大腸菌内でSps1とSps2を同時発現できるベクター系を構築して、セレノリン酸合成活性に対する効果を検討した。その結果、Sps1がSps2の機能を抑制する働きを示す

ことを初めて同定することができた。その結果を受けて、Sps1とSps2が分子間相互作用を持ち、複合体として結合する可能性を酵母Two Hybridアッセイによって検討した。

3. 研究の方法

(1) 遺伝子破壊株による亜セレン酸還元代謝評価法の確立

亜セレン酸還元系の同定のため、グルタチオン還元酵素(*gor*)ノックアウト株とチオレドキシシン還元酵素(*trxB*)ノックアウト株を、温度感受性P1ファージを用いて作製した。遺伝子破壊は野生株MC4100株に対して行い、また*SeID*遺伝子をノックアウトした大腸菌WL400株に対しても*gor*や*trxB*の遺伝子ノックアウトを実施した。WL400株はヒトのセレンシステイン合成酵素*Sps2Cys*で相補すればセレン蛋白質合成能を回復することが出来るので、亜セレン酸からの還元産物がヒトの*Sps2*にも利用できることを示唆する。亜セレン酸を添加した培地で大腸菌を培養して、寒天平板上でBVを含むソフトアガーを重層する方法と液体培地で嫌氣的に培養した後、大腸菌細胞を懸濁した状態でFDH活性を測定してセレン酵素発現量を数値化する2つの方法を確立した。後者の数値的にFDH活性を評価する方法は、放射性同位元素⁷⁵Se標識亜セレン酸の取込実験にも使われる。FDHは本来、誘導酵素であるが、培地と培養条件の検討を重ねて構成的にFDHを発現させる新規な方法を確立した。

(2) ドメイン交換キメラSpsの作製法

Sps1とSps2のアミノ酸配列は相同性が高く、活性中心残基であるThr, Cys以外では1)N末端領域と2)C末端領域の配列が異なっている他、活性中心のすぐ下流の”内部配列”と呼ぶ領域に配列上の差異がある。Sps2は活性中心残基のSeCysをCys残基に置換しても*seID*相補活性を維持できるので本研究では*Sps2Cys*をSps2として用いる。Sps2CysのN末端領域、C末端領域を削除したトランケート体は増幅用

プライマーを用いたPCRにより調製した。つぎにキメラ体の作製のためSps1, Sps2Cysのコード領域にアミノ酸配列を変えることなく遺伝子配列を改変して新たに制限酵素認識配列を作製して「内部配列」の交換を行った。これらのトランケート体、およびキメラ体の遺伝子を*E. coli*内で発現させ、FDH活性を指標としてセレノリン酸合成機能を検定した。

(3) キャピラリー電気泳動法によるAMP検出法の確立

セレノリン酸合成酵素活性を大腸菌の*seID*相補だけでなく*in vitro*で酵素活性を評価した。セレノリン酸は分解やすく、極めて不安定な代謝中間体であるので、もう一つの反応産物であるAMPに着目してこれを分離定量する方法としてキャピラリー電気泳動法を検討した。ATPがセレノリン酸合成酵素反応の基質として使われるので生成物であるAMPと分離する方法が必要となる。110cmのキャピラリーと界面活性剤を添加したpH10.5の泳動緩衝液を用いることによりAMPとATPを分離してその生成量を定量する方法を確立した。酵素反応液からMgイオンと蛋白質を取り除く前処理が必要となった。キャピラリー電気泳動法は高分解能なピーク分離と定量が可能でありHPLCのように廃液処理の手間がかからないというメリットもある。

(4) Sps1, Sps2の共発現ベクターの構築

これまで、*Sps1*および*Sps2Cys*それぞれの遺伝子は単独で大腸菌*seID*欠損株で発現させ、セレノリン酸合成能の活性評価をおこなってきた。しかし、ほ乳類細胞中ではSPS1とSPS2は同時に発現しており、それらが共存することに何か生理的意義がある可能性が考えられた。しかし、この点について検討した研究報告はない。そこでSPS1およびSPS2Cysを大腸菌内で共発現させ、FDH合成を指標としてセレノリン酸合成能を検討した。この実験を実施するために、クローニングベクターとして

pRSF-Duetを用意して*Sps1*および*Sps2Cys*をそれぞれクローニングした。pRSF-Duetはマルチクローニングサイト (MCS) を二ヶ所保持し、それぞれにT7プロモーター領域を持つ。そこで、MCS1に*Sps1*を、MCS2に*Sps2Cys*をそれぞれ適当な制限酵素サイトを利用してクローニングをおこなった。

この共発現ベクターから2つのアイソザイムをPTG存在下で誘導発現させた。この発現プラスミドで形質転換した大腸菌によるFDH活性をBV染色法と⁷⁵Se標識亜セレン酸からの取込実験によって検討した。

4. 研究成果

(1) 遺伝子破壊株を用いた亜セレン酸還元代謝系の解明

まず、FDHの発現を指標とする簡便なアクセス法により*gor*ノックアウト株と*trxB*ノックアウト株による亜セレン酸同化能を比較した。野生株MC4100株では大腸菌*Se1D*によりセレン酸合成が触媒される。*gor*ノックアウト株は、野生株MC4100株と同程度のFDH活性を示した。しかし*trxB*ノックアウト株では、FDH活性が産生されなかった。大腸菌*se1D*をヒトのセレン酸合成酵素*Sps2Cys*で相補した場合も同様に*gor*をノックアウトしてもセレン酸合成は進行した。*trxB*ノックアウトでは*Sps2Cys*による相補効果は認められず、ヒトの*Sps2*もチオレドキシ還元酵素が触媒する反応を必要とすることが示された。チオレドキシ還元酵素の働きは亜セレン酸の還元反応に関わっている可能性が高い。しかし別の可能性として*trxB*ノックアウト株では細胞内の還元状態がより酸化になるのでFDHの転写そのものが抑制されるという見方もあるのでRealTime PCRを行ってFDHの転写産物の検出を行った。その結果、*gor*株、*trxB*株ともに野生株と同等以上のmRNAを生成していた。つぎに、亜セレン酸がSeCys残基としてポリペプチド鎖に取り込まれているという証拠を得るた

めに⁷⁵Se標識亜セレン酸の取込実験を行った。野生株MC4100を用いる実験、大腸菌*se1D*をヒトの*Sps2Cys*遺伝子で相補した実験系においても⁷⁵Se標識亜セレン酸をFDHのポリペプチドに取り込ませるために*trxB*が必要であることが示された。

(2) 組換え蛋白質を用いた亜セレン酸還元代謝機構の解明

亜セレン酸の還元的同化にチオレドキシ還元酵素が必要とされることは*in vivo*実験で示すことが出来た。しかし分子レベルで*trxB*が亜セレン酸代謝にどのように関わっているかは十分に証明されたとは言えない。ギ酸脱水素酵素は、活性中心にSeCys残基を持つ以外にモリブドプテリン補欠分子や鉄硫黄クラスターを持つ。これらの補欠分子族の構築に間接的に*trxB*遺伝子が関与している可能性もまだ完全には消えていない。そこで組換え蛋白質として調製した*trx*系や*se1D*系を用いてチオレドキシ系が亜セレン酸を還元する分子機構、さらにそれが*Se1D*によって基質として利用される可能性について検討を行った。亜セレン酸はチオレドキシ還元系によって還元された。さらにこの反応においては、グルタチオン系による亜セレン酸還元で観察されるような元素状セレンの析出は認められなかった。亜セレン酸50 mMではミカエリスメンテン式に則った初速度プロットを示したが、亜セレン酸濃度を125 mM, 250 mMに上げるとそのプロットはシグモイド曲線を示した。それぞれHill係数は1.7, 1.8と良く一致していた。チオレドキシ還元酵素が二量体構造を取ることでHill係数が2より小さい値を取るとは基質に対して正の協調性を示唆する結果と矛盾はしない。つぎにチオレドキシ還元系による亜セレン酸還元のしくみをさらに詳細に検討するために、⁷⁵Se標識-亜セレン酸をこの酵素系に添加して酵素反応を行なわせ、それを非還元的条件下でSDS-PAGEで展開した

後にオートラジオグラフィを行った。すると期待された通り⁷⁵Se標識されたチオレドキシンを同定することが出来た。trxに結合した⁷⁵SeはSDS-PAGE条件下でも蛋白質に結合したままであることや、その結合形成にはNADPHやチオレドキシ還元酵素などの還元系が必要であることも示すことが出来た。このような知見から、亜セレン酸はtrxに結合した状態で還元を受けて2価のセレンとして蛋白質に結合していることが推定された。このような系をSe1Dと共役した結果、Se1D産物であるAMPの生成をキャピラリー電気泳動上で同定することが出来た。

セレン代謝においてセレンを特異的に認識してSpsに供給する輸送系の存在が議論されてきたが、その化学的実態が同定されていない。本研究は、セレン輸送システムとしてチオレドキシンとその還元酵素に関わる生化学反応が可能であることを初めて示すことが出来た。

(3) ヒト肺由来Spsのドメイン機能解析

まずSps1とSps2Cysの活性中心残基を交換したSps1_Thr29CysとSps2_SeCys60Thrを作製し、*Se1D*相補試験を行った。Sps1_Thr29CysはBV発色試験では微弱な活性を示したが、⁷⁵Se標識亜セレン酸の取込み実験では、⁷⁵Se標識ポリペプチドが検出できなかった。この結果からSps1が亜セレン酸をセレン源としてセレノリン酸合成活性を示さないのは活性中心残基がThrである事だけでないことが示唆された。Sps1とSps2の構造的差異として顕著なものはN末端領域とC末端領域の配列の違いであるが、両末端を削除したSPS2(Δ1-34, Δ426-449)においてもセレノリン酸合成活性を示し、⁷⁵Se標識亜セレン酸の取込みも見られた。この配列がSps活性に必要とされる訳ではないことが示された。

Sps活性を示すために必要とされる構造要

因としてあとに残された領域は活性中心に続く内部アミノ酸配列、即ちSps1ではA74-A114の配列、Sps2ではGlu43-Arg83の配列領域である。Sps2の内部配列Glu43-Arg83はプロリンに富むアミノ酸配列を持ち、立体構造としてはループ状のフレキシブルな構造を持つと推定される。

それぞれの遺伝子の塩基配列に制限酵素サイトを導入した後、Sps1とSps2の内部アミノ酸配列を交換した。それらの遺伝子はそれぞれSps1-int2, Sps2-int1と表記する。両遺伝子とも大腸菌の*se1D*欠損を相補することは出来ず、Sps2の活性には内部配列int2(Glu43-Arg83)の存在が必要であることが示された。Sps1-int2にさらにThr29Cysの変異導入を図った場合、FDH活性の発現と⁷⁵Se標識FDHポリペプチドの生産が認められたので、Sps1を使ったとしても活性中心のCys残基とint2配列が存在すれば、Sps活性が発現することが示された。以上の検討から、ほ乳類のセレノリン酸合成酵素の活性発現に必要とされる構造要因は、1)活性中心がSeCysまたはCysであること。2)活性中心より下流のプロリンに富む内部配列を持つことと示された。活性中心残基の重要性はすでに確立していたが、プロリンに富む内部配列領域の重要性は本研究により初めて同定されたものである。

大腸菌などのバクテリアやアーキア由来のSPSでも活性中心のSeCysやCysが活性に必須であることが知られている。しかし、これらSPSにはほ乳類SPS2に同定された内部アミノ酸配列は存在しない。90%程度の高い相同性を示すほ乳類由来のSps2、つまりラット、マウスではヒトSps2と同様の配列を持つ。従ってこのような構造はほ乳類のセレノリン酸合成特有の活性調節機構が機能していることを示唆している。ほ乳類特有という点ではSps1という触媒能を示さない不活性なアイソザイム

の存在もほ乳類特有といえる。つぎには乳類特有の「不活性なアイソザイム」であるSps1の真の機能解析を目指してSps1, Sps2の共発現の効果を検討した。

(4) Sps2Cysの触媒作用を抑制するSps1

Sps1とSps2Cysを同時発現させるためにpRSF-Duetベクターの二ヶ所のマルチクローニングサイトにそれぞれ*Sps1*および*Sps2Cys*をクローニングした。pRSF-Sps1+2を用いてWL400 (DE3)株を形質転換し、FDH_H合成をBenzyl viologenの還元能を指標として測定した。誘導剤IPTGの非存在下ではセレン酵素FDH_Hが発現したが、0.5 mMのIPTG存在下においてFDH_H合成が顕著に抑制された。また、SPS1とSPS2間のタンパク質相互作用を確認するために、Yeast Two-Hybrid系を用いて*in vivo*でのTwo-Hybridスクリーニングをおこなった。その結果、SPS1同士およびSPS1とSPS2はそれぞれタンパク質間相互作用をすることが判明した。この結果は、SPS1とSPS2がヘテロ二量体を形成するとの仮説を支持する結果である。しかしSPS2同士ではスクリーニング時の酵母菌体の生育が確認されなかった。SPS1およびSPS2の精製酵素を得るため、無細胞タンパク質合成系を用いて*in vitro*でSPS1, SPS2を合成した。この精製酵素を用いてnative-PAGEおよびゲル濾過クロマトグラフィーをおこなった結果、SPS2も二量体構造を取ることが示された。SPS1はセレンリン酸合成能を示さないことから、セレンタンパク質合成系に関与していない可能性が高いとの認識がなされてきた。しかし本研究により、SPS1はSPS2と結合しヘテロ二量体を形成することでSPS2のセレンリン酸合成を抑制するという重要な知見を提供した。このような知見とよく似た現象としてポリアミン合成系に関わるオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) の厳密な制御に関わるアンチザイム (AZ) が知られている。AZは生体分

子ポリアミンによって発現誘導され、細胞内ポリアミン生産を負に制御する。発現したAZはポリアミン合成の律速酵素であるオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) の単量体に結合し、ODC活性を阻害し、26Sプロテアソームによる分解の信号になる。ポリアミン合成系においては、AZとの複合体からODC単量体を解放するAZ インヒビター分子も存在するが、これに相当する分子がセレンリン酸合成系で存在するか否かは現時点では不明であり今後の課題である。AZによる活性調節は、酵素の活性を最も厳密に制御できる機構とされているが、この機構が働いていることが確立しているのはポリアミン合成系のみである。本研究で得られた知見は、セレンリン酸合成酵素系でこのような活性調節機構が働いている可能性を示唆するものである。

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2件)

- 1) Takahata, M., Tamura, T., Abe, K., Mihara, H., Kurokawa, S., Yamamoto, Y., Nakano, R., Esaki, N., Inagaki, K., Selenite Assimilation into Formate Dehydrogenase H Depends on Thioredoxin Reductase in *Escherichia coli*. *J. Biochem.*, **143**, 467-473 (2008) 査読有り
- 2) 高畑宗明, 田村 隆, 阿部勝正, 三原久明, 江崎信芳, TC. Stadtman, 稲垣賢二, 大腸菌の亜セレン酸同化はチオレドキシン還元系に依存する. *Trace Nutrients Research.*, **24**, 42-48 (2007) 査読有り
[学会発表] (計13件)
- 1) 高畑宗明, 田村 隆, 三原久明, 江崎信芳, 稲垣賢二, ヒト肺細胞由来セレンリン酸合成酵素のドメイン機能解析, 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会, 2008年12月10日, 神戸
- 2) T. Tamura, Thioredoxin system is the specific gateway for selenite assimilation, The special seminar in Redox Research Center in Nebraska University, 2008年10月29日米国ネブラスカ州リンカーン
- 3) T. Tamura, Selenite Assimilation into Formate Dehydrogenase H depends on Thioredoxin Reductase in *Escherichia*

coli, Second International Interdisciplinary Conference on Vitamines, Coenzymes, and Biofactors. 2008年10月30日米国ジョージア州エイセズ

- 4) 田村 隆, 亜セレン酸還元代謝の「定説」を疑う!! 日本微量元素学会シンポジウム, 2008年7月3日東京
- 5) 高畑宗明、古森健太郎、田村 隆、稲垣賢二, E. coli 亜セレン酸同化はチオレドキシシン還元酵素に依存する, 第49回日本生化学会中国・四国支部例会, 2008年5月17日, 高松市
- 6) 高畑宗明, 田村 隆, 黒川 優, 三原久明, 江崎信芳, 稲垣賢二, ほ乳類セレン酸合成酵素のドメイン機能解析, 日本農芸化学会2008年度大会, 2008年3月29日名古屋
- 7) 古森 健太郎, 田村 隆, 高畑 宗明, 稲垣賢二, 亜セレン酸代謝に関わるチオレドキシシン還元系, 日本農芸化学会2008年度大会, 2008年3月29日名古屋
- 8) 高畑宗明, 田村 隆, 三原久明, 江崎信芳, 稲垣賢二, ヒト肺細胞由来セレン酸合成酵素のドメイン機能解析, 第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会合同大会, 2007年12月15日, 横浜市
- 9) 田村 隆, 高畑宗明, 古森健太郎, 阿部勝正, 三原久明, 江崎信芳, 稲垣賢二, チオレドキシシン還元系に依存する大腸菌の亜セレン酸代謝, 第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会合同大会, 2007年12月15日, 横浜市
- 10) 古森健太郎, 田村 隆, 高畑宗明, 三原久明, 江崎信芳, 稲垣賢二. 亜セレン酸代謝に関わるチオレドキシシン還元反応系, 日本農芸化学会2008年度大会, 2007年3月24日, 東京
- 11) M. Takahata, T. Tamura, K. Abe, H. Mihara, N. Esaki, T. C. Stadtman, K. Inagaki, Thioredoxin reductase-dependent assimilation of selenite into FDHH in Escherichia coli, Selenium 2006, マジソン市米国ウィスコンシン州, 2006年7月26日
- 12) M. Takahata, T. Tamura, K. Abe, H. Mihara, N. Esaki, T. C. Stadtman, K. Inagaki, Assimilation of selenite into FDHH in Escherichia coli 国際生化学分子生物学会合同会議2006年6月13日, 京都市
- 13) 田村 隆, 高畑宗明, 阿部勝正, 三原久明, 江崎信芳, 稲垣賢二, 大腸菌の亜セレン酸同化はチオレドキシシン還元酵素に依存する, 日本ビタミン学会, 2006年5月27日, 徳島市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

<http://www.agr.okayama-u.ac.jp/AppEnz/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田村 隆 (TAMURA TAKASHI)

岡山大学・大学院自然科学研究科・准教授

研究者番号: 40253009

(2) 連携研究者

稲垣 賢二 (INAGAKI KENJI)

岡山大学・大学院自然科学研究科・教授

研究者番号: 80184711