

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 8 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20350038

研究課題名（和文） 機能性核酸及びペプチド核酸複合体を基体とする柔軟な情報変換システムの構築

研究課題名（英文） Versatile Molecular Devices Based on Functional DNA and PNA Complexes

研究代表者

井原 敏博（IHARA TOSHIHIRO）

熊本大学・大学院自然科学研究科・教授

研究者番号：40253489

研究成果の概要（和文）：ソフトマテリアルを基体とした情報変換、増幅のための機能モジュールの開発、さらにそれらを組織化した多様なセンシングシステムの構築を最終目標として、種々の機能性分子を導入した人工核酸を合成した。 β -シクロデキストリン、ターピリジン、およびアントラセンを修飾した DNA を用いて、それぞれ 2 つの分子を論理的に組合わせて用いる SNP シグナルの蛍光検出、核酸機能の金属イオンによる制御、および核酸複合体形成の光制御の可能性を検討した。

研究成果の概要（英文）：The research aims at the development of the DNA and PNA-based functional modules and their integrated flexible system for chemical or physical signal amplification and transduction. DNA conjugates carrying β -cyclodextrin, terpyridine, and anthracene were prepared as functional modules for fluorescent SNP analysis, metallo-regulation of DNA functions, and reversible photo-regulation of DNA-based nanostructures, respectively.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2009 年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2010 年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2011 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
年度			
総計	15,000,000	4,500,000	19,500,000

研究分野：生物分析化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：DNA コンジュゲート、協同性、化学センサー、バイオセンサー、光化学、錯生成、ハイブリダイゼーション、機能性核酸

1. 研究開始当初の背景

(1) ケミカルゲノミクスの基礎技術

核酸は、与えられた標的核酸に対し選択的に結合する分子を（Watson-Crick のルールに従うだけで）*de novo* 設計できる唯一の分子基体である。核酸を複合体の足場として利用すると、複数の機能性コンジュゲートを独立した機能モジュールとして、共有結合やハイブ

リダイゼーションにより互いに組み合わせることが可能であり、モジュール個々の性質が相乗的に機能する複合システムをかなりの自由度をもって構成することができる。

DNA やペプチドは化学的に比較的安定である。通常これらの分子は自動合成装置を用いて固相合成によって得られるが、種々の刺激に応答する機能性分子を基体としたアミダイト試薬や特殊アミノ酸などを合成でき

れば、同装置内で核酸やペプチド分子の任意の箇所に望みの順番で異なる非天然の機能ユニットを組み込むことも容易である。これらの技術そのものは現在でも研究対象となり、なお発展を続けているが、既に成熟の域に達しており、ユニークなコンジュゲートを設計する際に我々はいま多くの技術的選択肢を手にはしている。

(2) 関連研究の世界的動向 –ケミカルゲノミクスを基盤とした分析化学–

遺伝子診断用のプローブとしてこれまでに非常に多くの DNA コンジュゲートが報告されている。モレキュラービーコンはその代表的な成功例の一つである。核酸以外の分子を標的にしたものとしては、例えば DNA アプタマーや DNA エンザイムを利用したトロンビン、コカインの検出、核酸の特殊な高次構造形成を利用した K^+ や Hg^+ の検出などの例がある。

2. 研究の目的

ソフトマテリアルを基体とした情報変換、増幅のための機能モジュールの開発、さらにそれらを組織化した多様なセンシングシステムの構築を行う。具体的には、ケミカルゲノミクスを基盤技術として、DNA、および PNA (ペプチド核酸) などの核酸や核酸アナログに適当な機能性分子を化学修飾した特殊な機能性コンジュゲートを合成する。これら核酸コンジュゲートは、その機能をアロステリックに変化させる仕組みをもつ。例えば特定イオンとの相互作用、酸化還元、光照射などの刺激によりその構造や性質を変化させる。特定の相補的な核酸を足場とするとこれら複数の異なるコンジュゲート (機能モジュール) を規定された配向、距離に自在に配置することで高度に組織化された分子複合システムを精度よく構築することが可能となる。すなわち、本研究では、コンジュゲートの機能発現に関連したアロステリズムを積極的に利用して化学的 (または物理的) シグナルを変換することのできる汎用性の高い方法論を提案する。化学センサー、バイオプローブ、さらには分子マシンなど様々な応用が期待できる。

3. 研究の方法

化学合成 DNA に機能性分子を化学的に導入した人工 DNA を調製した。おもに、機能性分子として、 β -シクロデキストリン (β CyD)、ターピリジン (terpy)、およびアントラセン (ant) を用いた 3 種類の系について重点的に研究を行った。

(1) β -シクロデキストリン修飾 DNA

β CyD の一カ所のみをチオール化した。化

学合成 DNA の末端にアミノ基を導入し、両者を二価性試薬 (SPDP) により連結した。逆相 HPLC により精製し、MALDI-TOF MS により同定した。蛍光性リガンドと β CyD、および、SNP 塩基を含む核酸複合体との相互作用はの解析は蛍光シグナルを利用した滴定法により行った。蛍光性リガンドに関しては、東北大学大学院理学研究科の寺前、西澤グループより供給を受けて使用した。

(2) ターピリジン修飾 DNA

terpy を基体とするアミダイト試薬を合成した。全 8 段階に及ぶ合成反応は、全てのステップにおいて満足できる収率で行うことができた。このアミダイト試薬を DNA 自動合成装置に導入して、terpy を DNA 骨格中に組込んだ。目的とするコンジュゲートは逆相 HPLC により精製し、MALDI-TOF MS により同定した。紫外・可視分光光度法により遷移金属イオン、 Fe^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} との相互作用を観察した。

(3) アントラセン修飾 DNA

1-アントラセンカルボン酸をジスクシンイミジルカルボニルを用いてスクシンイミドタイプの活性エステルとした。両末端にアミノ基をもつ DNA を化学合成し、これに活性エステルをカップリングさせた。DNA の両末端に対して一段階で ant 修飾を行ったが、反応収率は非常に良好であった。目的とするコンジュゲートは逆相 HPLC により精製し、MALDI-TOF MS により同定した。光照射実験においては、LED ランプにより 366 nm の光を、ゲル観察用のトランスイルミネータにより 312 nm の光を照射した。生成物は HPLC により追跡した。

上記全ての系において、合成 DNA のターゲットとの間で形成する複合体 (二本鎖、または三本鎖構造) の熱安定性は、UV 融解実験により検討した。

4. 研究成果

(1) β -シクロデキストリン修飾 DNA を用いた遺伝シグナルの発光検出

DNA を反応の足場として論理的に特定の塩基をねらった検出系の構築を目的とした。具体的には、ターゲット DNA に対して、 β CyD を修飾した DNA コンジュゲート (CyD-DNA) と、塩基識別能を持つ蛍光性リガンド複合体を利用した。これら 2 つの分子を論理的に組合わせて使用することで簡便で柔軟な塩基識別法の開発を行った。

CyD-DNA は、 β CyD の「選択的な分子包摂機能」と核酸類の「プログラム可能な分子認識機能」を併せ持つ化合物である。一方、蛍光性リガンドは「塩基認識部位」と、「蛍光部位」を共有結合で連結した化合物である。

ターゲットDNAの相補鎖であるmaskとCyD-DNAからなるタンデム二本鎖を形成させた。この二本鎖には一塩基ギャップをつくり、そこにSNP塩基（一塩基多型：single nucleotide polymorphism）が提示されるよう設計した。この複合体にリガンドを添加すると塩基識別部位がSNP塩基を特異的に認識して結合し、リガンドの蛍光部位はすぐ近くのβCyDに包摂されてその蛍光が増大する、すなわち、SNPを蛍光シグナルに変換することを期待した（図1）。この検出原理にしたがって実験を行った結果、このシステムが分子認識の舞台となるDNA複合体中でのリガンドとβCyDの位置関係に大きく依存することが示された。塩基選択性の異なる3つのリガンドを用いて、DNA、およびRNAをターゲットにしてSNP検出実験を行った結果、協同的認識機構の全容を明らかにすることができた。

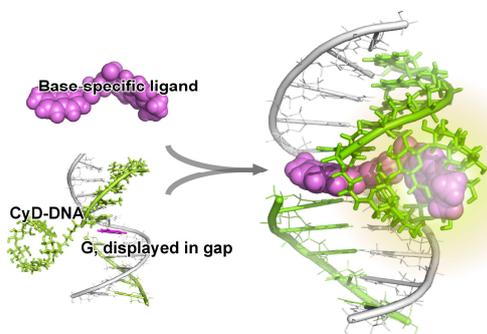


図1 CyD-DNA と塩基選択性蛍光性リガンドを用いた核酸塩基の特異的認識
塩基認識と発シグナル機構を分離して同期させることができるので、異なる塩基への対応、異なる発光波長での検出系を論理的に設計することができる。

塩基との相補性を利用して、特定の塩基に結合する小分子を設計することは難しくないが、結合と同時に“光る”分子を設計することはたいへん難しく、試行錯誤を経るしかない。本法で使用したリガンドは、塩基結合分子と環境応答型の蛍光分子を連結したハイブリッド分子であり、DNA複合体の高いアドレスリング能を上手く利用することでSNP塩基の認識とβCyDへの包摂が同時に起こる工夫をして、結合とシグナル発生を同期させることに成功した。本手法が、2つの分子の論理的な組み合わせによりあらゆる塩基を対象にすることができる、汎用性のあるSNP分析法を提案することができた。

(2) ターピリジンを組込んだ DNA を用いた金属依存性の機能性核酸の開発

terpy を基体とするアミダイト試薬を DNA 自動合成装置に導入して、鎖中に2つの terpy

を組込んだ種々のオリゴヌクレオチド (terpy₂ODN) を合成することができた。適当な金属イオン共存下、この terpy₂ODN は分子内の2つの terpy が金属イオンとの間で 2 : 1 の錯体を形成し、それに伴って terpy₂ODN 全体がΩ型構造をとることが期待される。すなわち、一次構造では互いに離れていた両末端の配列が Ω 構造形成に伴って互いに引き寄せられ、一続きの新しい配列を与えることになる。金属イオンによる高次構造の可逆的スイッチングである（図2）。この配列に相補的な DNA との二本鎖形成を観察することによって、これを検証した。

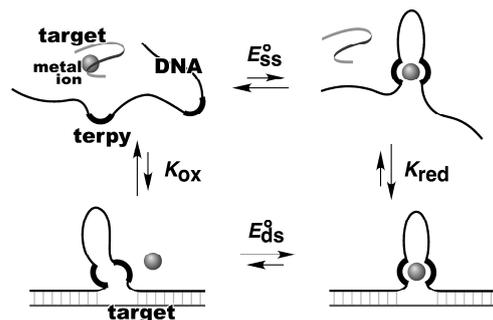


図2 terpy₂ODN を用いた核酸構造の制御および検出
terpy と金属イオンとの可逆的な相互作用により DNA の構造をドラスティックに制御することができる。これにより、ターゲットとの結合を制御、あるいは検出することが可能になる。

はじめに種々の金属イオンと terpy₂ODN との相互作用を分光学的手法により観察した。概ね一般に知られている金属イオンと terpy との錯生成挙動から予測される結果となった。すなわち、Fe²⁺と Ni²⁺では、金属イオンの添加量に依存せず、広い濃度範囲で 2 : 1 錯体の形成が示唆されたが、Cu²⁺や Zn²⁺などでは量比に依存して 2 : 1 から 1 : 1 錯体へと形態を変化させる様子が見られた。次に、Fe²⁺存在下、両末端配列と相補的な DNA との二本鎖の熱安定性を UV 融解実験により観察した。その結果、terpy₂ODN と同濃度の Fe²⁺を系に添加することにより二本鎖が大きく安定化することがわかった。これは、DNA のループ構造を自在に制御できることを意味し、このユニットを機能性核酸に導入することでアロステリックに制御可能なシグナル応答系が設計できることになる。今後は、よく知られているアプタマーや DNAzyme に terpy ユニットの組み込み、そのターゲット結合能や触媒活性を制御することを試みる予定である。

(3) アントラセン修飾核酸の相互作用の可逆的光制御

DNA のそれぞれの末端の一つずつ2つの ant を化学修飾したコンジュゲート (ant_2ODN) を合成した。 ant_2ODN は対称な塩基配列を有し、折れ曲がって U 字構造をとり、プリン配列を挟むかたちで非常に安定な二分子三本鎖構造を形成する。

この構造に、LED ランプにより 366 nm の光を照射するとわずか数秒で末端の両アントラセンが二量化して環状の DNA ($\text{ant}^{\wedge}\text{antODN}$) を形成することがわかった (図3)。 ant_2ODN は 7-mer という非常に短い認識サイトでも安定な複合体を形成できるので、配列特異性と結合力という分子認識における普遍的なジレンマを軽減できることがわかった。つまり、同条件で同等の熱安定性をもつ 15-mer 二本鎖複合体の場合と比較して配列特異性に関して著しい改善が見られた。線状と環状の DNA は HPLC やゲル電気泳動により容易に識別することが可能なので、この方法は DNA や RNA の一塩基識別に利用することができる。

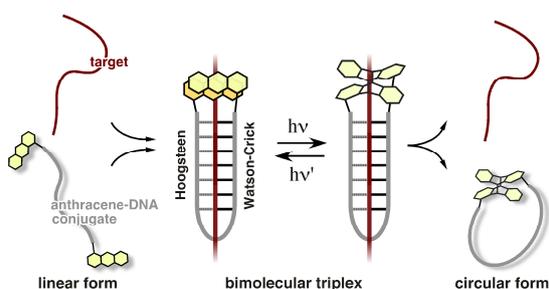


図3 ant_2ODN を用いた核酸構造の可逆的光制御
特定の DNA 存在下、数秒間の光照射により、 ant_2ODN を可逆的に環化することに成功した。

また、光反応により生成した環状 DNA $\text{ant}^{\wedge}\text{antODN}$ はテンプレートとして用いたプリン配列への結合が向上することがわかった。これは結合型のコンフォメーションが固定化された効果、すなわち preorganization または、エントロピー効果によるものである。さらに、アントラセン二量体が短波長 (312 nm) の光照射により可逆的に開裂することを利用して環化した DNA ($\text{ant}^{\wedge}\text{antODN}$) を再び線状化 (ant_2ODN) できることもわかった。このことは、テンプレート DNA という入力シグナルを DNA のコンフォメーションというかたちで記録し、さらに消去できる (rewritable memory) ことを意味する。

本研究で開発した人工 DNA、 ant_2ODN は 1) 高感度であり (強い結合能)、かつ高い塩基配列選択性を両立させた光反応性プローブとして、2) 光によってその結合能を可逆的に制御可能なリガンドとして、さらには

3) DNA を基体としたナノ構造体の可逆的構築のための素反応として有用である。

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 20 件)

- ① T. Ihara, Y. Kitamura, Photochemically Relevant DNA-based Molecular Systems Enabling Chemical and Signal Transductions and Their Analytical Applications, *J. Photochem. Photobiol. C*, 査読有, 2012, 印刷中
- ② 井原敏博, 北村裕介, スプリット型プローブの協同的錯体形成を利用する DNA の認識及び検出, *分析化学*, 査読有, 2012, 61 巻, pp. 193–206
- ③ T. Ihara, Y. Kitamura, Y. Tsujimura, A. Jyo, DNA Analysis Based on the Local Structural Disruption on the Duplexes Carrying a Luminous Lanthanide Complex, *Anal. Sci.*, 査読有, 27 巻, 2011, pp. 585–590
- ④ T. Ihara, T. Wasano, R. Nakatake, P. Arslan, A. Futamura, A. Jyo, Electrochemical Signal Modulation in Homogeneous Solutions Using the Formation of an Inclusion Complex between Ferrocene and β -cyclodextrin on DNA Scaffold, *Chem. Commun.*, 査読有, 47 巻, 2011, pp. 12388–12390
- ⑤ P. Arslan, A. Jyo, T. Ihara, Reversible Circularization of an Anthracene-modified DNA Conjugate through Bimolecular Triplex Formation and Its Analytical Application, *Org. Biomol. Chem.*, 査読有, 8 巻, 2010, pp. 4843–4848
- ⑥ T. Ihara, A. Uemura, A. Futamura, M. Shimizu, N. Baba, S. Nishizawa, N. Teramae, A. Jyo, Cooperative DNA Probing Using a β -Cyclodextrin–DNA Conjugates and a Nucleobase-specific Fluorescent Ligand, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有, 131 巻, 2009, pp. 1386–1387
- ⑦ M. Mukae, T. Ihara, M. Tabara, A. Jyo, Anthracene–DNA Conjugates as Building Blocks of Designed DNA Structures Constructed by Photochemical Reactions, *Org. Biomol. Chem.*, 査読有, 7 巻, 2009, pp. 1349–1354
- ⑧ T. Ihara, T. Ishii, N. Araki, A. W. Wilson, A. Jyo, Silver Ion Unusually Stabilizes the Structure of a Parallel-Motif DNA Triplex, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有, 131 巻, 2009, pp. 3826–3827
- ⑨ M. Mukae, T. Ihara, M. Tabara, P. Arslan, A. Jyo, Photodimerization of Anthracenes Using a DNA Template and Its Analytical Applications, *Supramol. Chem.*, 査読有, 21 巻, 2009, pp.

292–295

⑩ T. Ihara, D. Sasahara, M. Shimizu, A. Jyo, DNA Conjugates Bearing a Ferrocenyl Group in Backbone and Their Electrochemical Behavior, *Supramol. Chem.*, 査読有, 21 巻, 2009, pp. 207–217

⑪ A. Kuzuya, T. Ohnishi, T. Wasano, S. Nagaoka, J. Sumaoka, T. Ihara, A. Jyo, M. Komiyama, Efficient Guest Inclusion by β -Cyclodextrin Attached to the Ends of DNA Oligomers upon Hybridization to Various DNA Conjugates, *Bioconjugate Chem.*, 査読有, 20 巻, 2009, pp. 1643–1649

⑫ P. Arslan, T. Ihara, M. Motoko, A. Jyo, The Effect of Local Structural Disruption on the Yield of Photochemical Ligation between Anthracene-Oligonucleotide Conjugates, *Anal. Sci.*, 査読有, 24 巻, 2008, pp. 173–176

⑬ Y. Kitamura, T. Ihara, Y. Tsujimura, Y. Osawa, D. Sasahara, M. Yamamoto, K. Okada, M. Tazaki, A. Jyo, Template-Directed Formation of Luminescent Lanthanide Complexes: Versatile Tools for Colorimetric Identification of Single Nucleotide Polymorphism, *J. Inorg. Biochem.*, 査読有, 102 巻, 2008, pp. 1921–1931

⑭ T. Ihara, Y. Sato, H. Shimada, A. Jyo, Metallo-regulation of Triple Helix Formation by Control of the Loop Conformation, *Nucleos. Nucleot. Nucl.*, 査読有, 27 巻, 2008, pp. 1084–1096

[学会発表] (計 45 件)

① T. Ihara, T. Wasano, R. Nakatake, A. Futamura, A. Jyo, Electrochemical Study of DNA Hybridization in Homogeneous Solutions, The 38th International Symposium on Nucleic Acid Chemistry, ISNAC 2011, 2011 年 11 月 9 日, 北海道大学, Sapporo

② T. Ihara, Rational regulation of nucleic acid structures by specific formation of metal complexes, The 14th Asian Chemical Congress, 2011 年 9 月 7 日, Bangkok, タイ王国

③ 井原敏博, 機能性核酸複合体のプログラミングと分析化学的応用, 中央大学理工学研究科学術講演会, 2011 年 7 月 15 日, 中央大学, 東京

④ T. Ihara, Y. Kitamura, A. Uemura, N. Baba, S. Nishizawa, N. Teramae, A. Jyo, DNA probing by cooperative luminous complex formation on the target, PacifiChem 2010, 2010 年 12 月 16 日, Honolulu, アメリカ合衆国

⑤ A. Futamura, A. Uemura, A. Jyo, N. Baba, S. Nishizawa, N. Teramae, T. Ihara, Cooperative DNA Probing Using β -Cyclodextrin-modified DNA and Nucleobase-specific Fluorescent Ligand, PacifiChem 2010, 2010 年 12 月 16 日,

Honolulu, アメリカ合衆国

⑥ T. Hirayama, A. Jyo, T. Ihara, Synthesis of DNA Conjugate for Photo-triggered New Chemical Ligation, PacifiChem 2010, 2010 年 12 月 16 日, Honolulu, アメリカ合衆国

⑦ 井原敏博, 核酸上でのデザインされた特異反応およびその分析化学的応用, 第 20 回アンチセンスシンポジウム, 2010 年 12 月 2 日, 甲南大学, 神戸市

⑧ T. Ihara, A. Futamura, A. Uemura, Y. Kitamura, A. Jyo, Y. Sato, S. Nishizawa, N. Teramae, Rational Construction of Luminous Structures on DNA Scaffold for Analytical Applications, The 19th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids (IRTXIX), 2010 年 8 月 29 日, Lyon, フランス

⑨ 井原敏博, 機能分子を協調させて核酸を検出する, 奈良先端科学技術大学院大学物質創成化学特講, 2010 年 2 月 10 日, 奈良先端大学院大学, 奈良市

⑩ T. Ihara, T. Ishii, A. Jyo, Interaction of silver ion with CG.C⁺ base triplets in DNA triplex, The 6th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2009 (6ISNAC2009), 2009 年 9 月 28 日, 高山文化会館, Takayama

⑪ T. Ihara, DNA Probing Using Luminous Complexes Assembled on the Targets, 2nd Switzerland-Japan Biomolecular Chemistry Symposium (SJBCS 2009), 2009 年 9 月 11 日, 東京大学, Tokyo

⑫ 井原敏博, 核酸上での分子間相互作用を利用したシグナル変換, 第 11 回生命化学研究会 –生命化学をシステムで捉えたら–, 2008 年 11 月 28 日, ホテル水上館, 群馬県利根郡みなかみ町

⑬ 井原敏博, スプリットプローブの形成する希土類錯体の発光を利用した遺伝子検出, 第 58 回錯体化学討論会 (希土類錯体: 未踏配位化学の探求と機能創成), 2008 年 9 月 20 日, 金沢大学, 金沢市

⑭ P. Arslan, T. Ihara, A. Jyo, Efficient Circular DNA Formation by Photochemical Ligation on the Bimolecular Triplex Consisting of Homopyrimidine Template and Anthracene-modified Oligonucleotide Conjugate, Joint Symposium of 18th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and 35th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, 2008 年 9 月 10 日, 京都国立国際会館, Kyoto

⑮ 井原敏博, 核酸上での分子間相互作用を利用したシグナル変換, 日本分析化学会第 57 年会, 2008 年 9 月 10 日, 福岡大学, 福岡市

⑯ M. Mukae, T. Ihara, M. Tabara, P. Arslan, A. Jyo, Photodimerization of Anthracene Using DNA Template and Its Analytical Application,

International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry 2008 (ISMSC2008), 2008年7月17日, Las Vegas, アメリカ合衆国

⑰ T. Ihara, T. Wasano, A. Uemura, D. Sasahara, M. Shimizu, A. Jyo, Electrochemical Gene Analysis Based on Cooperative Interaction of DNA Conjugates, International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry 2008 (ISMSC2008), 2008年7月17日, Las Vegas, アメリカ合衆国

⑱ 井原敏博, 機能化 DNA の協同性を利用した核酸の認識及び検出, 第45回化学関連支部合同九州大会, 2008年7月5日, 北九州国際会議場, 北九州市

⑲ 井原敏博, 核酸を足場とした超分子設計-計測系への応用-, 第24回緑陰セミナー札幌, 2008年6月29日, 国営滝野すずらん丘陵公園青少年自然の家, 札幌市

⑳ 井原敏博, プローブを協調させて DNA を認識・分析する, 大阪大学大学院薬学研究科特別講演会, 2008年5月16日, 大阪大学, 吹田市

[図書] (計4件)

① 井原敏博, 他, 核酸とカチオンの特異な相互作用, CSJ カレントレビュー 核酸化学のニュートレンド, 化学同人, 2011, pp. 173-180

② 井原敏博, 他, 東京化学社, 基礎教育シリーズ 分析化学 (基礎編), 2011

③ 井原敏博, 他, 東京化学社, 基礎教育シリーズ 分析化学 (機器分析編), 2011

④ 井原敏博, 他, 東京化学社, 基礎教育シリーズ 新版 分析化学実験, 2008

[産業財産権]

○出願状況 (計3件)

名称: Method of Electrochemically Detecting Nucleic Acid with the Use of DNA Conjugate

発明者: 井原敏博

権利者: 熊本大学

種類: 特許

番号: PCT/JP2009/054542

出願年月日: 2009年3月10日

国内外の別: 国外

名称: 金属イオンにより核酸の多重構造を安定化させる方法

発明者: 井原敏博

権利者: 熊本大学

種類: 特許

番号: 2009-032783

出願年月日: 2009年2月16日

国内外の別: 国内

名称: DNA コンジュゲートを利用した核酸の

電気化学的検出法

発明者: 井原敏博

権利者: 熊本大学

種類: 特許

番号: 2008-168127

出願年月日: 2008年6月27日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://133.95.131.186/~toshi/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井原 敏博 (IHARA TOSHIHIRO)

熊本大学・大学院自然科学研究科・教授

研究者番号: 40253489

(2) 研究分担者

櫻井 敏彦 (SAKURAI TOSHIHIKO)

鳥取大学・工学部・准教授

研究者番号: 10332868

(3) 連携研究者

林田 修 (HAYASHIDA OSAMU)

福岡大学・理学部・教授

研究者番号: 20231532