

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：52101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20H02608

研究課題名(和文) タンパク質凝集のリアルタイム顕微分析技術の開発と凝集プロセスの解明

研究課題名(英文) Research and development of real-time microscopic analysis technique for investigating protein-aggregation process

研究代表者

若松 孝 (WAKAMATSU, Takashi)

茨城工業高等専門学校・国際創造工学科・教授

研究者番号：80220838

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：液中のタンパク質凝集体に高感度な前方小角散乱光の静的及び動的な溶液光散乱を同時・瞬時計測(散乱光動画撮影)して、顕微鏡スケールで溶解状態からの凝集体形成をリアルタイムで測定できる分析技術・装置を開発し、ポリスチレン粒子やリゾチームタンパク質などの凝集化を調査した。電解質イオンによるタンパク質等の拡散支配のコロイド凝集化は、リガンド結合のような反応系凝集に比べて凝集体形成の揺らぎが大きく、液中で不均一にサイズ・構造分布のある凝集体が成長することが分かった。前方散乱光動画の計測・解析に基づく開発の分析装置は、タンパク質等の凝集化プロセスを詳細に分析評価するための有力な分析ツールである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質凝集体の分析評価は、抗体診断薬や治療薬等のバイオ医薬品をはじめ、化粧品や機能性食品等の分野における研究開発で非常に重要であるが、タンパク質凝集体は温度や溶液条件などの外的・内的要因に敏感で不安定であるがゆえに、サブミクロンスケールにおける凝集体の分析評価法は未だ確立されていない。

本研究では、前方静的光散乱と前方動的な光散乱を同時に瞬時計測(前方散乱光の動画撮影)してタンパク質等のコロイドの凝集体形成をリアルタイムで分析できる基盤技術を開発し、典型的なコロイドの凝集化プロセスを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We have developed a method and an apparatus for characterizing protein aggregation process by simultaneous measurements of static and dynamic light scattering at small angles, which enables to real-timely and microscopically measure the aggregation from dissolution state, and evaluated aggregation of polystyrene latex and lysozyme protein. The demonstration shows that the diffusion-dominative aggregation for colloidal particles with electrolyte ions has a strong fluctuation in aggregate form, and reveals the aggregates are ununiformly grown in liquid with distributions of the size and the structure, as contrasted with reaction-dominative aggregation such ligand combination.

研究分野：応用物性

キーワード：タンパク質 ナノ粒子 凝集体 タンパク質凝集 相分離 光散乱 リアルタイム分析 顕微分析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質凝集体の分析は、バイオ医薬品をはじめ、化粧品や機能性食品などの研究開発で必須であるが、液中の凝集体は複雑な構造をもち、温度や溶液条件(濃度、pH 等)に敏感で不安定であるがゆえに、サブミクロンのタンパク質凝集体の分析・評価法は未だ確立されていない。

研究代表者は、タンパク質凝集体に高感度な前方光散乱に着目し、これまでに前方静的光散乱(F-SLS)計測によるタンパク質凝集・結晶化分析装置を開発し(引用文献 - )、結晶化前のタンパク質凝集化をリアルタイムで捉えることに初めて成功した(引用文献 , )。金属やプラスチック等微粒子の分散系と異なり、液中で形成されるタンパク質の凝集体は、溶媒分子と強い相互作用状態にあるため、凝集体が形成される溶液の微視的構造を含めた評価が欠かせない。前方光散乱には、特に凝集体の形成とそれに伴う不均一な溶液構造に関する情報が含まれる。均一分散の微粒子では光散乱像は一様であるが、凝集体形成では、溶液構造の変化を反映した特徴的な光散乱像を示す。例えば、結晶化前のタンパク質溶液では局所的な液-液相分離が生じ、その溶液構造が顕著に前方光散乱像に現れる。

しかしながら、凝集体形成の評価指標として上記開発の F-SLS 計測装置で得られる構造パラメーター(フラクタル次元)はマクロ的な平均値であるために、上記のような微細な溶液構造を直接反映した分析であるとは言い難い。さらに、F-SLS 計測の他に、凝集体の運動パラメーターの拡散係数を評価できる前方動的光散乱(F-DLS)計測も同時に行えれば、タンパク質の凝集化プロセスを詳細に分析することが可能となる。

### 2. 研究の目的

本研究は、市販の装置では分析が難しい、溶液中のサブミクロンスケールにおけるタンパク質凝集体形成をリアルタイムで分析できる基盤技術の開発を目標とし、タンパク質の凝集化プロセスを明らかにする。ここでは、低角度の静的及び動的な光散乱を同時に瞬時計測するシステムを開発し、添加剤等によるタンパク質の凝集化、及びそれに伴う溶液構造の変化を顕微鏡スケールで計測して、タンパク質凝集体の構造やサイズ等のダイナミクスを評価する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 開発分析装置の構成

開発の分析装置は、レーザー光の集光又は平行光を試料へ照射し、低角度( $\theta_s < 15^\circ$ )の前方光散乱(F-LS)をコリメートレンズで平行化して、平行化 F-LS を大面積光検出器へ垂直入射させ F-LS 画像を計測する。図 1 は集光入射タイプの F-DLS・SLS 同時計測のセットアップである。F-DLS・SLS の同時計測用に CMOS カメラ(550 万画素,  $16.6 \times 14 \text{ mm}^2$ )を使用した。光源に DPSS レーザ( $\lambda = 473 \text{ nm}$ , 25 mW, ビーム径約 1 mm)を用い、対物レンズ(例 $\times 20$ , NA0.4,  $f=10 \text{ mm}$ )で集光し、試料へスポットで照射する。F-LS の平行化には、球面レンズ又はシリンドリカルレンズ( $f=75 \text{ mm}$  又は  $100 \text{ mm}$ )を用いた。なお、開発分析装置の詳細については引用文献 を参照されたい。CMOS カメラ 1 フレーム当たり 10~20 ms の撮影時間で、50 又は 100 フレームレートで平行化 F-LS 像を動画撮影し、間隔的に(例えば 30 s ごとに)動画撮影した一群の F-LS 動画データ(150~300 枚)を PC に取り込み、F-LS 画像データを解析した。

#### (2) 光学系セットアップの調整

ピンホール及び回折格子を使用して、装置の各構成素子間の位置を調整し適正化した。試料の位置にピンホール(直径 10  $\mu\text{m}$  又は 25  $\mu\text{m}$ )を設置し、ピンホールへ平行光を照射して、コリメートレンズで平行化した干渉光リングを CMOS カメラで計測した。干渉光

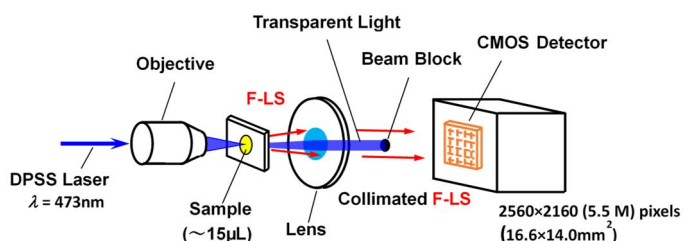


図 1 開発の F-DLS・SLS 同時計測装置(集光入射タイプ)

パターンの放射角度(CMOS センサ上の位置)が、理論計算値と一致するように各光学素子や光検出器の位置を微調整した。さらに、試料とコリメートレンズ間の距離  $L_1$ 、及びコリメートレンズと光検出器間の距離  $L_2$  を最適化するために、透過型の平板状回折格子(格子周期  $10\ \mu\text{m}$  又は  $20\ \mu\text{m}$ )を使用した。コリメートレンズで平行化した回折光を計測しながら上記距離を微調整して、回折光の放射角度の理論計算値との比較から、2%以下の精度で各光学素子の位置設定を確認した。

### (3) 散乱光画像の解析法

任意のタイミングで得た一群の F-LS 動画像から F-SLS と F-DLS の各成分を抽出し、F-SLS 解析では散乱光パターンから散乱体の密度と関係する構造パラメータのフラクタル次元  $D_f$  を、F-DLS 解析では時間相関関数から散乱体の質量とサイズに関する運動パラメータの拡散係数  $D_T$  を評価する。図 2 は撮影された平行化 F-LS 画像(疑似カラー表示)の一例である。

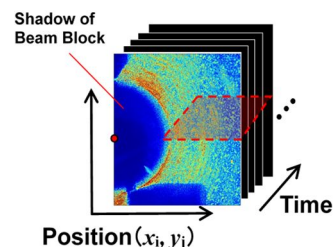


図 2 平行化 F-LS 動画像

集光入射の場合、入射角度と散乱角度  $\theta_s$  との関係が複雑であるため、正確な  $\theta_s$  を求めるには計算シミュレーションを駆使する必要があるが、平行光照射では、画像の光軸からの距離により  $\theta_s$  を容易に規定できるので、 $L_1$  を用いて CMOS 上の 2 次元ピクセル位置  $(x_i, y_j)$  [ここで、 $i = 1 \sim 2160, j = 1 \sim 2560$ ] を算出できる。 $\theta_s$  から散乱ベクトル  $q$  を求め、F-LS 動画像の各フレームにおける散乱光強度パターン  $I_s(q)$  を得る。F-SLS 解析では、 $I_s(q)$  の両対数プロット ( $\log I_s - \log q$ ) の一次関数フィッティングにより得た各フレームにおける傾き  $-\beta$  (べき数  $\beta$ 、ここで  $I_s(q) = I_s(0)q^{-\beta}$ ) を一群のフレーム内で平均化し、時間平均フラクタル  $D_f$  として評価する。

F-DLS 解析では、F-LS 動画像の時間変化、すなわち各散乱ベクトル  $q$  における  $I_s(q)$  の時間変動  $\Delta I_s(q)$  から、フーリエ変換解析による周波数パワースペクトル  $\tilde{I}_s(q, \omega)$  ( $\omega$ : 角周波数)、および時間自己相関関数  $G(q, \tau)$  を求め、 $G(q, \tau)$  から散乱体の運動パラメータの拡散係数  $D_T(q)$  を算出する。単一散乱体のように時間自己相関関数が簡単な指数型  $e^{-\alpha\tau}$  を示す場合は、 $\alpha$  の評価値から  $D_T(q)$  を見積ることができる ( $D_T = \alpha/2q^2$ )。すなわち、 $G(q, \tau)$  の緩和時間ゼロの切片とする 1 次関数フィッティングにより得た傾き  $-\alpha$  から、 $D_T(q)$  を求める。さらに、一群のフレーム内で  $D_T(q)$  の空間的(散乱角度)に平均化して、空間平均拡散係数  $D_T$  として評価する。

### (4) 分析試料の作成

開発分析装置の性能や操作性等を評価するために、テスト試料としてコロイド標準粒子(ポリスチレンラテックス粒子, PSL: NIST 規格サイズ 直径  $30 \sim 500\ \text{nm}$ 、シリカ粒子  $500\ \text{nm}$ )を使用した。標準粒子の分散試料は、純水に希釈して作成した ( $\sim 10^{-12}\ \text{mol/L}$ )。PSL 粒子の凝集化には、希釈した同分散液に NaCl 水溶液と適宜の比率で混合させた。凝集・結晶化のモデルタンパク質には、ニワトリ卵白リゾチーム (HEWL) を用いた。HEWL 凝集・結晶化溶液の作成については、引用文献<sup>1)</sup>を参照されたい。また、我々は、電解質によるタンパク質の凝集化を調査する上で、凝集化メカニズムが異なる比較サンプルとして、糖鎖リガンドによるレクチンタンパク質の架橋反応凝集化に着目した。その試料作成については、引用文献<sup>2)</sup>を参照されたい。

## 4. 研究成果

### (1) 開発分析装置の性能評価

F-SLS 分析・解析用のテスト試料に繊維状構造体をもつパラフィンシート(厚さ  $30\ \mu\text{m}$ )を使用し、その構造を評価した。異なる光学系における照射光タイプ(平行光、集光)と使用コリメートレンズ(球面レンズ、シリンドリカルレンズ)の組合せで得られたフラクタル次元  $D_f$  の評価例を表 1 にまとめた。 $D_f$  は、平行光照射とシリンドリカルレンズの組合せで予想値 ( $0.85 \sim 1.0$ ) に最も近い値を示し、この光学組合せで最適な評価値が得られることが分かった。円錐状ビームとなる集光照射の場合、様々な

表 1 フラクタル次元  $D_f$  の評価値

Incident Beam	Collimator Lens	
	Spherical <sup>*)</sup>	Cylindrical <sup>*)</sup>
Parallel	$0.81 \pm 0.02$	$0.88 \pm 0.01$
Focus	$0.61 \pm 0.02$	$0.76 \pm 0.02$

<sup>\*)</sup>  $f=100\ \text{mm}$  (Measurements at  $L_1=L_2=100\ \text{mm}$ ,  $L_0=10\ \text{mm}$ )

入射角で試料へ入射するために、各入射角に対する散乱光が重なり、 $D_f$  の評価値に影響が表れたと推定できる。散乱光の計算からもこの影響を確認した。また、表 1 から散乱光の平行化に球面レンズを使用した場合でも、散乱体の構造評価に影響を与えることが分かる。従って、集光照射の F-SLS 計測による散乱体の構造評価では、得られる評価値に対して補正(校正)が必要であり、当セットアップでは、散乱光の平行化に球面レンズよりも、一方向のみコリメート作用があるシリンドリカルレンズを使用するのが最適であることが分かった。

次に F-DLS 分析・解析用のテスト試料にコロイド標準粒子を用い、単一粒子分散系の拡散係数 $D_T$ を評価した。スポット状の集光照射では、低濃度の試料でも十分な光散乱強度が得られ、平行光照射による従来の開発分析装置(引用文献 , )に比べて約 100 倍以上も計測感度が向上し、低濃度の微量試料でも測定可能であった。また、前方光散乱計測で得られた時間相関関数 $G(\tau)$ の遅延時間 $\tau$ は、例えば 0.2 s 程度以上であり、市販の DLS 計測装置(例 $\tau < 1\text{ms}$ )に比べて非常に長いことが判明した。 $D_T$ は、 $G(\tau)$ の緩和時間ゼロ切片における傾き $\alpha$ ( $\alpha = 2q^2 D_T$ )から評価されるため、低角度の光散乱では $\alpha$ 値は小さくなり、光散乱計測で相関時間を長く設定できる。従って、低角度光散乱計測であるゆえに、低いフレームレート(例えば 50 fps)における動画撮影で DLS 分析が可能である。しかし、PSL の単一分散試料で得られた $D_T(q)$ は、その空間的(散乱角)ヒストグラムが単一ピークをもつガウス型分布であることを確認したが、 $D_T$ の平均値から算出した PSL 粒子サイズは 2 倍程度大きく見積もられ、粒径サイズの評価では校正が必要である。これは、低角度光散乱計測で得られる $G(\tau)$ の緩和時間が遅くなり、F-LS 画像の背景として映るサンプル液の流動の影響が重畳され易いことが原因であると推測される。

## (2) コロイド標準粒子の凝集化分析

開発分析装置で電解質塩による PSL 標準粒子の凝集化をリアルタイム分析した結果の一例を図 3 に示す。これは、試料温度  $20 \pm 0.2^\circ\text{C}$  で NaCl 添加直後からの PSL 粒子(平均直径 50 nm,  $8.6 \times 10^{-12}\text{M}$ )の凝集体の拡散係数  $D_T$ (空間平均値)の経時変化(図 3a)、及びフラクタル次元  $D_f$ (時間平均値)の経時変化(図 3b)である。塩濃度 1.0%(w/v)と 3.0%(w/v)の試料では  $D_T$ の経時変化は明確ではないが、塩濃度の小さい 0.5%(w/v)では約 20 分までの初期時間帯で  $D_T$ の減少が見られる。これは塩イオン作用による PSL 凝集体のサイズの成長を示している。一方、図 3b に示すように  $D_f$ は、いずれの塩濃度条件でも時間的に増加し、PSL 凝集体が密な構造体へ変化していることが分かる。塩イオン濃度が高いと、PSL は早期に、より密に凝集化することが分かる(1.0%と 3.0%(w/v))。図 3b に示すように F-SLS 解析で評価した  $D_f$

の経時変化は、塩濃度依存性がより大きく表れ、評価した時間平均フラクタル次元は、PSL の凝集化を高感度に捉えていることが分かる。これに比べて、F-DLS 解析で得られた拡散係数  $D_T$ の空間(散乱角)平均値の経時変化は塩濃度依存性が小さい。 $D_f$ の時間的ヒストグラムと  $D_T$ の空間的ヒストグラムの解析から、PSL 凝集体の  $D_f$  時間分布は、単一ピークのガウス関数型であるが、 $D_T$ の空間分布は塩添加直後にガウス関数型から崩れ始め、非対称となることが分かる(図 4)。従って、前方静的・動的散乱の計測解析が

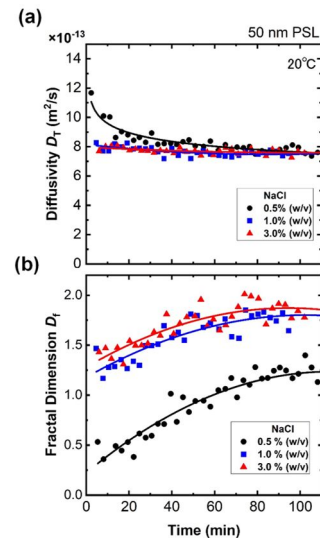


図 3 PSL 凝集体の  $D_T$ (空間平均)と  $D_f$ (時間平均)の経時変化

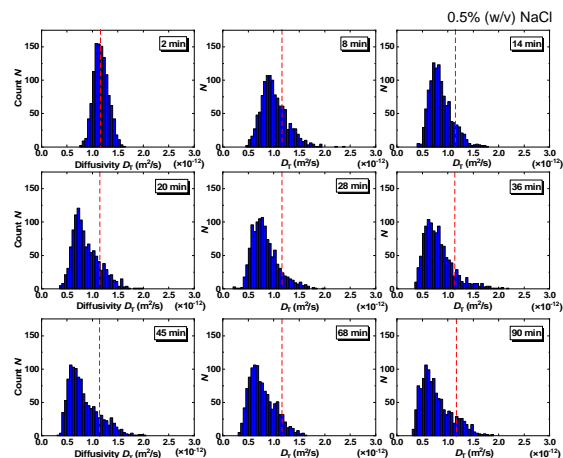


図 4 PSL 凝集体の  $D_T$  ヒストグラム

ら評価した、フラクタル次元の時間的平均値は、凝集化に対し良く反映した構造評価の指標となることは分かった。一方、拡散係数を凝集化の評価指標として用いる場合は、その空間分布を考慮した詳細な解析が必要であることが判明した。

### (3) タンパク質の凝集化分析

塩添加によるリゾチーム(HEWL)の結晶化前凝集化を開発分析装置(集光入射タイプ)でリアルタイム分析した。図5に示すように、結晶化に適する準安定領域の試料溶液(HEWL:30 mg/mL, 4%(w/v) NaCl)では、HEWL凝集体の拡散係数 $D_T$ (空間平均値)は、塩添加直後から減少し始め、時間経過でその変動(揺らぎ)も小さくなり、凝集体がサイズ増加を伴い成長する様子を捉えている(図5a)。一方、評価構造パラメータ $\beta$ (時間平均値)は、むしろ遅い時間(約60分後)に増加する傾向が見られ、HEWL凝集体の構造が密に変化している(図5b)。これは、塩添加直後に形成された小さなHEWL凝集体が成長し、ゆっくり疎から密な構造体に変化した。あるいは、電解質イオンの作用により液中に液-液相分離が生じ、HEWL濃度の高い小さなドロップレットが初期に多数形成され、その中でHEWL濃度がより高くなり、遅れて凝集化が進行したと解釈できる。しかし、凝集体構造の評価値は、従来の開発分析装置(平行入射タイプ、引用文献<sup>1)</sup>)で評価したフラクタル次元(1.6~1.8)に比べて極端に小さい。これは、上述のようにF-LS計測における集光照射による影響が原因である。

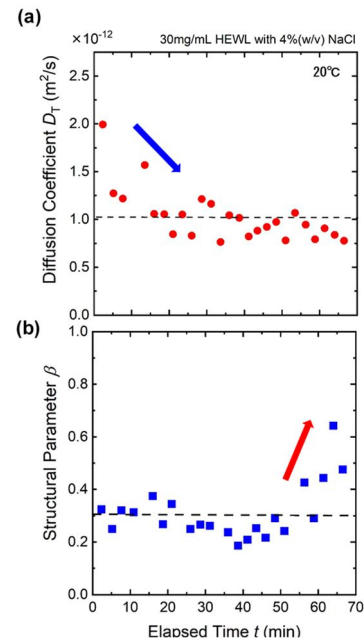


図5 HEWLの拡散係数と構造パラメータの経時変化

分析したリゾチームやポリスチレン粒子の電解質による凝集化を、タンパク質との結合セクターをもつ糖鎖リガンド分子によるレクチンタンパク質の架橋凝集化と比較した。F-SLS計測装置による分析結果では、レクチンの架橋反応凝集は、溶液中で均一的に生じた(引用文献<sup>2)</sup>)。これは、架橋反応凝集が熱運動による拡散よりも近接的な分子間結合作用が支配的であるためである(引用文献<sup>3)</sup>)。これに対して電解質イオンの作用で形成される凝集化の場合、拡散係数とフラクタル次元は変動(揺らぎ)が大きく、液中で不均一にサイズ・構造の分布をもつ凝集体が形成されていると推測できる。電解質イオンによるコロイド凝集化では、拡散が主な支配要因であり、局所的な相分離が生じて微細な液構造が形成されたと推定される。

本研究により、開発した前方静的・動的散乱光の同時計測装置が、タンパク質等のように液中で不均一に形成されサイズ・構造の分布をもつ凝集化をリアルタイムで高感度に分析できることが判明し、前方散乱光の動画像の解析に基づく本開発手法は、タンパク質等の凝集化プロセスを詳細に分析評価するための有力な分析ツールであると結論できる。

#### <引用文献>

- 若松,尾形,田中,光アライアンス,日本工業出版,29,2018,26-30.
- 若松,特許第6757964号,国立高等専門学校機構,2020.
- 若松 他,タンパク質の構造解析手法とIn silicoスクリーニングへの応用事例(第1章第5節 分担執筆),技術情報協会,2023,40-50.
- T.Wakamatsu, T. Onoda, M.Ogata, *Jpn. J. Appl. Phys.* **57**, 2018, 058003(1-3).
- 若松,植,尾形,特許第7343742号,国立高等専門学校機構,福島大学,2023.
- T.Wakamatsu, *Am.J. Anal. Chem.* **5**, 2014, 581-588.
- T.Wakamatsu, *Rev. Sci. Instrum.* **86**, 2015, 015112(1-8).
- M.Ogata, T. Onoda, and T. Wakamatsu, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **87**, 2023, 1036-1044.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Makoto Ogata, Takashi Onoda, and Takashi Wakamatsu	4. 巻 87
2. 論文標題 In situ characterization of the agglutination of lectins via cross-linking of carbohydrates by time-resolved measurement of forward static light scattering	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1036 ~ 1044
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/bbb/zbad082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 若松孝、尾形慎、植英規
2. 発表標題 静的・動的前方光散乱の画像計測によるリゾチーム凝集化分析
3. 学会等名 第23回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 若松孝、尾形慎、植英規
2. 発表標題 静的・動的低角光散乱の同時計測によるポリスチレンラテックスの電解質凝集の特性
3. 学会等名 第33回日本MRS年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 若松孝、尾形慎、植英規
2. 発表標題 タンパク質凝集に高感度な前方静的・動的散乱の同時計測技術の開発(II)
3. 学会等名 2022年第83回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 若松孝、尾形慎、植英規
2. 発表標題 タンパク質凝集に高感度な前方静的・動的光散乱の同時計測技術の開発
3. 学会等名 2022年第69回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 若松孝、尾形慎、植英規
2. 発表標題 前方静的・動的光散乱のリアルタイム計測によるリゾチーム凝集化分析
3. 学会等名 第16回バイオ化学関連シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾形慎、小野田崇司、若松孝
2. 発表標題 時間分解前方光散乱測定による糖鎖クラスター レクチン架橋凝集反応のその場分析
3. 学会等名 第16回東北糖鎖研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大川内健太、山田果歩、若松孝、車田颯人、植英規、田中大輔
2. 発表標題 動的エバネッセント光散乱による溶液中のタンパク質凝集体の評価
3. 学会等名 第33回日本MRS年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 車田颯人、田中大輔、尾形慎、植英規、若松孝
2. 発表標題 エバネッセント光散乱によるハンギングドロップ蒸気拡散液滴中のリゾチーム凝集化分析
3. 学会等名 2022年電気関係学会東北支部連合大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾形慎、小野田崇司、植英規、若松孝
2. 発表標題 時間分解前方光散乱測定による糖鎖 レクチン架橋凝集のダイナミクス
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 若松孝、小野田崇司、植英規、尾形慎
2. 発表標題 前方光散乱瞬時計測による糖鎖 レクチン架橋反応凝集のダイナミック評価
3. 学会等名 2021年第68回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大川内健太、車田颯人、若松孝、植英規、田中大輔
2. 発表標題 動的エバネッセント光散乱による結晶化前のタンパク質凝集体の評価
3. 学会等名 2024年第71回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2024年



〔図書〕 計1件

1. 著者名 若松 孝 (分担)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 530
3. 書名 タンパク質の構造解析手法とIn silico スクリーニングへの応用事例 (第1章第5節 タンパク質凝集体の解析法と結晶化分析)	

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 特許権	発明者 若松孝、植英規、尾形慎	権利者 国立高等専門学校機構、福島大学
産業財産権の種類、番号 特許、7343742	取得年 2023年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	植 英規  (UE Hidenori)  (90586851)	福島工業高等専門学校・電気電子システム工学科・教授   (51601)	
研究分担者	尾形 慎  (OGATA Makoto)  (10532666)	福島大学・食農学類・准教授   (11601)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	田中 大輔  (TANAKA Daisuke)  (20643729)	大分工業高等専門学校・電気電子工学科・准教授   (57501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------