

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 4 月 20 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21500457

研究課題名（和文）診断／制御と分取デバイスとしての細胞マイクロアレイの開発

研究課題名（英文）Development of cell microarray as devices for cell diagnosis, regulation of cell function, and recovery of target cells

研究代表者

白石 浩平 (SHIRAIISHI KOHEI)

近畿大学・工学部・教授

研究者番号：10196602

研究成果の概要（和文）：サイズやパターンを制御したガラススポットに、温度で細胞接着・剥離を制御する素材と周囲を細胞非接着素材としたマイクロアレイを調製した。接着細胞の90%以上が温度刺激で回収できた。また、スポット上に抗体結合部位を修飾し、細胞特異的な抗体で目的細胞を選択固定化し、開発装置を用いて高速診断を可能とした。0.001%のヒト人工染色体(HAC)含微小核細胞の受容細胞への融合を、最大0.1%まで効率化した。細胞マイクロアレイと装置で、診断／制御と分取用デバイスとして実用化可能であることを示した。

研究成果の概要（英文）：

Four types of microarrays(MA: well sizes=20,30,40,50 μ m; pitch=100 μ m) spotted with poly(N-isopropylacrylamide;PNiPAAm) or biocompatible MPC polymers having anti-body as a specific binding for target cells were prepared by surface-initiated polymerization of NiPAAm or MPC / N-succinimidylacrylate on the glass surface of MA. Poly(MPC) was coated around spots on the MAs. Selective cell attachment was achieved by using HL60 cells or induced human pluripotent stem(iPS) cells as a typical cell on the MAs after being reacted with anti-body as a specific binding site for targeting cells. High-throughput diagnosis of attached cells on the MA was also succeeded by using developed equipments. Over 90% attached HeLa cells on the PNiPAAm coated spots of the MA were efficiently exfoliated by decreasing cell cultured temp. from 37 $^{\circ}$ C to 25 $^{\circ}$ C. Microcell(MC)s containing Human Artificial Chromosome(HAC) and U937 as white blood cell were higher fused on the MCs immobilized MA with a maximum of 0.1% than that of suspension cell fusion(0.001%). The MAs were of useful and for practical uses as devices for cell diagnosis, regulation of cell function, and recovery of target cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,100,000	630,000	2,730,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：検査・診断システム，細胞・組織工学，生体適合性材料

1. 研究開始当初の背景

再生医療工学は、研究のみならず産業面における将来的に多大発展が見込まれ、国際競争力の高い産業となることが期待されている。目的細胞の **high-throughput** 診断と安全性の高い非侵襲的な回収および、細胞内への安全な遺伝子導入等の技術が求められている。しかし、低コスト、省スペースでかつ再現性の高い素材、システムおよび装置開発に至っていないのが現状であった。従来までは抗体特異性、増殖性等の類性質で集めた細胞集団としての細胞研究が行われていると考えられるが、個細胞での研究例は細胞の配列化やスポットティングに高価な装置が必要なこと、分取が困難といった点からあまり行われていない。細胞集団でなく、性質が一定の細胞を配列することによって、細胞工学的研究と診断技術に大きく寄与すると考えた。我々は、細胞膜表面のリン脂質の双性イオン構造に類似した生体適合性材料の開発過程で、体内に類似する環境を人工材料で構築する研究を進め、安価で大量合成可能な人工分子の開発に成功していた。また、生体適合性材料を温度によって可溶-不溶が可逆的に変化する温度応答性ポリマーに転換できることを見出していた。また、一度に大量の診断情報をもたらす **high-throughput** 解析を可能にするツールとして注目される細胞アレイと素材を組み合わせ、アレイ上の播種による簡易操作による個細胞の固定化→診断→温度応答性素材による非侵襲的な回収あるいは固定化後に細胞への遺伝子導入の効率を飛躍的に高めるツールを関連の装置開発と並行して行う提案をした。

2. 研究の目的

本研究では、細胞レベルの大きさのスポットを基板上に形成させ、個細胞の固定化と細胞を特定して分取するデバイスの開発を目的とする。これは、固定化した細胞毎に細胞機能に関して一度に大量の情報を入手可能な **high-throughput** 解析も可能とする蛍光検出・解析装置を開発する。また、細胞サイズのスポットには細胞の接着-剥離機能のみならず細胞膜表層に特異的に発現しているタンパク質等の特定も可能とする抗体を変性することなく固定化し、細胞選択的な固定化を目的とした。さらに、アレイを用いる細胞内への遺伝子導入の効率化と細胞識別機能等を活用して特定した細胞を非侵襲的に回収することを目的とした。

3. 研究の方法

3-1. 温度応答性ポリマー相と細胞非接着相をもつ細胞マイクロアレイの調製：図1に作製の一例を示す。(i)セルサイズに(数 μm :口

径およびパターンは可変)マスキングして金コーティングした素材表面をプラズマ洗浄あるいは過酸化水素/硫酸等で表面を酸化分解して洗浄する。(ii)3-aminopropyltrimethoxysilane処理後直ちに、4,4'-azobiscyanopentanoyl chloride (V501-Cl)を反応後にN-isopropylacrylamide (NiPAAm)を表面開始重合した。(iii)金表面に溶液エッチングした後、poly[2-(methacryloyloxy)ethyl phosphocholine(MPC)-co-butyl methacrylate(BMA)](MPC/BMA=3:7)を溶媒コーティングしたアレイを調製した(g-array/1)。これらポリマーの固定化は走査型プローブ顕微鏡(SPM)あるいは顕微鏡IRイメージング等で確認した。

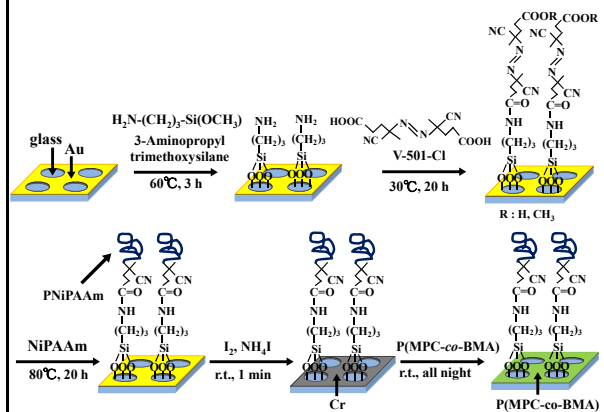


図1 マイクロアレイ表面への機能性ポリマーの固定化の一例

3-2. 細胞の接着・増殖試験：細胞の接着・増殖試験には HeLa 細胞, HL60 (理研セルバンク), ヒト iPS 細胞, U937 細胞等 (鳥取大学医学部所有) を用いた。典型例として HeLa 細胞では、クリーンベンチ内で 70%エタノールに浸漬した後、1h, UV 照射下で乾燥して滅菌処理した。表面をリン酸緩衝液 (PBS) にて洗浄した。細胞接着のためのコーゲン塗布して、MEM 培地浮遊 HeLa 細胞 10^5 cells/mL を播種して、37°C, 所定時間 5%CO₂ インキュベータ中で培養した。表面を PBS で 3 回洗浄し、倒立型ルーチン顕微鏡で観察し、Hechst33342 で核染色し、蛍光像を顕微鏡デジタルカメラで撮影した。

3-3. 細胞の温度刺激剥離：細胞の温度刺激による剥離は、上記同様に培養後、20°C に予冷しておいた MEM 培地を加えて、20°C のサーモプレート上で 2 h 静置した。上澄みを除いたのち、接着細胞を同様に核染色して未剥離細胞を蛍光顕微鏡で観察・計測した。

3-4. 抗体固定化 PMPC 素材のガラススポットへの化学修飾：3-1. 項と同様な方法で、アレイ表面を洗浄し、V501-Cl を修飾

した後、MPC と N-succinimidylacrylate (NAS)を共重合した。

3-5. 細胞のマイクロアレイ上への選択的な固定化

抗体の Fc 部位を反応して配向固定化するため、所定量の ProteinA/G を poly(MPC-co-NAS)がガラススポットに固定化したアレイ (g-array/2)と反応後直ちに例えばヒト iPS 特異的な SSEA-4 抗体を反応した。

GFP 発現遺伝子によって緑色蛍光標識された iPS 細胞を 3-2 項と同様に 10^5 cells/mL 播種して、約 2hr インキュベータ中、静置後に培地で洗浄して、蛍光顕微鏡観察を行った。競争接着の場合は、iPS 細胞と同数の iPS 用フィーダー細胞を混合播種後に同様な操作を行った。

3-6. 固定化細胞の診断と不用細胞の除去
細胞マイクロアレイに細胞を固定化後に、新規に開発したマイクロナノステップ XY スライダ上マイクロアレイを装着して、PC 制御して、ms オーダーで高速移動を行いながら、細胞からの蛍光を CCD カメラあるいは光電子増倍管で検出する顕微鏡装置でデータを PC に取り込んだ。入手データによって蛍光の有無によって不用と判断された細胞には細胞アレイのスポット毎に高出力の固体レーザーを照射して細胞除去操作を行った。

3-7. 細胞マイクロアレイを用いたヒト人工染色体(HAC)含有微小核細胞(MC)の融合：
抗体固定化用の PMPC 素材をもつ g-array/2 に MC 膜表面の抗原特異的な抗体を固定化したのち、所定量の MC を播種した。MC には同時に実験に用いた受容細胞(U937)との融合タンパク質も表面発現させた。U937 を 10^5 cell/mL の濃度で MC を固定化したマイクロアレイ上に播種した。所定時間 37°C、5%の CO₂ インキュベータ中で培養後に、HAC 中予め導入された緑色蛍光タンパク質(GFP)発現遺伝子の発現を経時的に観察した。なお、HAC 中には、抗生物質耐性遺伝子も組み込み、培養 3 日目からは、抗生物質を培地中に投与して、MC 融合 U937 細胞のみを選択培養を行いながら経時観察を続けた。

4. 研究成果

以下に代表的な成果の説明に関連の図および写真を付して示す。

①ガラススポットを金属に $\pm 0.1\mu\text{m}$ 程度の精度の一定間隔とサイズでマイクロアレイを作製する技術を確立した。②ガラス特異的なアルコキシランを用いる化学反応を用いて、表面開始重合法によって、細胞接着-剥離を可逆的に制御可能な温度応答性ポリマーあるいは抗体結合部位を含み抗体・接着細胞へのダメージの少ない生体適合性人工リン脂質ポリマーにからなる個細胞を固定化

する機能性ポリマー素材を修飾した。さらにガラススポット周り金素材を溶剤エッチングしたのち細胞非接着層となるリン脂質ポリマーを簡便な溶剤コーティング法にて作製する方法を開発した。

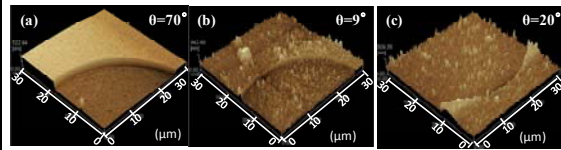


図 2 (a) 未修飾アレイ, (b) PMPC 修飾アレイ, Poly(MPC-co-NAS) 修飾アレイの SPM 像

図 2 に例として、PMPC と Poly(MPC-co-NAS)修飾したアレイの SPM 像から、水に対する接触角が低下、さらに表面にポリマー由来する凹凸が観察され固定化を確認した。③温度応答性素材を固定化したガラススポットに細胞を接着し、温度刺激による非侵襲的な細胞剥離を達成した (図 3)。

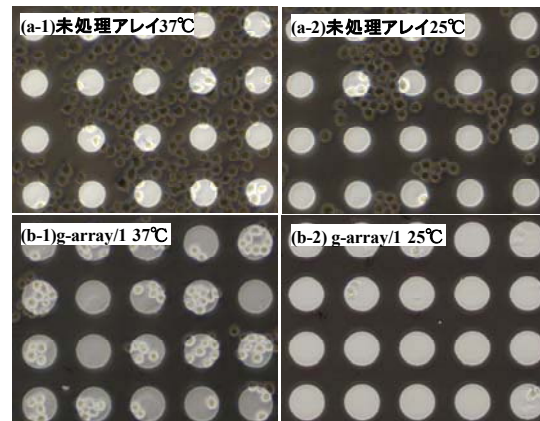


図 3 未修飾アレイと g-array/1 への HeLa 細胞の接着と温度刺激剥離の顕微鏡像 $\times 100$

未修飾アレイは HeLa 細胞はスポット上に集積しないが、ガラススポット周りに PMPC を修飾すると集積した。さらに集積した HeLa 細胞は培養温度を 25°C に低下する温度刺激によって、約 90%の接着細胞が剥離した。

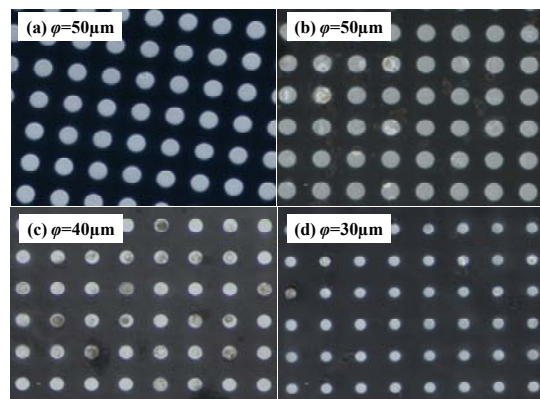


図 4 未修飾アレイと g-array/2 への iPS 細胞の接着 (a) 未処理 (ϕ :スポット径 $50\mu\text{m}$, (b) g-array/2 (ϕ : $50\mu\text{m}$), (c) g-array/2

($\phi:40\mu\text{m}$), (d)g-array/2 ($\phi:20\mu\text{m}$) $\times 100$ さらには例えば, iPS 細胞特異的な抗体を固定化して iPS 細胞をフィーダー細胞等から選択的に取得する素材技術を確認した (図 4). array/2 に iPS 細胞特異的な SSEA-4 抗体を固定化後に, iPS 細胞を播種して, 非接着細胞を除去すると未処理のレイには見られないスポット上に iPS 細胞の集積が確認された. このとき, スポット上の集積細胞数はレイのスポット径で制御可能された.

④固定化細胞からの標識物質からの蛍光に基づいて診断し, 不用細胞のパルスレーザー照射による除去を診断⇒除去を数万個の処理を数時間に行うことのできる PC 制御スライダーと蛍光検出 CCD とレーザー照射装置の基本構成からなる回収自動化装置を作製した(図 5).

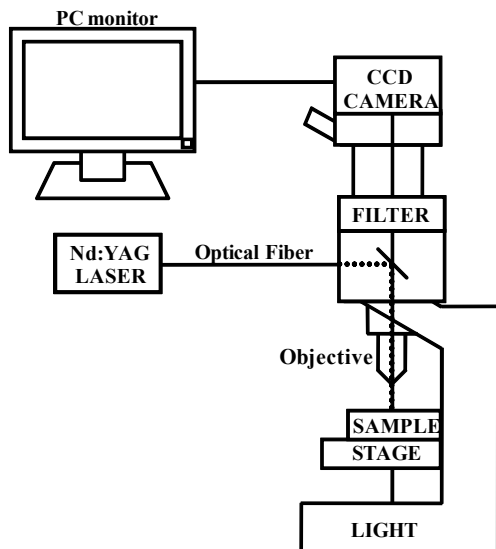
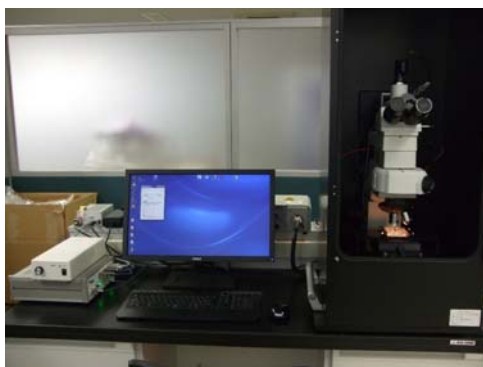


図 5 細胞診断/細胞回収用の装置の外観写真とブロック図

⑤細胞マイクロアレイに抗体固定化素材とヒト人工染色体(HAC)を含む微小核細胞を固定化・集積する技術を開発し, 微小核細胞表面に作出した受容細胞との融合あるいは結合タンパク質の機能と重畳させることにより, HAC を含む微小核細胞の融合効率を最大 0.1%程度までに飛躍的に向上させること

に成功した.

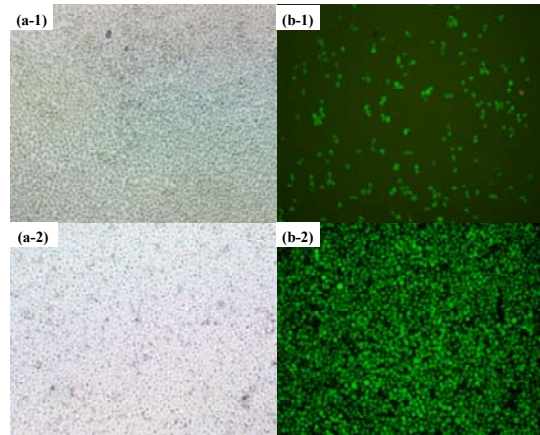


図 6 g-array/2 上融合 U937/MC の培養後の顕微鏡像: HAC 含有 MC (1×10^6 cell/well: 融合時)、(a-1, b-1) 培養 14 日後、(a-2, b-2) 培養 33 日後、(a) 位相差像、(b) 蛍光像 ($\times 100$)

安全な細胞作製のため HAC 技術は再生医療工学の発展に不可欠な多くの長所をもつが, MC と受容細胞との融合効率が低い問題点がある. g-array/2 に MC を集積させ, 受容細胞融合させて, 抗生物質投与下で選択培養し, 経時観察した結果を図 6 に示す. 初期の融合効率が高く, 約 30 日後には, ほぼ 100%で HAC が導入された細胞のみを得ることが可能となった.

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 7 件)

1) 白石浩平, 脇坂真伍, 里崎順二, 杉山一男; L-リジン骨格を含むポリ (メタ) アクリルアミドの調製と線溶活性への影響, 高分子論文集, 査読有, **69(1)**, 39-46(2012).

2) K. Sugiyama, N. Tanigawa, K. Shiraishi; Blood Compatibility of Amphiphilic Poly(N- α -acrylamide-L-lysine-b-dimethylsiloxane) Block Copolymers, J. Biomaterials and Naobiotech., 査読有, **2**, 337-346(2011).

3) R. Hamawaki, T. Ishihara, A. Tominaga, K. Shiraishi, K. Sugiyama, Y. Nitta, T. Nakatani, K. Okamoto; Grafting Biocompatible Polymers on DLC Thin Films by Plasma Irradiation-Post Polymerization Technique for Application of Biomedical Devices and Cell Microarrays, 査読有, J. Photopolym. Sci., Tech., **24(4)**, 447-452(2011).

4) 杉山一男, 中村豪希, 白石浩平, 久永直克; 防汚フィルム用含フッ素ポリマーナノ粒子

の調製とフィルムの作製, 近畿大学次世代基盤技術研究報告, 査読無, **2**, 37-44(2011).

5) C.Ishida, S.Ueshima, N.Nagai, N.Kawao, K.Okada, H.Yongzhong, K.Shiraishi, O.Matsuo; Enhancement of Fibrinolytic Activity in Vascular Endothelial Cells by Heterologous Expression of Adenine Nucleotide Translocase-1, Blood Coagul. Fibrinolysis, 査読有, **21(3)**, 272-278(2010).

6) 白石浩平, 山田康枝, 杉山一男, 米 保紀, 小林良太, 岡本圭司, 中谷達行; 温度応答性高分子を表面にもつ細胞アレイの調製, 近畿大学工業技術研究所研究報告書, 査読無, **9**, 15-19(2009).

7) 白石浩平, 杉山一男, 濱脇亮次, 山崎啓太, 岡本圭司, 中谷達行; 反応性炭素質薄膜でコーティングしたアルミニウムへのプラズマ処理—後重合による生体適合性ポリマーの化学修飾と抗血栓性の評価; 近畿大学工業技術研究所研究報告書, 査読無, **9**, 7-13(2009).

[学会発表] (計 14 件)

1) 今城明典, 富永明裕, 山田康枝, 白石浩平, 杉山一男, 河津博文, 中谷達行, 岡本圭司, 新田祐樹; ProteinA/G担持MPCポリマーを表面修飾したマイクロアレイの調製と選択的細胞接着性の評価, 第 61 回高分子学会年次大会, 2012/5/29, パシフィコ横浜(横浜), 高分子学会予稿集, **61(1)**, (2012), 発表予定.

2) 伊藤大時, 朝井麻奈人, 石原達也, 今城明典, 山田康枝, 白石浩平, 杉山一男, 河津博文, 中谷達行, 岡本圭司, 新田祐樹; 細胞診断と回収を目的としたUCSTあるいはLCST系温度応答性ポリマーを表面修飾した基板の調製と細胞の接着とはく離, 第 61 回高分子学会年次大会, 2012/5/29, パシフィコ横浜(横浜), 高分子学会予稿集, **61(1)**, (2012), 発表予定.

3) 今城明典, 白石浩平, 杉山一男, 山田康枝, 河津博文, 中谷達行, 岡本圭司, 新田祐樹; 細胞診断と細胞回収のための温度応答性ポリマー固定化マイクロアレイの調製, 第 60 回高分子討論会, 2011/9/30, 岡山大学(岡山), 高分子学会予稿集, **60(2)**, 5030(2011).

4) 富永明裕, 今城明典, 山田康枝, 白石浩平, 杉山一男; 抗体担持MPCポリマーを表面修飾した基材の調製と選択的細胞接着性の評価, 第 60 回高分子討論会, 2011/9/29, 岡山大学(岡山), 高分子学会予稿集, **60(2)**, 4880(2011).

5) 石原達也, 小林良太, 朝井麻奈人, 山田康枝, 白石浩平, 杉山一男, 河津博文, 中谷達行, 岡本圭司; 細胞マイクロアレイへの可視光レーザー照射による細胞診断と目的外細胞の除去システムの開発, 第 60 回高分子討論会, 2011/9/29, 岡山大学(岡山), 高分子学

会予稿集, **60(2)**, 4879(2011).

6) 石原達也, 小林良太, 朝井麻奈人, 山田康枝, 白石浩平, 杉山一男, 河津博文, 中谷達行, 岡本圭司; 可視光レーザーによる細胞診断/回収用基材としてのMPCと温度応答性ポリマーを修飾した細胞マイクロアレイの調製, 第 60 回高分子学会年次大会, 2011/5/25, 大阪国際会議場(大阪), 高分子学会予稿集, **60(1)**, 1925(2011).

7) 富永明裕, 今城明典, 山崎啓太, 山田康枝, 白石浩平, 杉山一男; 抗体結合MPCポリマーを表面修飾した基材の調製と細胞の選択的接着性の評価, 第 60 回高分子学会年次大会, 2011/5/25, 大阪国際会議場(大阪), 高分子学会予稿集, **60(1)**, 1913(2011).

8) 富永明裕, 石原達也, 今城明典, 小林良太, 山田康枝, 白石浩平, 杉山一男, 中谷達行, 岡本圭司; 細胞セパレータ用アレイに用いる抗体結合部位をもつMPCポリマーの調製と基材への固定化, 第 59 回高分子学会討論会, 2010/9/15, 北海道大学(北海道), 高分子学会予稿集, **59(2)**, 4828(2010).

9) 小林良太, 山田康枝, 白石浩平, 杉山一男, 中谷達行, 岡本圭司; 細胞マイクロアレイ基板としてのPNiPAAmおよびPMPC共存表面の調製と細胞の温度刺激剥離, 第 59 回高分子学会年次大会, 2010/5/27, パシフィコ横浜(横浜), 高分子学会予稿集, **59(1)**, 1933(2010).

10) 白石浩平, 米 保紀, 小林良太, 山田康枝, 杉山一男, 岡本圭司, 中谷達行; 温度応答性高分子を表面にもつ細胞アレイの調製と細胞接着, 剥離挙動, 日本化学会第 90 回春季年会 2010/3/28, 近畿大学(大阪), 日本化学会第 90 回春季年会講演予稿集, 3PB-97(2010).

11) 米 保紀, 小林良太, 山田康枝, 白石浩平, 杉山一男, 中谷達行, 岡本圭司; 個細胞の固定化と温度刺激剥離性能を示すマイクロアレイの調製, 第 58 回高分子討論会, 2009/9/16, 熊本大学(熊本), 第 58 回高分子学会予稿集, **58(2)**, 4864 (2009).

12) 濱脇亮次, 山崎啓太, 白石浩平, 杉山一男, 中谷達行, 岡本圭司, 新田祐樹; 官能基含有DLC被覆コーティング表面へのArプラズマ処理—ポストグラフト重合またはCOOHあるいはNH₂末端ポリマーの縮合による生体親和性ポリマーの表面修飾とキャラクターゼーション, 第 58 回高分子討論会, 2009/9/16, 熊本大学(熊本), 高分子学会予稿集, **58(2)**, 4863(2009).

13) 米 保紀, 小林良太, 山田康枝, 白石浩平, 杉山一男, 中谷達行, 岡本圭司; 温度応答性 poly(HPMA-co-MMA) ドメインおよび細胞非接着性相としてのPMPCドメインをもつ細胞マイクロアレイの調製と細胞接着および温度刺激剥離挙動, 第 58 回高分子学会年

次大会, 2009/5/27,神戸国際会議場(神戸),
第58回高分子学会予稿集, 58(1), 1827
(2009).

14)濱脇亮次,山崎啓太,白石浩平,杉山一男,
中谷達行,岡本圭司,新田祐樹;Arプラズマ
処理/ポストグラフト重合またはカルボキ
シル基末端ポリマーとの縮合による窒素含
有DLC被覆アルミニウムへの生体親和性ポ
リマーの表面修飾とキャラクターゼーショ
ン, 第58回高分子学会年次大会, 2009/5/27,
神戸国際会議場(神戸), 高分子学会予稿集,
58(1), 1826(2009).

[産業財産権]

○出願状況(計3件)

1)名称:細胞の剥離・回収,及び細胞自動分
取方法

発明者:白石浩平,杉山一男,山田康枝,河
済博文,松尾理,中谷達行,岡本圭司,新
田祐樹,永島正嗣,崔源煥

権利者:学校法人近畿大学,トーヨーエイテ
ック(株),エステック(株)

種類:特許

番号:特願2011-029826

出願年月日:平成23年2月15日

国内外の別:国内

2)名称:セルアレイソータ,その製造法及び
細胞ソータ

発明者:白石浩平,杉山一男,山田康枝,河
済博文,中谷達行,岡本圭司,新田祐樹

権利者:学校法人近畿大学,トーヨーエイテ
ック(株)

種類:特許

番号:特願2011-017111

出願年月日:平成23年1月28日

国内外の別:国内

3)名称:セルアレイソータ,その製造法及び
それを用いた細胞ソータ

発明者:白石浩平,杉山一男,岡本圭司,中
谷達行

権利者:学校法人近畿大学,トーヨーエイテ
ック(株)

種類:特許

番号:特願2009-258245

出願年月日:平成21年11月11日

国内外の別:国内

○取得状況(計1件)

名称:セルアレイソータ,その製造方法及び
それを用いた細胞ソータ

発明者:中谷達行,岡本圭司,門脇智春,佐々
木功典,古屋智子,白石浩平,杉山一男

権利者:トーヨーエイテック(株),国立大学法
人山口大学,学校法人近畿大学

種類:特許

番号:特許第4838594号

取得年月日:平成23年10月7日

国内外の別:国内

[その他]

1)第10回国際バイオEXPO 出展(主催:リ
ードエグジビションジャパン(株))

日時:平成23年6月29日(水)10:00~18:00

6月30日(木)10:00~18:00

6月31日(金)10:00~17:00

場所:国際会議場(東京ビッグサイト)西展
示棟 小間番号10-15

2)プレス発表

①中国新聞・平成23年6月22日・朝刊26面(社
会)

②日本経済新聞・平成23年6月22日・朝刊35
面(広島経済)

③読売新聞・平成23年6月22日・朝刊31面(地
域)

④電気新聞・平成23年6月23日・朝刊9面(電
力・地域)

⑤日経産業新聞・平成23年6月23日・朝刊12
面(医療バイオ)

⑥日刊工業新聞・平成23年6月24日・朝刊
27面(大学・産学連携)

⑦広島テレビ・平成23年6月21日・16:00台
報道

3)経済産業省平成22年度地域イノベーション
創出研究開発事業(地域資源活用型)「安心安
全な再生医療を実現する細胞回収自動化シス
テムの開発」採択(22U6001),研究・開発期
間(平成22年度~平成23年度)プロジェクト
資金総額(43,000千円)

4)近畿大学21世紀研究開発奨励金(共同研
究助成金)「細胞セパレータおよび細胞機能
の診断用細胞マイクロアレイの開発」採択
(KD06),研究・開発期間(平成21年度~
平成22年度)資金総額(2,560千円)

6. 研究組織

(1)研究代表者

白石浩平(SHIRAISHI KOHEI)

近畿大学・工学部・教授

研究者番号:10196602

(2)研究分担者

山田康枝(YAMADA YASUE)

近畿大学・工学部・教授

研究者番号:00166737

(3)連携研究者

細谷浩史(HOSOYA HIROSHI)

広島大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号:90183102