

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2010～2014

課題番号：22225003

研究課題名(和文) 極微量小分子RNAを網羅的に解析する次世代型核酸アレイチップの開発

研究課題名(英文) Development of Micro Arrays for Analyzing Small RNAs

研究代表者

寺前 紀夫(Teramae, Norio)

東北大学・理学(系)研究科(研究院)・名誉教授

研究者番号：70114569

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 166,400,000円

研究成果の概要(和文)：小分子RNA解析を指向したリガンド開発に関しては、RNAまたはDNA/RNA二重鎖中の脱塩基部位(AP site)対面塩基(全4種類)を識別しうるリガンド構造の同定およびlight-up蛍光応答型コンジュゲートの開発に成功した。一方で、小分子RNA解析場となるナノ細孔内の特異的な特性を明らかにし、細孔内への物質移動および動態を解析しうる光導波路法を開発した。さらに、ナノ細孔内過冷却環境下でのAP site含有核酸/リガンド相互作用を用いることで、数10amol程度の標的核酸検出および一塩基識別しうる可能性を見出した。

研究成果の概要(英文)：This work aimed to develop new strategy of small RNA analysis based on the RNA-binding fluorescent ligands in confined nanopores. Toward this end, we focused on the design of fluorescent abasic site (AP site)-binding ligands (APLs) in RNA or DNA/RNA duplexes. We successfully found useful G, C, A, or U-discriminating candidates targeting the duplexes. Moreover, new class of light-up fluorescent ligands was developed based on the conjugation of APLs with cyanine dyes. On the other hand, we revealed several unique features of confined spaces inside the silica and alumina nanopores. Especially, exothermic reactions such as cyclodextrin inclusion and DNA hybridization were found to be accelerated inside the nanopores under supercooled condition. Finally, we found possible applications to detect dozens of attomole nucleic acids and analyze their sequences with single nucleotide resolution by the binding of APL-cyanine dye conjugates inside the confined nanopores under supercooled conditions.

研究分野：分析化学

キーワード：化学センサー バイオセンサー 蛍光性リガンド 核酸 ナノ細孔 過冷却 小分子RNA

### 1. 研究開始当初の背景

ポストゲノム研究における重要な課題の一つが、細胞内に存在する多種多様な RNA 機能の理解である。中でも、1998 年における RNAi の発見以来、細胞増殖や死亡など様々な生命現象における小分子 RNA (20~30 塩基長) の役割に注目が集まり、小分子 RNA の同定と機能解明が世界的に展開されるようになった。これは、小分子 RNA 機能の理解が新しい生命現象の発見のみならず、テーラード医療を指向した次世代医療、創薬を促進するためである。高速 DNA シーケンス法や DNA チップ、リアルタイム PCR などゲノム研究を支える DNA 計測技術の多くは、PCR 産物である DNA 試料が要求される。一方、小分子 RNA を単純に PCR 増幅することは、その短鎖さのゆえに不可能であり、PCR 産物を基本とする従来の DNA 検出技術を単純に応用しても、極微量の小分子 RNA をそのまま検出することはできない。また、RNA を鋳型として相補的 DNA へ逆転写 (RT) する RT-PCR 増幅は小分子 RNA に適用可能ではあるが、条件設定の困難さから必ずしも全ての小分子 RNA 計測に用いることができないのが現状である。

### 2. 研究の目的

本研究では、小分子 RNA と特異的に結合する蛍光性リガンドとその結合反応を高感度かつ効率的に検出する方法論を開発し、それらを組み合わせることで小分子 RNA 分析ならびに機能解析に適した新たな計測系を開拓する。具体的には、脱塩基部位を有する DNA (AP-DNA) と標的 RNA との二重鎖中の脱塩基部位に対して塩基選択的に結合する蛍光性リガンドを新規合成し、ナノ細孔内における AP-DNA/RNA 二重鎖と蛍光性リガンドとの強力な結合反応を実現することで、アトモル (amol) レベルの小分子 RNA 検出を達成する。最終的には、ナノ細孔集積基板を用いたアレイチップを開発することで、多種多様な極微量小分子 RNA の発現量を網羅的に解析する方法の確立を目標とする。

### 3. 研究の方法

[1] 核酸塩基を認識する蛍光性リガンドの開発 小分子 RNA に特異的に結合する蛍光性リガンドの設計・合成と機能評価を行う。また、RNA 二重鎖中に構築した脱塩基部位 (AP site) へのリガンド結合による塩基配列の高選択的識別を目指し、これを用いた高性能アレイチップ開発へと展開する。

[2] ナノ細孔内の特異環境解明 ナノ細孔内過冷却水の物性評価、および細孔内過冷却環境における錯形成や二重らせん構造形成に関する評価を行った。

[3] ナノ細孔内における核酸塩基認識とアレイチップの開発 ナノ細孔が集積したナノポーラス膜を作製し、ナノポーラス膜を用いた蛍光及び光導波路検出によるハイスループットな核酸検出法の検討を行い、アレイチップ化による小分子 RNA の網羅的解析への展開を目指した。

### 4. 研究成果

[1] 核酸塩基を認識する蛍光性リガンドの開発 一般に、既存の核酸検出試薬の多くは DNA 二重鎖選択的であり、RNA 二重鎖に対する結合選択性や高親和力の発現は容易ではない。本研究では AP site 含有 DNA プロブあるいは RNA プロブをハイブリダイゼーションプロブとして活用し、形成した二重鎖中の AP site に強力に結合する蛍光性リガンドを開発することで、小分子 RNA の高感度検出を目指した。

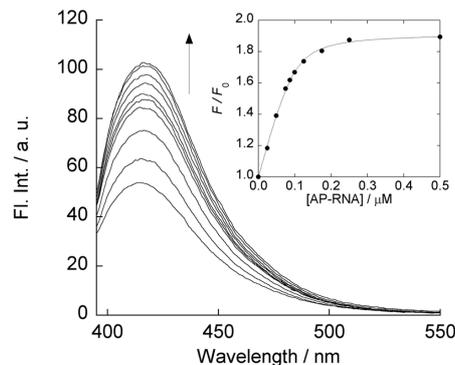
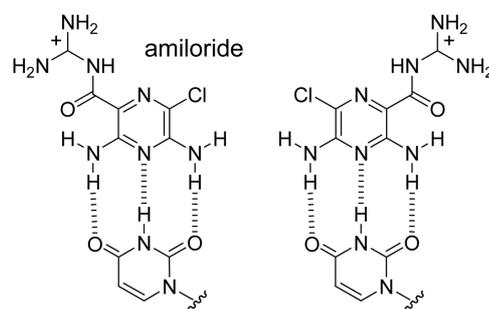


図1. アミロライドによる AP site 対面ウラシル塩基認識 (上) と AP-RNA との結合に伴う蛍光応答

まず、当研究グループで見出してきた蛍光性の DNA 二重鎖中 AP site に結合する蛍光性リガンド群を化合物ライブラリーとして活用し、これらの RNA 検出機能を網羅的に評価 (スクリーニング) した。その結果、ジアミノピラジン誘導体 (アミロライド) が RNA 二重鎖中の AP site (対面塩基: ウラシル) に強力に結合し、小分子 RNA 検出リガンドとして有用であることを見出した (図1) [Angew. Chem. Int. Ed., 2012]。AP site ハイブリダイゼーションプロブとしては、RNA プロブ (AP-RNA) の利用が効果的で、RNA 二重鎖に対する解離定数は 9.5 nM (20°C, pH 7.0, I = 0.11 M) に達した。興味深いことに、この解

離定数は同配列 DNA 二重鎖と比較して 2 桁小さいものであり、アミロライドが顕著な RNA 選択性を示すことを見出した。詳細な結合反応解析の結果、アミロライドは A 型構造を取る RNA 二重鎖においてスタッキング相互作用に起因する結合エンタルピー変化が著しく有利になっていることがわかり、核酸結合性分子としては極めて稀なアミロライドの結合特性を明らかにすることができた。アミロライドを検出リガンドとして、モデル系での検出限界を算出したところ (pH = 7.0, 0°C) 1.2 nM (59 fmol) の RNA 検出が可能で、既存のノーザンプロット法と同程度の検出感度を有していることがわかった。一方で、アミロライドは RNA 二重鎖 AP site 対面のウラシル塩基選択的に結合するため、これを利用することで標的 RNA を一塩基レベルの精度で解析することが可能である。

ウラシル以外の塩基に対する検出リガンドとしては、スクリーニングによりプテリジン誘導体が有用であることが分かった。ここでは、AP site 対面塩基との水素結合形成における相補性ならびに RNA に対する結合力の向上を狙ったカチオン性部位の導入という 2 つの分子設計に基づいて、シトシン検出リガンド (2,4-diamino-6,7-dimethylpteridine) の開発に成功した。得られたシトシン結合能は、4 位にあるアミノ基の電子供与性によりプテリジン環 N1 位の塩基制度が上昇し、プロトン化した化学種がシトシンと相補的な水素結合面を形成することに起因している [Chem. Commun., 2013]。さらに、このシトシン検出リガンドにグアニジノ基を導入することで、標的塩基に対する結合選択性を制御し、グアニンに対して最も強い結合力を示す新しいリガンドの開発に成功した。いずれのリガンドも RNA 二重鎖中 AP site 対面の標的塩基に対して nM オーダーの解離定数を示し、強力な結合親和力を有している。

一方で、分子構造改良による結合親和力の向上に加えて、Locked Nucleic Acid (LNA) をプローブ核酸構造に用いることでリガンドの結合親和力強化が可能であることを見出した。AP site LNA-DNA プローブを用いることで、AP site DNA プローブを用いた場合と比べてアミロライドの結合力が 38 倍も上昇した。また、この LNA 含有プローブの設計においては、LNA の配置場所がアミロライドの結合力強化に重要であることが分かった。

上記の通り、結合親和力の強化に基づいたアプローチに加えて、結合に伴う蛍光応答の改良による RNA 検出能の向上を進めた。これまでに開発してきた RNA 検出リガンドのほとんどが蛍光消光を示すタイプであったため、より明瞭な検出シグナルを獲得するために、発蛍光応答型リガンドを開発することにした。まず、AP site 結合リガンドに新たに疎水場環境応答型蛍光色素 (ベンゾフラザン誘導体 DBD) を連結したコンジュゲート設計

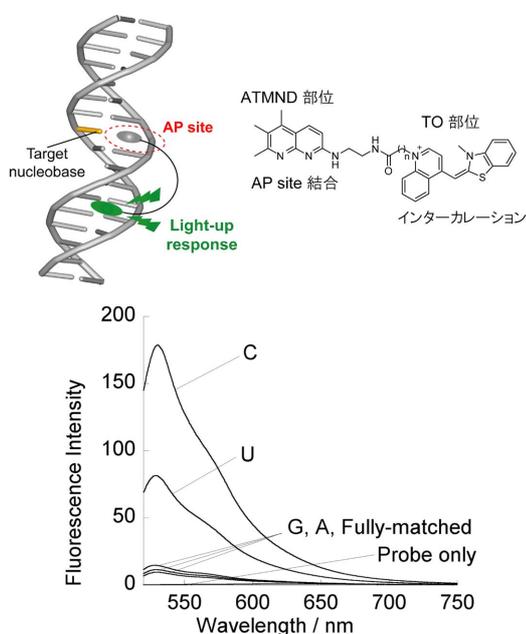


図 2. AP site 結合リガンド-シアニン誘導体コンジュゲート設計指針 (上) と ATMND-TO の AP-RNA およびフルマツチ RNA 二重鎖に対する蛍光応答

計により、リガンドの AP site 結合に伴い、DBD 部位が疎水場である核酸二重鎖の溝に位置することで、明瞭な蛍光強度増加型の蛍光シグナルを得ることが可能となった [Chem. Eur. J., 2012]。一方で、DBD 部位は核酸結合能が無いため、リガンドの結合力の増加には寄与しないことが問題となった。そこで、核酸結合性蛍光色素 (シアニン誘導体) の活用を検討した結果、off-on タイプの明瞭な発蛍光応答が得られるのみならず、結合力の増加にも効果的に寄与しうることがわかった (図 2)。シトシン検出リガンドであるナフチリジン誘導体 ATMND からアルキルスパーサーを介してチアゾールオレンジ (Thiazole orange: TO) を導入したコンジュゲートでは、AP-RNA との結合に伴い、light-up 応答を示した。重要なことに、このコンジュゲートは AP site 対面シトシン塩基選択性を発現している。これは AP site 結合部位である ATMND のシトシン結合選択性に起因しており、このコンジュゲート設計では AP site 対面塩基識別と light-up 応答をいう 2 つの機能集積が可能であることを見出した。また、この分子設計に基づく蛍光応答・結合能の改良は様々なリガンドに適用可能であり、RNA 検出能を劇的に向上させる汎用性の高い有用なアプローチであることが分かった [Chem. Commun., 2014]。また、この分子設計においては、リガンドとシアニン色素との連結が重要であることが分かってきている。例えば、アデニン検出に用いるルマジンとシアニンとのコンジュゲートにおいてはリシンをスパーサーとして用いることで単純なアルキル鎖スパーサーに比べて、2 桁も結合親和力が向上する。このように構造最適化されたコンジュゲートにおいては、

標的 RNA に対して、検出限界が 60 pM(3.1 fmol)にまで達することが分かった。

[2] ナノ細孔内の特異環境解明 これまでに、X 線や中性子線を利用した分光学的評価によってメソポーラスシリカ細孔における水の相転移挙動について研究が行われてきた。本研究では、粘性プローブであるローダミン色素の時間分解蛍光測定から、メソポーラスシリカ細孔（細孔径：3.1 nm）内における過冷却水の粘性について評価した。その結果、-50 という低温環境においても細孔内水は流動性（粘性：12 mPa s）を保持しており、諸反応に必要な分子の拡散・輸送が可能であることが分かった[Anal.Sci., 2012]。

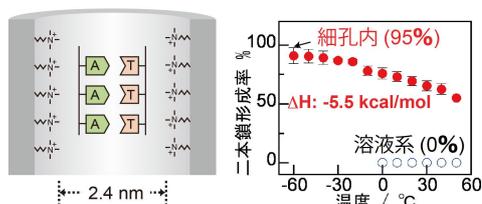


図3 メソポーラスシリカ細孔における3塩基 DNA 二重鎖形成の模式図（左）と形成効率の温度依存性（右）

次に、細孔内過冷却水中における DNA 二重鎖の安定性を蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) から検討した。ここでは、希薄水溶液中では熱力学的に困難な 3 塩基 DNA 断片同士の二重鎖をターゲットとして実験を行った (図 3)。その結果、ナノ細孔内においては極めて特異的に 3 塩基 DNA の二重鎖構造が形成されること、および本質的に発熱反応である二重鎖形成反応は過冷却環境下で形成効率が向上することを見いだした [Nat. Commun., 2014]。二重鎖形成に関する塩基数や塩基配列の依存性を調べた結果、Watson-Crick 型の水素結合に基づく antiparallel 二重鎖が形成されること、その形成エンタルピーが  $-5.5 \text{ kcal mol}^{-1}$  (塩基配列 TTT/AAA) であること、さらに一塩基置換された二重鎖 (TTT/ATA など) においても形成エンタルピーが相補系と同程度であることが分かった。以上のような特異的 3 塩基 DNA 二重鎖形成は、幾何学的な閉じ込め効果 (直径 2 nm の DNA 二重鎖が 2.4 nm のシリカ細孔に閉じ込められている) が大きく寄与していると考えられる。そこで、3 塩基 DNA と同様に希薄溶液中で二重鎖を形成しない 4 塩基 DNA (TTTT/AAAA) について、シリカ細孔径に対して大きな細孔径を有するアルミナ細孔 (細孔径：200 nm) 内における二重鎖形成反応を検証した。その結果、4 塩基 DNA の融解温度として  $-20 \text{ } \Delta H$  と  $\Delta S$  がそれぞれ  $-18 \text{ kcal mol}^{-1}$ ,  $-73 \text{ cal mol}^{-1}\text{K}^{-1}$  と見積もられ、小さなシリカ細孔内比べて同温度での二重鎖形成率が低いことが分かった。これは、シリカ細孔内での幾何学的閉じ込め効果の寄

与を裏付けるものである。一方で、CCG が 4 回繰り返された DNA である  $(\text{CCG})_4$  のヘアピンループ構造については、構造安定性が希薄溶液中に比べて若干劣る結果も得られた。不安定性の要因としては、細孔内壁に固定化された 4 級アミンとループ部位のリン酸基が強く静電的に相互作用することで、ステム部分の構造が変性したためと考えている。

また、シクロデキストリンとクマリン色素の包接錯体形成をモデルとして、細孔内過冷却水の錯体形成におよぼす効果を検証したところ、発熱性の包接錯体形成が細孔内過冷却水中で促進されることを実証した [J. Phys. Chem. C, 2013]。この結果から、AP-DNA の脱塩基部位空間に対するリガンドの包接 (結合) が細孔内過冷却水中で促進されることが期待された。

### [3] ナノ細孔内における核酸塩基認識とアレイチップの開発

ナノ細孔が集積したナノポーラス膜に対する核酸分子の吸着およびリガンドの結合を観測する手段として、光導波路分光の適用を検討した。ナノポーラス膜を平面光導波路として利用すると、光導波路モードの変化から核酸分子の吸着が、光導波路内での増強電場によるリガンド蛍光の効率の励起が期待される。そこで、直径が数十 nm の円筒状細孔が集積した多孔性アルミナ膜、細孔径が 6 nm 程度のメソポーラスシリカ膜について、自作の光導波路分光装置を用いて光導波路モードの励起を第一に確認した [ACS Nano, 2012, Anal. Sci., 2011]。次に、多孔性アルミナ膜を用いて DNA 二重鎖形成反応の観測に光導波路モードの利用が有効であること [J. Phys. Chem. C, 2013]、増強電場による効率的蛍光励起が可能であることを実証した [Opt. Express, 2013]。

上記の研究成果を踏まえて、多孔性アルミナ膜における AP-DNA 二重鎖とリガンド (ATMND-C10-TO) との錯形成反応について検証した。ここでは、リガンド蛍光収率の温度依存性の影響を除くために、AP-DNA 末端にローダミン色素 (R101) を修飾させて、ATMND-C10-TO と R101 間の FRET 応答を観測した。実験では、多孔性アルミナ膜  $1 \text{ mm}^2$  あたり 200 fmol の AP-DNA 二重鎖を濃縮し、この膜をリガンド溶液に浸漬させて FRET 応答を計測した。その結果、測定温度を 20 から  $-15 \text{ } \text{ } \rightarrow$  変化させると錯形成効率がおよそ 2 倍程度向上することが分かり、低温環境での検出効率の向上が可能であった (図 4)。一方、吸着系においてはバルク系に比べて検出選択性が悪くなることも判明した。これは、アルミナ膜への吸着による AP-DNA 二次構造の変化、表面電気二重層の影響などが考えられる。なお、上記の FRET 計測は市販の蛍光分光光度計で行ったが、自作のレーザー蛍光顕微鏡での蛍光観察効率からは、およそサブ fmol  $\text{mm}^{-2}$  程度に濃縮された AP-DNA 二重鎖に対してリガンド結合に由来する蛍光観

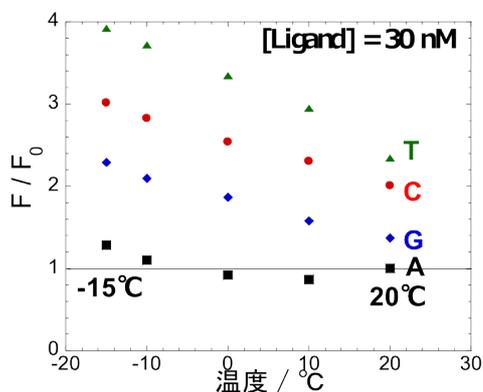


図4 アルミナ細孔に吸着したAP-DNA 二重鎖へのリガンド結合 (FRET 応答) の温度依存性

察が期待された。このように検出感度的には、多孔性アルミナ膜への濃縮と 0 以下の過冷却環境を利用することで、数十 amol の核酸分子の SNPs 識別への展望は開けた。細孔内表面への吸着による選択性の劣化を抑制できれば、目標とする 10 amol 程度の超高感度核酸計測を達成するアレイチップの開発も期待できる。

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 3 件)

Y. Sato, M. Kudo, Y. Toriyabe, S. Kuchitsu, C.-X. Wang, S. Nishizawa, N. Teramae, Abasic Site-Binding Ligands Conjugated with Cyanine Dyes for "Off-On" Fluorescence Sensing of Orphan Nucleobases in DNA Duplexes and DNA/RNA Hybrids, *Chem. Commun.*, 査読有, 50, 2014, 515-517  
DOI: 10.1039/C3CC47717G

Hirofumi Arafune, Akira Yamaguchi, Manato Namekawa, Yusuke Sato, Tetsuji Itoh, Ryoko Yoshida, Norio Teramae, Trinucleotide duplex formation inside a confined nanospace under supercooled conditions, *Nature Commun.*, 査読有, 5, 2014, 5151  
DOI: 10.1038/ncomms6151

Yong Fan, Kazuhiro Hotta, Akira Yamaguchi, Yu Ding, Yonghong He, Norio Teramae, Shuqing Sun, Hui Mam, Highly sensitive real-time detection of DNA hybridization by using nanoporous waveguide fluorescence spectroscopy, *Appl. Phys. Lett.*, 査読有, 105, 2014, 031103  
DOI: dx.doi.org/10.1063/1.4890984

Y. Sato, Y. Toriyabe, S. Nishizawa, N. Teramae, 2,4-Diamino-6,7-dimethylpteridine as a Fluorescent Ligand for Binding and Sensing an Orphan Cytosine in RNA Duplexes, *Chem. Commun.*, 査読有, 49, 2013, 9983-9985  
DOI: 10.1039/C3CC46085A

Akira Yamaguchi, Tetsuya Denda, Inclusion

Complexation of  $\gamma$ -Cyclodextrin and Coumarin Dye inside Alumina Nanopores Over a Temperature Range of 303 - 223 K, *J. Phys. Chem. C*, 査読有, 117, 2013, 17567-17573

DOI: dx.doi.org/10.1021/jp404504d

Kazuhiro Hotta, Akira Yamaguchi, Norio Teramae, Deposition of Polyelectrolyte Multilayer Film on a Nanoporous Alumina Membrane for Stable Label-Free Optical Biosensing, *J. Phys. Chem. C*, 査読有, 116, 2013, 23533-23539

DOI: 10.1021/jp308724m

Akira Yamaguchi, Manato Namekawa, Tetsuji Itoh, Norio Teramae, Microviscosity of supercooled water confined within aminopropyl-modified mesoporous silica as studied by time-resolved fluorescence spectroscopy, *Anal. Sci.*, 査読有, 28, 2012, 1065-1070

DOI: 10.2116/analsci.28.1065

Y. Sato, T. Ichihashi, S. Nishizawa, and N. Teramae, Strong and Selective Binding of Amiloride to an Abasic Site in RNA Duplexes: Thermodynamic Characterization and MicroRNA Detection, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 査読有, 51, 2012, 6369-6372

DOI: 10.1002/anie.201201790

K. Hotta, A. Yamaguchi, and N. Teramae, Nanoporous Waveguide Sensor with Optimized Nanoarchitectures for Highly Sensitive Label-Free Biosensing, *ACS Nano*, 査読有, 6, 2012, 1541-1547

DOI: 10.1021/nn204494z

Y. Fan, K. Hotta, A. Yamaguchi, and N. Teramae, Enhanced fluorescence in nanoporous waveguide and its quantitative analysis, *Opt. Express*, 査読有, 20, 2012, 12850-12859

DOI: 10.1364/OE.20.012850

[学会発表] (計 1 9 2 件)

佐藤雄介, 核酸特定部位に結合する蛍光性分子の開発とその分析化学的应用、日本分析化学会第 63 年会、2014 年 9 月 17 日、広島大学東広島キャンパス(広島県東広島市)  
山口央, ナノポーラス構造に基づくバイオセンシング、2013 年真空・表面科学合同講演会、2013 年 11 月 26 日、つくば国際会議場(茨城県つくば市)

Norio Teramae, Molecule Recognition by Fluorophores at the Confined Reaction Fields, October 24 2013, 15th Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis, Beijing (中国)

Norio Teramae, Chemical Sensing at the Confined Reaction Fields, AsianalysisXII, August 22 2013, Kyushu University (福岡県福岡市)

Norio Teramae, Molecule Recognition by Fluorophores at the Confined Reaction Fields, 14th International Symposium on

Electroanalytical Chemistry, August 18 2013, Changchun (中国)

Akira Yamaguchi, Fabrication of Hybrid Mesoporous Membrane for Bioanalysis, 9th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCOO13), June 29 2013, Epoch Ritsumei 21, Biwako-Kusatsu Campus, Ritsumeikan University (滋賀県草津市)

寺前紀夫, 核酸脱塩基部位に結合する蛍光分子の開発とその応用、日本バイオマテリアル学会 シンポジウム 2012、2012 年 11 月 26 日、仙台国際センター(宮城県仙台市)

西澤精一, RNA を標的とする蛍光性小分子リガンド、日本分析化学会第 61 年会、2012 年 9 月 19 日、金沢大学角間キャンパス(石川県金沢市)

佐藤雄介, RNA 結合性小分子を用いた小分子 RNA 検出、化学系学協会東北大会、2012 年 9 月 15 日、秋田大学(秋田県秋田市)

N. Teramae, Biosensing based on interactions between nucleic acids and small ligands, 3rd Asian Spectroscopy Conference, November 29 – December 1 2011, Xiamen (中国)

N. Teramae, Analytical Application of Abasic-site Binding Ligands, 14th Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis, October 13-16 2011, Beijing (中国)

N. Teramae, Molecule Recognition based on Abasic Site-binding Fluorescent Ligands, Chemistry of Functional Organic Chemicals, June 23-25 2011, Strasbourg (フランス)

Norio Teramae, Molecule Recognition by Fluorescent Molecules Using Abasic Site-containing DNAs, IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011(ICAS 2011), May 24 2011, 国立京都国際会館(京都府京都市)

Norio Teramae, Molecule Recognition by Fluorescent Ligands Using Abasic Site-Containing Oligonucleotides, The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010), December 17 2010, Honolulu, Hawaii (アメリカ)

西澤精一, 核酸/リガンド相互作用解析と分析化学的応用、GE ヘルスアケアジャパン セミナー BIA Symposium in 仙台、2010 年 10 月 26 日、東北大学医学部良陵会館(宮城県仙台市)

寺前紀夫, 水素結合性分子と核酸を用いた化学センシング、日本分析化学会第 59 年会、2010 年 9 月 15-17 日、東北大学川内キャンパス(宮城県仙台市)

N. Teramae, Nucleobase Recognition by Fluorescent Ligands based on Abasic Site-containing DNAs, Symposium on Molecule Recognition, September 5 2010, Xi'Nan (中国)

N. Teramae, Nucleobase Recognition by

Fluorescent Ligands in Combination with Abasic Site-containing Oligonucleotides, September 3 2010, Chongqing (中国)

〔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〕

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

寺前 紀夫 (TERAMAE, Norio)  
東北大学・大学院理学研究科・名誉教授  
研究者番号：7 0 1 1 4 5 6 9

### (2)研究分担者

山口 央 (YAMAGUCHI, Akira)  
茨城大学・理学部・准教授  
研究者番号：1 0 3 5 9 5 3 1

西澤 精一 (NISHIZAWA, Seiichi)  
東北大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号：4 0 2 8 1 9 6 9

佐藤 雄介 (SATO, Yusuke)  
東北大学・大学院理学研究科・助教  
研究者番号：9 0 5 8 3 0 3 9

徐 志愛 (XU, Zhiai)  
東北大学・大学院理学研究科・助教  
研究者番号：5 0 5 6 2 3 3 6