

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292114

研究課題名(和文) 魚類のストレスの見える化：可視光通信技術を用いたバイオセンシングシステムの創出

研究課題名(英文) An optical communication-type biosensing system for detecting fish stress

研究代表者

遠藤 英明 (Endo, Hideaki)

東京海洋大学・その他部局等・教授

研究者番号：50242326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、魚類のストレス応答を測定するために、可視光通信技術を用いた新しいバイオセンシングシステムを創出することを目的とした。まず、ストレスの一次応答測定のためのコルチゾル測定用イムノバイオセンサを、抗体、カーボンナノチューブ、金電極等を用いて製作した。次に、ストレスの二次応答測定および抗病性評価のためのグルコース/コレステロール同時計測用酵素バイオセンサを、酵素、カーボンナノチューブ、微小電極等を用いて製作した。さらに、グルコースセンサ、LED型光送信機および受光器より構成される可視光通信システムを構築し、魚のストレス応答のバイオセンシング試み、そのリアルタイムモニタリングを可能にした。

研究成果の概要(英文)：We developed a novel biosensing system to monitor fish stress using optical technology. Biosensors to monitor indicators of fish stress such as cortisol, glucose, and cholesterol concentrations were prepared. An immunosensor for determining the cortisol concentration was developed using an anti-cortisol antibody, carbon nanotubes, and an Au electrode. An enzyme sensor for simultaneous monitoring of glucose and cholesterol concentrations was also prepared using immobilized enzyme carbon nanotubes and micro-electrode. We then developed a novel wireless system using optical technology utilizing a light-emitting diode as the transmission device, which was attached to the body of the fish, and glucose levels of stress indicator were monitored in the fish under free-swimming conditions. Successful real-time monitoring of fish stress indicated that the new biosensing system worked well and is a promising tool for monitoring fish health.

研究分野：生体機能利用学

キーワード：バイオセンサ 魚類 ストレス グルコース コルチゾル コレステロール 光通信 バイオセンシング

1. 研究開始当初の背景

近年、養殖魚の健全・安全性が強く求められている背景から、魚の健康状態を定期的に評価し、異常を早期に察知できるような魚のための健康診断が注目されている。魚類の診断指標としては、血中グルコース、乳酸濃度の変化が魚類のストレスの度合いや呼吸障害、栄養状態を示すことが明らかにされている。また血中総コレステロール濃度の低下は、細菌感染症に対する抗病性の低下を示す指標になることが報告されている。さらに、種苗生産における排卵時期の予測をはじめ、魚病の早期発見、診断も重要な診断項目となっている。そこで申請者は、平成 23~25 年度科研費基盤研究(B)「魚類の健康バイオセンシング「さかなドック」の創出に関する研究(代表)」において、これらの検査項目を迅速簡便に測定可能な各種バイオセンサシステムを製作し、人間ドックの魚版ともいえる「さかなドック」の創出を試みてきた。

一方、上記研究を遂行する過程において、これらバイオセンサを大学等の研究機関や水族館における魚類のストレス応答の基礎研究に利用したいという要望が学会、講演会等を通じて国内外から多数寄せられていた。すなわち、本システムは養殖場ばかりではなく、実験室規模の小型水槽で行われているような魚類の研究分野において、その期待が非常に大きいことがわかってきた。一般に、魚類におけるストレスの生理学的応答は、コルチゾルやカテコールアミンなどのホルモン系の変化よりなる一次応答から始まり、これらストレスホルモンの代謝活性化によって生じる血中グルコース濃度の変化としての二次応答、生き続けられるかどうかが決まるまでの三次応答に分類される。通常、ストレス応答の研究では、一次及び二次応答におけるコルチゾルやグルコースの濃度変化をストレスの指標としている。しかしながら、上記研究で我々が考案してきたストレス測定用センサは、グルコースをストレス指標としていたため、二次応答の解析は可能であったが、一次応答の指標であるコルチゾルについては測定システムの構築までには至っていない。ストレス応答の研究において、コルチゾルの測定は必須項目であり、迅速簡便な測定法の確立が望まれている。また同時に、ストレスが要因となって生じる抗病性低下の指標となる血中の総コレステロール濃度測定法の確立も重要な要素となっている。一方、申請者がこれまでに考案したバイオセンサは、水中での測定データの伝達手法に電波を用いて、魚を遊泳させながらのリアルタイムモニタリングを可能にしてきた。しかしながら電波を用いた場合、淡水中では送受信機がある程度の距離を隔てていてもモニタリングが可能であったが、海水中では電波が完全に遮断されてしまうため、海水魚への適用は極めて困難であった。

2. 研究の目的

そこで本研究では、魚のストレスにおける一次及び二次応答を簡単に判別でき、かつコルチゾル、グルコース、コレステロール等のストレス指標を定量的にモニタリングできる新しいバイオセンシングシステムを構築することを目的とした。すなわち「魚類のストレスの見える化」を念頭において、これまでの科研費補助金による研究成果を基盤として、電気化学的測定法、非標識免疫反応、可視光通信等の技術を新たに導入することにより、(1)コルチゾル測定用イムノセンサシステムの開発、(2)グルコース・コレステロール同時計測用バイオセンサシステムの開発、(3)可視光通信システムを用いた魚類のストレス応答モニタリングシステムの開発を中心に研究を遂行した。

なお、各種バイオセンサの基本設計、製作、評価及び研究の総括は、研究代表者である東京海洋大学海洋資源環境学部の遠藤英明(生物機能利用学、電子化学)が担当した。また、電極上への自己組織化単分子膜の形成、抗体固定化法の検討については東京海洋大学海洋工学部の大貫等(有機薄膜工学)が、可視光通信システムの設計・製作は(公財)函館地域産業振興財団の村田政隆(計測システム学)、モニタリングシステムとしてのストレス応答値の検証については(国研)水産研究・教育機構の吉浦康寿(魚類生理学)が連携研究者として担当した。

3. 研究の方法

本研究では、計測デバイスに微小電極を、分子識別生体素子に生体触媒(抗体、酵素等)を用いることにより、魚類の血液成分(グルコース、総コレステロール)やコルチゾルの測定が可能な各種バイオセンサを製作し、可視光通信技術を用いた魚類のストレス応答測定のためのバイオセンシングシステムを創出した。コルチゾルの測定には生体触媒として抗体を利用し、グルコース、コレステロール等の血液成分測定には酵素を用いた。

(1)コルチゾル測定用イムノセンサシステムの製作:本研究では、抗-コルチゾル抗体を用いることにより、コルチゾルとの抗原抗体反応における電極表面特性の変化をサイクリックボルタンメトリー(CV)にて解析し、その電流値の変化からコルチゾルの定量を試みた。まず、ディスク型金電極の表面を有機チオール(3-メルカプトプロピオン酸(MPA))溶液に浸漬し、MPAの自己組織化単分子膜(SAM)を形成させた。次にEDCとNHSを用いて、SAM末端に抗-コルチゾル抗体を固定化した。さらに金電極の導電性を高めるために、ナフィオン分散溶液に溶解した単層カーボンナノチューブ(SWCNT)を抗体固定化電極の表面に塗布して固定化した。このように作製したSWCNT/抗体固定化電極をコルチゾル含有試料溶液に浸漬し、抗原抗体反応させた後、フェリシアン化カリ

ウム溶液中で CV による酸化ピーク電流値の減少量を測定することにより，コルチゾルの測定を試みた．また，CV による SAM の還元脱離の観察，他種ホルモンを用いた特異性の検討，各測定条件の最適化等の検討も合わせて行った．

(2) グルコース・コレステロール同時計測用バイオセンサシステムの製作：総コレステロール測定用バイオセンサの製作には，電子メディエータとなるフェロセン誘導体をコレステロールエステラーゼ (Cest) 及びコレステロールオキシダーゼ (Cox) を MPC 等の生体適合性材料と共に固定化することにより，試料中の酸素量に影響されない新しいバイオセンサの構築を試みた．まず，作用極に白金イリジウム線を，対極に銀塩化銀を用いて，ニードル型微小電極を作製した．電極反応部には，電極反応に及ぼす夾雑物質の影響を軽減するためナフィオンを塗布し，その後メディエータと両酵素を固定化した．これにより，酵素反応においてメディエータを介した電子移動による酸化還元反応が進行するため，血液中の溶存酸素濃度に依存しにくいコレステロール測定用バイオセンサの構築が実現できると考えた．次に，本センサ及び先行研究によって開発されたグルコース測定用バイオセンサを用いることにより，図 1 に示すようなワイヤレスモニタリングシステムを構築した．本システムはコレステロールセンサに加え，グルコースオキシダーゼ (GOx) を用いたグルコースセンサ，電波式ワイヤレスポテンシオスタット，電波受信器，PC 等より構成される．各センサを魚のセンサを眼球粘膜内部の間質液 (EISF) 中に挿入・留置し，魚を自由に遊泳させた状態で，両基質濃度の陸上からのリアルタイムモニタリングを試みた．

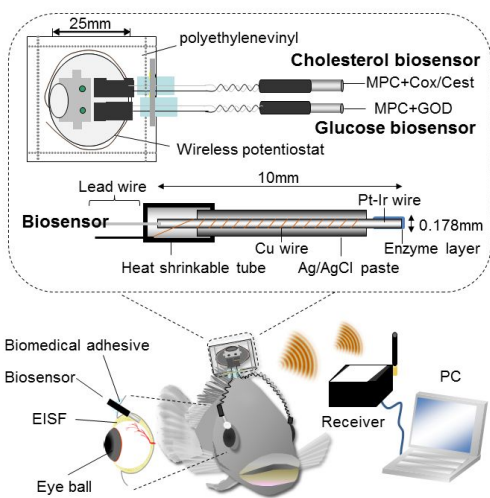


図 1 グルコース・コレステロール同時計測システム

(3) 可視光通信システムを用いた魚類のストレス応答モニタリングシステムの製作：本システムは，バイオセンサの出力電流値をデジタル化して発光ダイオード (LED) に

より情報を送信することで魚の体内グルコース濃度を測定する原理に基づいている．光通信では光源となる LED 型光送信器と広角レンズより成る受光器との光軸が一致することにより通信可能となるため，LED の装着角度によって通信状態が変化する．そこでまず，魚体における LED の装着部位および受光器の設置位置の最適条件を検討した．次に，バイオセンサを魚体に挿入し，魚を自由に遊泳させた状態で環境変化に伴うストレス因子を魚体に負荷して，そのストレス応答のリアルタイムモニタリングを試みた．

4. 研究成果

(1) コルチゾル測定用イムノセンサシステム：SWCNT を固定化した非標識イムノセンサをコルチゾルが含まれる試料溶液に浸漬し，サイクリックボルタンメトリーで解析することによりコルチゾルの定量を試みた．その結果，コルチゾル濃度が $156 \sim 10,000 \text{ pg ml}^{-1}$ の範囲において，センサの電流減少値との間に良い相関関係 ($R=0.965$) が認められた．この現象は，抗原と抗体が複合体を形成することによって，レドックスプローブ (フェリシアン化カリウム) とセンサ表面の間にある電気二重層の幅が増加し，酸化還元反応で生成した電子の移動を阻害したためと考えられる．また，この時のセンサの酸化ピーク電流値は，SWCNT を固定化していないイムノセンサのそれと比較して大幅な上昇 (約 24 倍) が認められ，SWCNT の顕著な有効性が明らかとなった．1 検体の分析所要時間は約 15 分で可能であり，極めて迅速な測定を可能にした．一方，魚類の血中に存在する各種ステロイドホルモンを用いてイムノセンサの特異性を検討したところ，本センサはコルチゾル以外のホルモンには応答しないことが確認できた．さらに，本システムを用いて試験魚 (ティラピア) の血漿コルチゾル濃度の測定を行い，従来法 (ELISA) の測定結果と比較検討したところ，両測定値の間には良い相関性 ($R=0.999$) が認められた (図 2)．

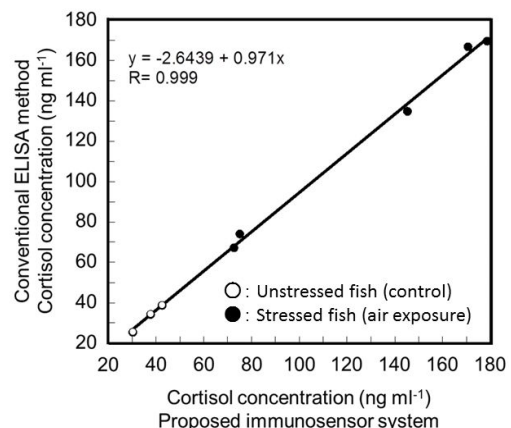


図 2 コルチゾルセンサと ELISA による測定値の相関

以上の結果から、SWCNTを固定化することによりセンサの感度が向上し、試験魚の血漿試料を用いた測定においては、従来法のような前処理及び洗浄操作等の煩雑な必要とせず、血中コルチゾル濃度を迅速かつ簡便に測定できることが明らかとなった〔雑誌論文〕。

また、将来的に本センサを魚体に留置することを想定して、次世代のコルチゾル測定用センサシステムの開発を試みた。すなわち、電極表面上に抗-コルチゾル抗体と共に酵素(GOx)を固定化することによって、細胞への毒性が極めて低い新しいイムノセンサを試作した〔雑誌論文〕。さらに、コルチゾルの連続測定を可能にするために、イムノセンサの迅速交換が可能なフローチェンジャーシステムを設計・製作し、コルチゾル濃度を連続的に測定できるシステムの基礎的開発も併せて試みた。本システムを用いてコルチゾルを連続的に測定した結果、 $0 \sim 40 \text{ ng ml}^{-1}$ の濃度範囲でその定量が可能であった。また、製作したチェンジャーにおけるバイオセンサの交換は数秒で可能であり、迅速・簡便な測定を実現できた〔雑誌論文〕。

(2) グルコース・コレステロール同時計測用バイオセンサシステム：まず、電子メディエータを用いてコレステロール測定用バイオセンサを作製した結果、コレステロール濃度とセンサの出力電流値との間には良い相関性が認められた。また、試料中の溶存酸素量を変化させて測定を試みたところ、酸素濃度に影響されないセンサを構築することができた〔雑誌論文〕。次に、コルチゾル測定用センサと同様に、前述のSWCNTを用いることによりセンサの改良を試みたところ、より高感度なコレステロール測定用センサを構築することができた〔雑誌論文〕。

さらに、本バイオセンサとグルコース測定用バイオセンサを用いて、グルコースとコレステロール濃度の同時モニタリングを試みた。本研究では、センサの耐久性を向上させるために、酵素をMPC等の生体適合性材料と共に固定化することにより、長時間の測定に適した生体留置型バイオセンサシステムを製作した。本システムを用いて、魚を遊泳させた状態で、グルコース及びコレステロールのモニタリングを試みたところ、時間経過に伴うセンサ出力の変動が認められ、約7日間に渡ってその測定が可能であった。この変動は、従来法によって得られた測定値との間に良い相関関係を示した。したがって、本システムを用いることにより、魚を自由に遊泳させた状態で、グルコース及びコレステロールの同時計測が可能であることが明らかとなった〔雑誌論文〕。

(3) 可視光通信システムを用いた魚類のストレス応答モニタリングシステム：上記研究で作製したバイオセンサを魚体に挿入し、これに可視光通信システムを接続することにより、ストレス応答のモニタリングを試みた。

まず、バイオセンサに接続されたLED型光送信器を魚の頭部に装着し、受光器を水槽上部に設置して光通信測定を行った(図3)。その結果、淡水および海水中において測定データの94%以上が伝達可能であることが確認でき、この装着方法がリアルタイムモニタリングに適していることがわかった。

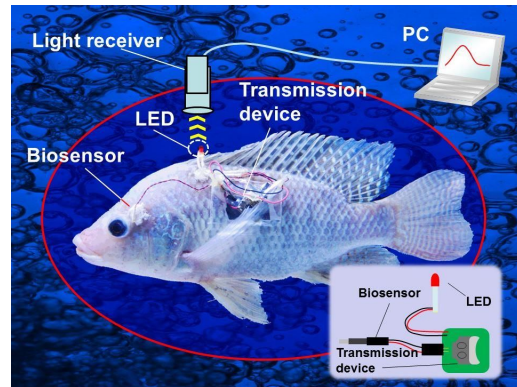


図3 光通信技術を用いたストレス応答測定システム

次に、魚(ティラピア)に行動生理学的要因等のストレス因子を負荷することにより、魚の血中グルコース濃度を指標としたストレス応答モニタリングを試みた。ティラピアの雄魚は縄張りをつくり、同種の雄に対して威嚇行動をとることが知られている。そこで本システムを用いて、魚類のストレス応答と個体間の威嚇行動との関係を調べた。結果を図4に示す。この図は、小型個体のティラピアが遊泳する水槽に、それよりも大型の個体を投入した時の小型個体のストレス応答をモニタリングした結果である。矢印の時点で大型個体を投入後、小型個体のストレス応答は徐々に増加する様子が認められる。したがって本光通信システムを用いることにより、魚類のストレス応答をリアルタイムにモニタリングできることが明らかとなった〔雑誌論文〕。

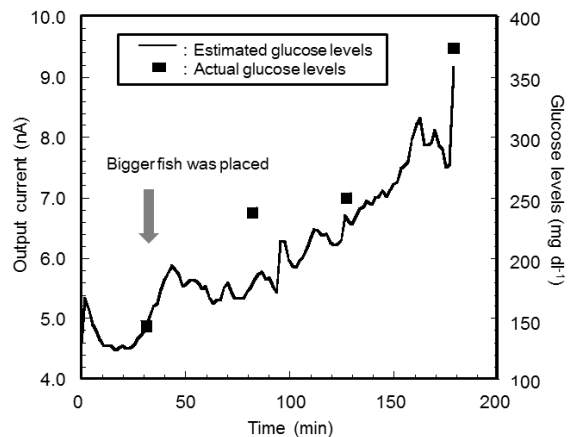


図4 ストレス応答測のリアルタイムモニタリング

さらに、魚が受けているストレス応答の大小をLEDの点滅色の变化により、目視で簡単に判別できるシステムを試作した。その結果、「ストレスの見える化」についての開発基盤

を築くことができた〔学会発表〕。

以上本研究は、魚のストレス応答の迅速簡便な測定の確立を目的に、各種バイオセンサと可視光通信システムを用いて「ストレスの見える化」を念頭に研究を遂行してきた。今後、更に完成度の高いシステムを構築するには、コルチゾルセンサの魚体内留置の検討、LED可視化システムの製作、センサコントロールのために双方向通信システムの開発などが必要であると考えられる。今後、これら項目については、精力的に新しい研究を展開してゆきたいと考えている。

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 14 件)

H. Wu, K. Hibi, T. Oomori, M. Murata, H. Ohnuki, H. Endo: Simultaneous real-time monitoring of glucose and cholesterol levels in fish using wireless biosensor system. *Jacobs J Aquacul Res.* in press (2017) (査読有)

H. Wu, H. Ohnuki, M. Murata, H. Endo: Flow immunosensor system with an electrode replacement unit for continuous cortisol monitoring for fish. *Sens. Bio-Sens. Res.* **13**, 122-127 (2017) (査読有)

R. Shinoda, H. Wu, M. Murata, H. Ohnuki, Y. Yoshiura, H. Endo. Development of an optical communication type biosensor for real-time monitoring of fish stress. *Sensors & Actuators: B. Chemical*, **247**, 765-773 (2017) (査読有)

H. Wu, H. Ohnuki, S. Ota, M. Murata, Y. Yoshiura, H. Endo: New approach for monitoring fish stress: A novel enzyme-functionalized label-free immunosensor system for detecting cortisol levels in fish. *Biosens. Bioelecton.* **93**, 57-64 (2017) (査読有)

K. Tsugimura, H. Ohnuki, H. Endo, D. Tsuya, M. Izumi: Protein-G-based human immunoglobulin G biosensing by electrochemical impedance spectroscopy. *Japanese Journal of Applied Physics* **55**, 02BE06-1 - 02BE06-4 (2016) (査読有)

H. Wu, H. Ohnuki, K. Hibi, H. Ren, H. Endo: Development of a label-free immunosensor system for detecting plasma cortisol levels in fish. *Fish Physiol. Biochem.* **42**, 19-27 (2016) (査読有)

H. Wang, H. Ohnuki, H. Endo, and M. Izumi : Impedimetric and amperometric bifunctional glucose biosensor based on hybrid organic-inorganic thin films. *Bioelectrochemistry* **101**, 1-7 (2015) (査読有)

H. Wu, H. Ohnuki, T. Muramatsu, M. Hirai, K. Hibi, H. Ren, H. Endo: Development of label-free biosensor for detecting steroid hormone concentration in fish. *KnE Life Science*, **1**, 212-223 (2015) (査読無)

Taogesi, H. Wu, M. Murata, H. Ren, H. Endo: Carbon nanotube-enhanced enzyme sensor for real-time monitoring of cholesterol levels in free-swimming fish. *Sensors and Materials* **27**, 805-815 (2015) (査読有)

H. Wu, H. Ohnuki, H. Ren, H. Endo: Carbon nanotube-Enhanced label-free immunosensor for highly sensitive detection of plasma cortisol levels in fish. *Sensors and Materials* **27**, 793-803 (2015) (査読有)

H. Wu, A. Aoki, T. Arimoto, T. Nakano, H. Ohnuki, M. Murata, H. Ren, H. Endo: Fish stress become visible: a new attempt to use biosensor for real-time monitoring fish stress. *Biosens. Bioelecton.* **67**, 503-510 (2015) (査読有)

S. Mukoyama, H. Ohnuki, H. Endo, D. Tsuya, M. Izumi: Pt-Au interdigitated array electrodes for biosensing applications. *Transactions of the Materials Research Society of Japan* **39**, 239-242 (2014) (査読有)

M. Takase, M. Murata, K. Hibi, R. Huifeng, H. Endo: Development of mediator-type biosensor to wirelessly monitor whole cholesterol concentration in fish. *Fish Physiol. Biochem.* **40**, 385-394 (2014) (査読有)

他

〔学会発表〕(計 38 件)

1) 国際会議

T. Sakurai, H. Wu, G. Yoshizaki, H. Ohnuki, H. Endo: Development of Novel Immunosenser System for Sex Determination of Fish. *PRiME 2016*, Honolulu, **USA**, October 2-7, 2016

H. Wu, M. Arai, H. Ohnuki, Y. Yoshiura, H. Endo: Development of a Flow Injection Biosensor System Enables Glucose and Cortisol Simultaneous Measurement for the Evaluation of Fish Stress. *PRiME 2016*, Honolulu, **USA**, October 2-7, 2016

H. Wu, S. Ota, H. Ohnuki, H. Ren, H. Endo: New approach for fish stress monitoring: A novel enzyme-functionalized label-free immunosensor system for detecting cortisol levels in fish. *Biosensors 2016*, Gothenburg, **Sweden**, May 25, 2016

H. Wu, H. Ohnuki, H. Ren, H. Endo: Flow immunobiosensor system with electrode replacement unit for continuous

cortisol monitoring for fish. Biosensors 2016, Gothenburg, **Sweden**, May 25, 2016

R. Shinoda, H. Wu, T. Murata H. Ohnuki, H. Rn, H. Endo: Development of an optical transmission type biosensor for real-time monitoring of fish stress. PACIFICHEM 2015, Honolulu, **USA**, December 15 - 20, 2015

A. Aoki, H. Wu, T. Arimoto, T. Nakano, T. Murata H. Ohnuki, H. Rn, H. Endo: Real-time monitoring of fish stress response on threat behavior by using wireless biosensor system. PACIFICHEM 2015, Honolulu, **USA**, December 15 - 20, 2015

H. Wu, K. Sugata, H. Ohnuki, H. Rn, H. Endo: Ultra highly sensitive detection of *Edwardsiella ictaluri* using high-gradient immunomagnetic separation with a polymerase chain reaction. PACIFICHEM 2015, Honolulu, **USA**, December 15 - 20, 2015

H. Ohnuki, S. Mukoyama, T. Oniwa, H. Endo, D. Tsuya, K. Ikegami, M. Izumi: Self-powered biosensor with interdigitated microarray electrode. Euroanalysis 2015, Bordeaux, **France**, 6-10 September 2015

H. Wu, H. Ohnuki, H. Rn, H. Endo: Development of an enzyme-functionalized label-free immunosensor system for detection of cortisol levels if fish. Euroanalysis 2015, Bordeaux, **France**, 6-10 September 2015

S. Mukoyama, H. Ohnuki, H. Endo, D. Tsuya, M. Izumi: Application of Pt-Au interdigitated array electrodes for biosensing. Biosensors 2014, Melbourne, **Australia**, 27-30 May, 2014

H. Wu, A. Aoki, T. Suzuki, J. Otsuka, K.Hibi, T. Arimoto, T. Nakano, H. Ren, H. Endo: Fish stress become visible: a new attempt to use glucose biosensor for real-time monitoring fish stress. Biosensors 2014, Melbourne, **Australia**, 27-30 May, 2014

他

2) 国内学会

信田亮輔・中山茉理央・村田政隆・呉海雲・大貫等・遠藤英明: 魚類ストレス応答の可視化のためのLED点滅型バイオセンサの試作: 日本水産学会春季大会 東京海洋大学 2017年3月

信田亮輔・村田政隆・呉海雲・大貫等・遠藤英明: 可視光通信システムを用いたバイオセンサによる魚類のストレス応答モニタリング: 日本水産学会秋季大会 近畿大学農学部 2016年9月

呉海雲・大貫等・任恵峰・遠藤英明: 魚類のコルチゾール測定のためのフローチェン

ジャー型免疫バイオセンサシステムの試作: 日本水産学会春季大会 東京海洋大学 2015年3月

信田亮輔・村田政隆・呉海雲・大貫等・任恵峰・遠藤英明: 光通信技術を用いたワイヤレスバイオセンサによる魚類ストレス応答のリアルタイムモニタリング: 日本水産学会春季大会 東京海洋大学 2015年3月

他

【図書】(計2件)

H. Wu and H. Endo: Biosensor systems for the monitoring of fish health and freshness in aquaculture: FOOD BIOSENSORS (Chapter 18, pp.414-431), Royal Society of Chemistry (RSC), UK (2016)

遠藤英明(分担執筆): バイオセンサの先端科学技術と新製品への応用開発, 技術情報協会編 総ページ数 550 ページ: 第9章 第9節「バイオセンサによる迅速・簡便な魚類の健康診断~さかなドックの創出に向けて~」, pp.377-382, 技術情報協会, 東京 (2014)

【その他】

ホームページ

- 東京海洋大学 遠藤英明研究室
<http://www2.kaiyodai.ac.jp/~endo/endo/index.html>
- 東京海洋大学研究者総覧データベース
<http://olcr.kaiyodai.ac.jp/kenkyusha-db/kaiyokankyokagaku.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

遠藤 英明 (ENDO, Hideaki)
東京海洋大学・その他部局等・教授
研究者番号: 50242326

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者(3名)

大貫 等 (OHNUKI, Hitoshi)
東京海洋大学・その他部局等・教授
研究者番号: 60223898

吉浦 康寿 (YOSHIURA, Yasutoshi)
(国研)水産研究・教育機構・
瀬戸内海区水産研究所・主任研究員
研究者番号: 90372052

村田 政隆 (MURATA, Masataka)
(公財)函館地域産業振興財団: 北海道立工業技術センター・研究主任
研究者番号: 40505707