

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03893

研究課題名（和文）植物利用型有用タンパク質生産における環境制御とその効果の機構解明に関する研究

研究課題名（英文）Studies on environment control for and the mechanism underlying its effects on plant-based protein production

研究代表者

松田 怜（MATSUDA, Ryo）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・准教授

研究者番号：20547228

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000 円

研究成果の概要（和文）：一過性遺伝子発現法を用いた植物利用型有用タンパク質生産における、遺伝子導入前後の栽培環境条件の影響、および遺伝子導入後の気温が有用タンパク質生産量に及ぼす影響のメカニズムを明らかにすることを目的とした。遺伝子導入後の高PPFDおよび高CO₂濃度がヘマグルチニン（HA）生産に必ずしも効果的ではないこと、および遺伝子導入前のPPFDおよび気温制御が遺伝子導入後のHA生産にとって重要であることが明らかとなった。また、遺伝子導入後に特定の気温条件で観察される葉のネクロシスに小胞体ストレスが関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一過性遺伝子発現法を用いた植物利用型有用タンパク質生産において、遺伝子導入前後の環境制御の効果と、その効果の合理的解釈に関する知見が得られた。また、遺伝子発現の定量解析により、環境制御の効果をもたらす生理的メカニズムの一端が明らかになった。いずれも、実用的な植物利用型有用タンパク質生産において有用な知見となりうると考える。

研究成果の概要（英文）：Effects of environmental conditions before and after gene transfer and the mechanism underlying the effects in plant-based protein production with transient gene expression system were investigated. It was found that high light intensity and high CO₂ concentration after gene transfer were not necessarily effective in hemagglutinin (HA) production and that PPFD and temperature control before gene transfer is important for HA production after gene transfer. It was also suggested that ER stress can be involved in leaf necrosis observed after gene transfer under a specific temperature condition.

研究分野：生物環境工学

キーワード：環境制御 バイオ医薬品 植物工場 一過性遺伝子発現 ベンサミアナタバコ インフルエンザワクチン ヘマグルチニン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ワクチンなどの有用タンパク質の遺伝子を、微生物(アグロバクテリウム)や植物ウイルスの遺伝子導入・複製機能を利用して植物に後天的に導入し、一過的に発現させる一過性遺伝子発現法は、従来の鶏卵や培養細胞を用いる方法や、遺伝子組換え植物を用いる方法と比較して、迅速かつ安価に大量の有用タンパク質を生産できる方法として近年注目されている。

一過性遺伝子発現法のうち、主要な方法の1つである magniflection 法 (Gleba et al. 2007) の工程の概略は次のとおりである。

- (1) 宿主植物であるベンサミアナタバコを播種後1か月間程度栽培する。
- (2) 植物体地上部をアグロバクテリウム懸濁液に浸漬し、減圧・復圧することにより、懸濁液を葉の細胞間隙に浸潤させ、アグロバクテリウムを感染させる。
- (3) アグロバクテリウムは、有用タンパク質の遺伝子、および植物ウイルス由来の RNA 複製酵素の遺伝子を植物細胞の核内に挿入する。RNA 複製酵素の作用により、有用タンパク質遺伝子が植物細胞内で指数関数的に増幅し、感染後1週間程度で有用タンパク質が生産される。

既往の一過性遺伝子発現法に関する研究の多くは、生産する有用タンパク質の性質や薬効に関する生化学的・薬学的研究、および遺伝子発現効率向上のための遺伝子工学的研究であり、栽培環境に着目した研究はほとんどなかった。研究代表者らは、遺伝子導入前後の適切な環境調節が有用タンパク質生産量増大にとって重要であるとの考えにもとづき、研究を進めてきた。特に、遺伝子導入前には、植物の持つタンパク質生産のための資源をあらかじめ富化し、またタンパク質生産に適した形態を有する植物を準備することが重要であり、遺伝子導入後には、減圧浸潤やウイルス遺伝子などに起因するストレスを緩和し、植物をタンパク質生産に適した生理状態に保つことが重要であるとの仮説を検証してきた。その結果、(1) 遺伝子導入前の高窒素濃度の液肥施用により、葉の窒素化合物含量および有用タンパク質含量が増加すること (Fujiuchi et al. 2014)、(2) 減圧浸潤によって細胞間隙に浸潤した水分を、低相対湿度下での蒸散促進によって速やかに除去することで、有用タンパク質含量が増加すること (Fujiuchi et al. 2016)、(3) 遺伝子導入後の気温を成育適温に近い 25°C とすると、葉にネクロシス(壊死)が生じ、有用タンパク質含量が減少するため、20°C 程度に低下させることが望ましいこと (Matsuda et al. 2012) などを示し、仮説の一部を実証してきた。

このように、いくつかの環境要素については、それらを適当なタイミングで適切なレベルに制御することが、一過性遺伝子発現法における有用タンパク質生産量の増大に有効であることがわかってきた。今後は、遺伝子導入前から導入後にわたる総合的な環境調節の確立に向けて、これまで検討されてこなかった環境要素についても最適化を図る必要がある。

また、環境要素が有用タンパク質生産量に影響を及ぼす生理的メカニズムについては、これまでの研究ではブラックボックスとして扱われることが多かったといえる。これを明らかにすることは、学術的な観点から重要であるのみならず、メカニズムにもとづく合理的な環境調節法を確立する上でも有用である。

2. 研究の目的

本研究では、一過性遺伝子発現法を用いた植物利用型有用タンパク質生産において、遺伝子導入前後の環境要素の未解明の影響を明らかにすることを目的とした。また、遺伝子導入後の気温が有用タンパク質生産量に及ぼす影響のメカニズムの一端を、qPCR による遺伝子発現解析によって解明することも目的とした。インフルエンザワクチンタンパク質であるヘマグルチニン(HA)をモデルタンパク質として用いた。

まず、遺伝子導入後の CO₂ 濃度および光合成有効光量子束密度 (PPFD) の影響を調べた(1)。既往の研究で、遺伝子導入後の光照射の有無は重要であるが、PPFD の影響はさほど大きくないことが示されている (Matsuda et al. 2012)。他方、遺伝子導入後には気孔コンダクタンスが著しく低下することも示されている。本研究では、高 PPFD を、高 CO₂ 濃度と組み合わせることで、遺伝子導入後のバイオマス生産量の増大、および株あたりの HA 生産量の増大に寄与する可能性を検討した。

次に、遺伝子導入前の PPFD、気温、および CO₂ 濃度の影響を調べた(2)。遺伝子導入に際し、どのような植物体を準備するのが適当かについての知見を得ることを目指した。また、(2)の結果を受けて、遺伝子導入前栽培を、PPFD および気温をおおよそ一定に制御可能なグロースチャンバと、それらの環境要素レベルが日・季節変化する温室とでそれぞれ行なった場合の、HA 生産量への影響を調べた(3)。

さらに、遺伝子導入後の気温が各種遺伝子の転写産物量に及ぼす影響を調べた(4)。特に、25°C 程度で特異的に観察される葉のネクロシスに、小胞体ストレスあるいは過敏感反応が関与するという仮説を検証した。

3. 研究の方法

(1) 遺伝子導入後の CO₂ 濃度および PPFD が HA 生産量に及ぼす影響

播種後 35 日目のベンサミアナタバコ (*Nicotiana benthamiana*) に遺伝子を導入した。遺伝子導入には、magnICON システム (Gleba et al. 2007) を用いた。magnICON プラスミドベクターを有する組換えアグロバクテリウムを、減圧浸潤法によって葉内に導入した。導入後の CO₂ 濃度を

400 または 1,000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, 植被面 PPFD を 200 または 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とする, 計 4 処理区を設けた。遺伝子導入後 6 日目の葉の乾物重, 可溶性タンパク質 (TSP) 含量, および HA 含量を測定した。TSP 含量は Bradford 法により, HA 含量はサンドイッチ ELISA 法により, それぞれ定量した。

(2) 遺伝子導入前の PPFD, 気温, および CO₂ 濃度が HA 生産量に及ぼす影響

播種後 23 日目のベンサミアナタバコの苗を処理に供した。実験 1, 2, および 3 において, それぞれ PPFD, 気温, および CO₂ 濃度の影響を調べた。処理期間を前半 (播種後 23~29 日目) と後半 (同 30~36 日目) に分けた。実験 1 では, 前半-後半の PPFD を, それぞれ 100-100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (P100-100 区), 200-100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (P200-100 区), 200-200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (P200-200 区), 200-400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (P200-400 区), および 400-400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (P400-400 区) とした 5 区を設けた。実験 2 では, 前半-後半の明期気温を, それぞれ 20-20°C (T20-20 区), 25-20°C (T25-20 区), 25-25°C (T25-25 区), 25-30°C (T25-30 区), および 30-30°C (T30-30 区) とした 5 区を設けた。実験 3 では, 前半-後半の CO₂ 濃度を, それぞれ 400-400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (C400-400 区), 400-600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (C400-600 区), 400-800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (C400-800 区), 600-800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (C600-800 区), および 800-800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (C800-800 区) とした 5 区を設けた。播種後 36 日目に, 減圧浸潤法に供した。遺伝子導入後は, いずれの実験および処理区でも, PPFD 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 気温 21°C, CO₂ 濃度 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ とした。遺伝子導入後 6 日目の葉の生体重および HA 含量を測定した。

(3) 遺伝子導入前栽培をグロースチャンバまたは温室で行なった場合の HA 生産量への影響

2018 年 7 月から 2019 年 7 月にかけて, 実験を 8 回実施した。定植 (播種後 14 日目) から遺伝子導入 (同 35 日目) まで, グロースチャンバまたは温室でベンサミアナタバコを栽培した。グロースチャンバではすべての栽培で PPFD 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 明暗周期 16 h d⁻¹, 気温 25/20°C (明期/暗期) に制御した。温室では, 補光光源および空調設備により, 日平均 PPFD は 300~500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲内, 日平均気温は 22~25°C の範囲内に制御され, その範囲内で時間的に変動した。遺伝子導入後 7 日目の葉乾物重および HA 含量を測定した。

(4) 遺伝子導入後の気温が HA 遺伝子および葉のネクロシスに関わるマーカー遺伝子の発現量に及ぼす影響

播種後 35 日目のベンサミアナタバコに遺伝子を導入した。導入後の気温を 21 または 26°C とした。導入後 5 日目まで 24 h ごとに, HA 遺伝子, 小胞体ストレスマーカー遺伝子である *BiP*, *PDI*, および *bZIP60* 遺伝子, および過敏反応のストレスマーカー遺伝子である *PR1a* 遺伝子の転写産物量を qPCR 法により測定した。小胞体ストレス, 過敏反応は, いずれも *magnICON* を用いた一過性遺伝子発現法において葉のネクロシスを引き起こすトリガーとして示唆されているものである (Hamorsky et al. 2015)。また, 外観からネクロシスの程度を判定した。

4. 研究成果

(1) 遺伝子導入後の CO₂ 濃度および光合成有効光量子束密度 PPFD が HA 生産量に及ぼす影響

遺伝子導入後 6 日目の葉乾物重は, PPFD 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ よりも 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ において, 大きい傾向にあった。高 CO₂ 濃度の影響は, 反復した実験ごとに異なり, 高 CO₂ 濃度と高 PPFD を組み合わせた場合にのみ葉乾物重が若干大きくなる場合と, 差の認められない場合とがあった。他方, 葉乾物重あたり TSP 含量および HA 含量は, CO₂ 濃度 1,000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ および PPFD 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の処理区で他の 3 区より若干小さい場合と, 処理区間ではほぼ同程度の場合とがあった。個体あたり HA 含量には, いずれの実験でも 4 処理区間で有意差は認められなかった。これらのことから, 遺伝子導入後の CO₂ 濃度・PPFD 制御によるバイオマス生産の促進効果は, ほとんどないか, あってもわずかであり, また HA 生産量の増大をもたらすものではないことがわかった。遺伝子導入後の環境制御の考え方としては, バイオマス生産量の増大よりも, 有用タンパク質生産の促進, あるいはその分解の抑制を主眼とするのが望ましいと考えられる。

(2) 遺伝子導入前の PPFD, 気温, および CO₂ 濃度が HA 生産量に及ぼす影響

実験 1 では, P200-400 区および P400-400 区の葉生体重は, P100-100 区および P200-100 区のそれより有意に大きかった。葉生体重あたり HA 含量は, P400-400 区において P100-100 区および P200-100 区より有意に大きく, また処理期間中の平均 PPFD が高いほど大きい傾向にあった。この結果は, 高栽植密度条件, すなわち株あたりの受光量が小さい条件で, 葉生体重あたり HA 含量が小さかったとした Fujiuchi et al. (2017) の結果と同様であった。葉生体重と葉生体重あたり HA 含量の積である株あたり HA 集積量は, P200-400 区および P400-400 区において, P100-100 区および P200-100 区より有意に大きかった。すなわち, 遺伝子導入前の高 PPFD は, 葉の生体重を大きくすることのみならず, 葉生体重あたり HA 含量をも大きくすることにより, 株あたり HA 集積量を大きくしたといえる。

実験 2 では, T25-25 区および T25-30 区の葉生体重あたり HA 含量は, T20-20 区のそれより有意に大きかった。また, 株あたり HA 集積量は, T25-25 区および T25-30 区において, T20-20 区および T25-20 区より有意に大きかった。これらの結果から, HA 生産量を高める上では, 遺伝

子導入前気温 25 ~ 30°Cの方が 20°Cより適するといえる。本研究と同じ材料を用いた場合、遺伝子導入後の適温は 20 ~ 22°C程度であり、25°C以上では遺伝子導入後 6 日目の葉の HA 含量が著しく小さくなる (Matsuda et al., 2012, 2017a, b) ことから、遺伝子導入前後の栽培適温が異なることが確認された。

実験 3 では、いずれの測定項目においても、CO₂濃度の異なる処理区間に有意差は認められなかった。この一因は、ペンサミアナタバコの光合成およびバイオマス生産能力が低く、いずれの CO₂濃度の栽培条件でも、おおむねポテンシャルに近い生長速度となっていることにあると推察された。

以上の結果から、遺伝子導入前の PPFD および気温は HA 生産量に影響を及ぼすこと、および調べた範囲内では、それぞれ 400 μmol m⁻² s⁻¹ および 25 ~ 30°C が HA 生産量を高める上で適当であることがわかった。

(3) 遺伝子導入前の PPFD および気温の時間変動が HA 生産量に及ぼす影響

葉乾物重は、全体を通してグロースチャンパーの方で大きかった。他方、乾物重あたり HA 含量では、グロースチャンパーと温室間での差は大きくなく、温室における遺伝子導入前の栽培環境の変動が HA 生産量のばらつきに及ぼす影響は必ずしも明瞭ではなかった。今回用いたような、内部の PPFD および気温を一定の範囲内に制御可能な温室を用いれば、遺伝子導入前の栽培環境の変動が HA 生産量のばらつきに及ぼす影響は大きくないものと考えられる。

(4) 遺伝子導入後の気温が HA 遺伝子および葉のネクロシスに関わるマーカー遺伝子の発現量に及ぼす影響

気温 26°C では、遺伝子導入後 4 日目以降、葉のネクロシスが観察された。他方、21°C では、明瞭なネクロシスは観察されなかった。これらの傾向は、Matsuda et al. (2017a) で報告されたものと同様である。26°C では、21°C と比較して、遺伝子導入後 3 日目の *BiP* および *bZIP60* 遺伝子の転写産物量が多い傾向にあった。*PR1a* 遺伝子の転写産物量には気温間で差は認められなかった。これらのことから、26°C で特異的に観察される葉のネクロシスに、小胞体ストレスが関与する可能性が高いと考えられる。他方、HA 遺伝子の転写産物量の経日変化パターンは、反復した実験ごとに幾分異なり、研究期間内には明確な結論が得られなかった。気温 21°C と 26°C では、HA タンパク質含量の経日変化パターンが異なることがわかっているが (Matsuda et al. 2017a)、このタンパク質レベルでの差は、遺伝子の転写レベルでの差だけで説明できるものではなく、翻訳、翻訳後修飾、あるいは分解の差も影響している可能性がある。今後は、追加実験により、栽培バッチごとの差をもたらす因子を明らかにする必要があると考える。

< 引用文献 >

- Fujiuchi N, Matsuda R, Matoba N, Fujiwara K (2014) Effect of nitrate concentration in nutrient solution on hemagglutinin content of *Nicotiana benthamiana* leaves in a viral vector-mediated transient gene expression system. *Plant Biotechnol* 31:207–211
- Fujiuchi N, Matsuda R, Matoba N, Fujiwara K (2016) Removal of bacterial suspension water occupying the intercellular space of detached leaves after agroinfiltration improves the yield of recombinant hemagglutinin in a *Nicotiana benthamiana* transient gene expression system. *Biotechnol Bioeng* 113: 901–906
- Fujiuchi N, Matsuda R, Matoba N, Fujiwara K (2017) Effects of plant density on recombinant hemagglutinin yields in an *Agrobacterium*-mediated transient gene expression system using *Nicotiana benthamiana* plants. *Biotechnol Bioeng* 114:1762–1770
- Gleba Y, Klimyuk V, Marillonnet S (2007) Viral vectors for the expression of proteins in plants. *Curr Opin Biotechnol* 18:134–141
- Hamorsky KT, Kouokam JC, Jurkiewicz JM, Nelson B, Moore LJ, Husk AS, Kajiura H, Fujiyama K, Matoba N (2015) *N*-Glycosylation of cholera toxin B subunit in *Nicotiana benthamiana*: impacts on host stress response, production yield and vaccine potential. *Sci Rep* 5:8003
- Matsuda R, Abe T, Fujiuchi N, Matoba N, Fujiwara K (2017a) Effect of temperature post viral vector inoculation on the amount of hemagglutinin transiently expressed in *Nicotiana benthamiana* leaves. *J Biosci Bioeng* 124:346–350
- Matsuda R, Abe T, Fujiwara K (2017b) Viral vector-based transient gene expression in *Nicotiana benthamiana*: effects of light source on leaf temperature and hemagglutinin content. *Plant Cell Rep* 36:1667–1669
- Matsuda R, Tahara A, Matoba N, Fujiwara K (2012) Virus-vector mediated rapid protein production in *Nicotiana benthamiana*: effects of temperature and photosynthetic photon flux density on hemagglutinin accumulation. *Environ Control Biol* 50:375–381

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Matsuda, R., A. Ueno, H. Nakaigawa, K. Fujiwara	4. 巻 9
2. 論文標題 Gas exchange rates decrease and leaf temperature increases in <i>Nicotiana benthamiana</i> leaves transiently overexpressing hemagglutinin in an <i>Agrobacterium</i> -assisted viral vector system	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1315
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2018.01315	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 松田 怜・藤内直道	4. 巻 44
2. 論文標題 植物を利用した医薬用タンパク質生産のための環境調節	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 関東の農業気象	6. 最初と最後の頁 6-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Matsuda, R., T. Kushibiki, N. Fujiuchi, K. Fujiwara	4. 巻 59
2. 論文標題 Agroinfiltration of leaves for deconstructed viral vector-based transient gene expression: infiltrated leaf area affects recombinant hemagglutinin yield	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Horticulture, Environment, and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 547-555
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s13580-018-0047-6	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 -
1. 著者名 Matsuda, R., A. Ueno, K. Fujiwara	4. 巻 75
2. 論文標題 Effects of environmental conditions before gene transfer on the amount of influenza hemagglutinin transiently expressed in <i>Nicotiana benthamiana</i> leaves	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural Meteorology	6. 最初と最後の頁 129-136
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2480/agrmet.D-18-00050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Matsuda, R., N. Fujiuchi, K. Fujiwara
2. 発表標題 Environmental control for recombinant protein production in plants using transient gene expression technology
3. 学会等名 GreenSys 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Matsuda, R.
2. 発表標題 Environment control for recombinant protein production in Nicotiana benthamiana plants using a transient gene expression system
3. 学会等名 PMPAsia 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松田 怜
2. 発表標題 人工光型植物工場は必要なのか？
3. 学会等名 日本農業気象学会75周年記念大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Matsuda, R.
2. 発表標題 Environment control for plant-based biopharmaceutical protein production using transient gene expression technology
3. 学会等名 The 3rd Trilateral (Korea-China-Japan) Research Association of Plant Biotechnology Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松田 怜・上野彰大・富士原和宏
2. 発表標題 —過性遺伝子発現法における遺伝子導入前の栽培環境が葉内ワクチン含量に及ぼす影響
3. 学会等名 日本農業気象学会2019年全国大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Matsuda, R.
2. 発表標題 Plant-based influenza hemagglutinin production under controlled environment: efforts toward optimizing plant growth conditions for a transient gene expression system
3. 学会等名 PBVAB 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsumi, K., Y. Oh, N. Matoba, K. Fujiwara, R. Matsuda
2. 発表標題 The effect of temperature post inoculation on hemagglutinin transcription in Nicotiana benthamiana leaves in Agrobacterium-mediated transient gene expression
3. 学会等名 PBVAB 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Matsuda, R.
2. 発表標題 Engineering, physiology, and biotechnology: research efforts toward next-generation controlled environment agriculture
3. 学会等名 American Society for Horticultural Science 2019 Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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	富士原 和宏 (FUJIWARA Kazuhiro) (30211535)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授 (12601)	
研究 協力者	的場 伸行 (MATOBA Nobuyuki)		