

平成21年 5月 11日現在

研究種目：基盤研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19380067
 研究課題名 (和文) プログラム細胞死である過敏感反応の植物免疫における役割とその誘導機構
 研究課題名 (英文) Induction mechanism of plant hypersensitive cell death

研究代表者
 蔡 晃植 (SAI KOUSHOKU)
 長浜バイオ大学・バイオサイエンス研究科・教授
 研究者番号：00263442

研究成果の概要：

植物免疫反応である過敏感細胞死誘導に OsNAC4 という植物特有の転写調節因子が分子スイッチとして関与することを示した。また、OsNAC4 は過敏感細胞死誘導時にセリン残基のリン酸化によって核に移行し、少なくとも 139 個の遺伝子の発現を制御することを明らかにした。さらに、これらの遺伝子の中で OsHSP90 は細胞膜の透過性喪失に、IREN は核 DNA の断片化に関与することを初めて明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	8,300,000	2,490,000	10,790,000
2008年度	7,100,000	2,130,000	9,230,000
年度			
年度			
年度			
総計	15,400,000	4,620,000	20,020,000

研究分野：植物分子生理学

科研費の分科・細目：農芸化学・生物生産化学・生物有機化学

キーワード：植物免疫、フラジェリン、タンパク質リン酸化、エリシター、過敏感細胞死、植物病原菌、小胞体、細胞膜

1. 研究開始当初の背景

植物は多くの菌と接触の機会を持つが、ほとんどの場合、植物が菌の侵入を感知し免疫システムを誘導することによって感染は成立しない。植物が有する植物免疫システムの中で過敏感細胞死は感染の早期に誘導される免疫反応であり、核 DNA の断片化や細胞膜の透過性喪失、特徴的な形態変化を伴うプログラム細胞死であることが知られていた。過敏感細胞死は病原菌認識後に誘導されることから、この誘導には病原菌認識とその情報

の細胞内伝達が必須であることが示されていたが、その誘導の分子機構についてはほとんど明らかになっていなかった。

我々はこれまで、イネに対して非病原性の植物病原細菌を接種すると、細胞膜の透過性喪失や核 DNA の断片化、特徴的な細胞の形態変化を伴う過敏感細胞死が誘導されることを明らかにした。さらに、この過敏感細胞死の誘導には新規のタンパク質合成やタンパク質リン酸化、Ca²⁺シグナルなどが必須であることを明らかにした。さらに、この過敏感

細胞死誘導に先だって OsNAC4 という植物独自の転写因子が発現誘導されることを見出した。このことから、過敏感細胞死誘導は OsNAC4 という転写因子によって遺伝子の発現レベルで制御されている可能性が提示された。以上のことから、OsNAC4 を中心とした過敏感細胞死誘導の分子メカニズムを研究することが必要となっていた。

2. 研究の目的

植物免疫反応の中で過敏感反応は、非親和性菌感染時に認められ、菌の感染部位周辺に局所的に認められる興味深い細胞死である。我々は、この過敏感細胞死がプログラム細胞死であること、この細胞死の誘導には新規のタンパク質合成、リン酸化シグナル、Ca²⁺シグナル、活性酸素シグナルが必須であることを明らかにしてきた。そして、この細胞死を誘導する中心的因子として植物独自の転写因子である OsNAC4 を初めて明らかにすることができた。そこで、本研究では OsNAC4 転写因子を中心とした過敏感細胞死の誘導機構を分子レベルで明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) イネにおける OsNAC4 の過敏感細胞死誘導

OsNAC4 遺伝子をイネ細胞内で過剰発現する *OsNAC4-pAHC17* ベクターを作成し、パーティクルボンパードメント法によりイネ培養細胞に導入した後、エバンスブルー染色や TUNEL 法によって細胞膜透過性喪失や核 DNA 断片化を調べた。

(2) OsNAC4 の細胞内における局在確認

OsNAC4 遺伝子に *DsRed* を融合させたベクターをイネプロトプラストに PEG 法を用いて導入し、共焦点顕微鏡で観察した。また、過敏感細胞死誘導時における OsNAC4 の局在確認は作成した OsNAC4 抗体を用いた免疫電顕で行った。過敏感細胞死誘導における OsNAC4 の核への移行の重要性を明らかにするため、イネにおいて核外輸送シグナル (NES : Nuclear Export Signal) をもつ *OsMPI* の NES 部位 (Leu⁵⁴~Gln⁶⁹) を *OsNAC4-DsRed* と融合させ、細胞に導入後、局在と細胞死誘導について調べた。

(3) 過敏感細胞死誘導へのタンパク質リン酸化の関与

単離したプロトプラストに OsNAC4 を発現させ、リン酸化阻害剤である Staurosporine による過敏感細胞死誘導阻害をエバンスブルー染色で確認した。過敏感細胞死を誘導さ

せたイネプロトプラストから細胞質画分と核画分をそれぞれ単離し、OsNAC4 抗体を用いた免疫沈降を行った後、抗リン酸化セリン抗体を用いてタンパク質リン酸化について調べた。また、セリン残基を置換した OsNAC4-DsRed を発現するベクターを作成し、細胞内局在がどのように変化するかを共焦点顕微鏡を用いて明らかにした。

(4) OsNAC4 の下流で制御される遺伝子の探索

OsNAC4-RNAi 株およびコントロール株に、それぞれ過敏感細胞死誘導の処理を行い、経時的に細胞から RNA を抽出した。抽出した RNA をもとに合成した cRNA を用いてそれぞれハイブリダイゼーションを行った後、Cy3 と Cy5 の蛍光画像を得た。アレイ上全ての Cy3 シグナルと Cy5 シグナルを用いてグローバルノーマライゼーションを行った後、分散分析 (ANOVA) および Benjamini and Hochberg 法 (FDR : False Discovery Rate = 0.01) による多重検定により、過敏感細胞死誘導時に *OsNAC4*-RNAi 株およびコントロール株において発現パターンが異なる遺伝子の抽出を行った。さらに、抽出された遺伝子を用いて t 検定 ($p < 0.01$) を行い、コントロール株において誘導され *OsNAC4*-RNAi 株にて誘導されない遺伝子を抽出した。

(5) OsHSP90 および IREN の過剰発現による細胞死誘導解析

マイクロアレイ解析により同定した OsHSP90 および IREN が、過敏感細胞死誘導時に、イネ培養細胞に実際に特異的に過剰発現しているかを Real time RT-PCR によって調べた。次に、*OsHSP90* および *IREN* を細胞内で一過的に過剰発現させることが出来るベクターをそれぞれ作製し、PEG 法で導入した後、過敏感細胞死誘導をエバンスブルー染色と TUNEL 法によって調べた。OsHSP90 および IREN の細胞内局在については、蛍光タンパク質である Venus とそれぞれ融合させ、細胞に導入後、共焦点顕微鏡で調べた。

4. 研究成果

(1) 過敏感細胞死における OsNAC4 の役割 ① OsNAC4 によるイネの過敏感細胞死誘導確認

まず、実際にイネ細胞内で *OsNAC4* を過剰発現することで、過敏感細胞死が引き起こされるかどうかを明らかにするために、イネ培養細胞および単離したプロトプラストに *OsNAC4* を一過的に過剰発現させた。植え継ぎ後 4 日目のイネ培養細胞へ、恒常的発現を示すトウモロコシのエビキチンプロモーターの下流に *OsNAC4* を連結した *pAHC17-OsNAC4*

ベクターとコントロールとして *pAHC17* をパーティクルガン用の金粒子に塗し、各々イネ培養細胞内に導入した。この時、*pAHC17-DsRed* も同時に導入し、*pAHC17-OsNAC4* ベクターとコントロール *pAHC17* ベクターが導入された細胞は、DsRed 由来の蛍光が観察されるようにした。それぞれのベクター導入から 6、8、10、12 時間後のイネ培養細胞を回収して TUNEL 反応を行った結果、*pAHC17-OsNAC4* を導入したプロトプラストは、導入から 6 時間後の細胞で DsRed と TUNEL による FITC の蛍光発色が共に観察された。このような DsRed 由来の蛍光が認められる細胞における TUNEL 由来の蛍光の観察は、*pAHC17-OsNAC4* の導入後、8、10、12 時間においても認められた。これに対して、*pAHC17* のみを導入したプロトプラストでは、DsRed 由来の蛍光は確認出来たが、TUNEL による FITC の蛍光は確認されなかった。

また、イネプロトプラストに、上記の *pAHC17-OsNAC4* ベクターおよび *pAHC17* ベクターを導入し、エバンスブルー染色により死細胞を染色したところ、*pAHC17-OsNAC4* を導入したプロトプラストでは、導入された細胞のほぼ 100% の細胞がエバンスブルーにより染色されていたことが観察された。これに対して、コントロールベクターである *pAHC17* のみを導入したプロトプラストでは、遺伝子導入後 24 時間におけるエバンスブルーによる細胞の染色は 10% 程度しか認められなかった (図 1)。

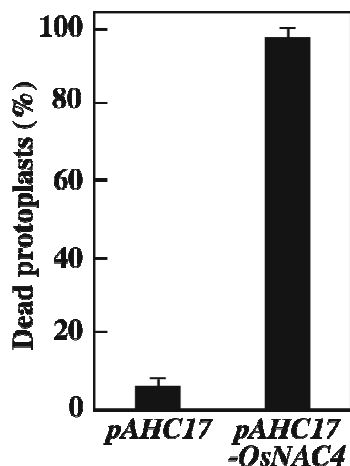


図 1 イネプロトプラストにおける過敏感細胞死

②OsNAC4 の細胞内における局在確認

OsNAC4 に DsRed を融合した蛍光タンパク質を発現するベクターをイネ細胞に導入したところ、*OsNAC4-DsRed* を導入したプロトプラストでは、導入された細胞の核においてのみ DsRed の蛍光が観察された。次に、過敏感細胞死誘導時に OsNAC4 がどこに存在するのかを免疫電子顕微鏡観察で調べた。その結果、ほとんどの OsNAC4 は過敏感細胞死誘導時に核に存在することが認められた。一方、過敏

感細胞死を誘導していない細胞では、細胞質と核に均一に存在していた

次に、OsNAC4 の核への局在が、OsNAC4 が過敏感細胞死を引き起こす上で必須かどうかを調べるため、NES (Nuclear Export Signal) を OsNAC4 の N 末端側に付加した *pAHC17-NES-OsNAC4-DsRed* ベクターを作製しイネ細胞に導入した。その結果、*pAHC17-OsNAC4-DsRed* を導入したプロトプラストにおいて DsRed 由来の蛍光が核でのみ認められたのに対し、OsNAC4 に NES を付加した *pAHC17-NES-OsNAC4-DsRed* ベクターを導入したプロトプラストにおいては、核だけでなく細胞質においても DsRed の蛍光が確認された。このとき、同細胞を用いてエバンスブルー染色を行ったところ、*pAHC17-OsNAC4-DsRed* を導入したプロトプラストがほぼ 100% 染色されたのに対し、*pAHC17-NES-OsNAC4-DsRed* を導入したプロトプラストでは、60% 程度の細胞においてのみエバンスブルーによる染色が認められた。以上のことから、OsNAC4 による過敏感細胞死誘導には核への移行が必須であることが示された。

これまで報告された NAC 転写因子における核移行シグナル NLS (Nuclear Localization Signal) の情報に基づいて OsNAC4 配列を解析したところ、OsNAC4 では Thr⁸³~Arg⁹⁵ と Ile¹²²~Lys¹³⁸ の 2 カ所において報告された NLS が高度に保存されていた。そこで、この 1 つめの NLS 領域 (Thr⁸³~Arg⁹⁵) の欠損、2 つめの NLS 領域 (Ile¹²²~Lys¹³⁸) の欠損、2 カ所の NLS 両方を欠損させた 3 種類のベクターを作製した。その結果、NLS を 1 つずつ欠損したベクターと 2 カ所の NLS 領域を両方欠損したベクターすべてにおいて核で DsRed の蛍光が認められたことから、OsNAC4 ではこの 2 カ所が NLS として機能しているのではないことが示された。そこで、実際に OsNAC4 のどの部位が核への移行に関与しているかを詳細に調べるため、OsNAC4 を部分的に欠損した OsNAC4 deletion mutant ベクターを作製した。その結果、OsNAC4 の NLS 領域は N 末端部分の NAC ドメイン内に存在することが明らかになった。

③OsNAC4 の核局在へのリン酸化の関与

タンパク質のリン酸化が OsNAC4 の誘導する細胞死に関与するかをセリン/スレオニン型キナーゼの阻害剤である Staurosporine を用いて調べた。その結果、Staurosporine は、OsNAC4 による細胞死誘導をほぼ完全に抑制することが明らかになった。そこで、次に OsNAC4 の核移行にタンパク質リン酸化が関与しているかどうかを調べた。その結果、Staurosporine を添加した細胞においては過敏感細胞死誘導の刺激を与えても OsNAC4 がほとんど核に移行せず細胞質に蓄積するこ

とが示された。また、OsNAC4 の核移行におけるリン酸化の関与が、OsNAC4 タンパク質自身のリン酸化に由来するのかを調べるため、細胞質画分と核画分における OsNAC4 の抗リン酸化セリン抗体を用いたウエスタンブロット解析を試みた。その結果、核画分に存在する OsNAC4 のみがリン酸化されていることが明らかとなり、OsNAC4 タンパク質はリン酸化されることにより、核に移行することが示された。さらに、OsNAC4 におけるどのアミノ酸部位がリン酸化されるかを調べるため、様々なアミノ酸置換 OsNAC4 を作成し、核への移行を調べたところ、NLS が存在していると思われる NAC ドメイン内に含まれる 4 カ所のセリンはリン酸化と核への移行に関与しないことが明らかとなった。

(2) OsNAC4 の下流で機能する遺伝子の同定とその機構解析

①OsNAC4 の下流で発現制御される遺伝子の同定

OsNAC4 の RNAi 抑制形質転換体を用いてマイクロアレイを行った。その結果、過敏感細胞死誘導時に発現パターンが有意に変化している遺伝子として、3,288 遺伝子を同定した。こうして得られた遺伝子の中から *OsNAC4*-RNAi 株とコントロール株の間において異なる発現パターンを示す遺伝子を探索したところ、139 個を同定した。

②OsHSP90 と IREN の同定

上記の 139 個の遺伝子の中から、分子シャペロンとして知られている OsHSP90 (*Oryza sativa* heat shock protein 90) をコードする遺伝子と IREN (Immune-related endonuclease) と名付けた EF ハンドモチーフを持つ Ca²⁺依存型エンドヌクレアーゼ様分子をコードする遺伝子を過敏感細胞死誘導に関与する遺伝子候補として選抜した。(図 2)。まず、OsHSP90 および IREN の過敏感細胞死誘導時における発現パターンを Real time RT-PCR を用いて調べた。その結果、*OsHSP90* は、過敏感細胞死誘導 3 時間後に発現誘導が認められその後低下するという一過的な増加発現パターンを示すことが明らかになった。一方、*IREN* は 6 時間後で発現誘導されることが認められた。

③OsHSP90 および IREN の細胞内局在の確認

OsHSP90 および IREN の細胞内局在を蛍光タンパク質である Venus を用いて解析した。その結果、*OsHSP90*-Vnuse を導入したプロトプラストでは、蛍光が小胞体で認められ、*IREN*-Vnuse を導入したプロトプラストでは、核で蛍光が認められた。以上のことから、OsHSP90 は主に小胞体に、IREN は核に局在することが明らかになった。



IREN : Immune-related endonuclease



OsHSP90 : *Oryza sativa* heat shock protein 90

図 2 IREN と OsHSP90 の模式図

④OsHSP90 と IREN の過敏感細胞死誘導への関与

OsHSP90 および *IREN* が、実際に過敏感細胞死誘導に関与するかどうかを、TUNEL 法およびエバンスブルー染色により調べた。その結果、*OsHSP90* を導入した細胞では細胞膜の透過性喪失が認められたが、核 DNA の断片化は誘導されていなかった。一方、*IREN* を導入した細胞では核 DNA の断片化が誘導されていたが、細胞膜の透過性喪失は誘導されなかった。さらに、*OsHSP90* による細胞膜透過性の喪失は HSP90 の機能を阻害するゲルダナマイシンの添加によって阻害されたことから、細胞膜の透過性喪失には *OsHSP90* の分子シャペロンとしての機能が必須であることが明らかになった。以上のことから、*OsNAC4* によって発現誘導された *OsHSP90* はその分子シャペロンとしての機能を介して細胞膜の透過性喪失を引き起こすと同時に、*IREN* は Ca²⁺依存的に DNA の断片化を引き起こしていることが明らかになった。

(3) 考察および今後の展望

本研究では植物の免疫反応の一つである過敏感細胞死が *OsNAC4* という転写因子によって制御されており、細胞死の実行にはこの下流で発現制御される *OsHSP90* と *IREN* が関与することを初めて明らかにすることが出来た。

①過敏感細胞死誘導における分子スイッチとしての *OsNAC4*

OsNAC4 は通常、細胞質と核に均等に存在しており、過敏感細胞死シグナルにより核へ移行することが明らかになった。植物の転写因子が核へと移行するためには核移行シグナル (NLS) が必要である。今回、*OsNAC4* に存在する NLS を調べたところ、これまでに *AtNAC1* や *OsNAC6* において NLS と報告されている NLS 領域が *OsNAC4* においても存在することが示された。しかし、NLS 領域を欠損させた *OsNAC4* も核に移行することが示されたことから、これまで報告されている NLS 領域

は、OsNAC4 では核移行に関与しないと思われる。一般的に、NLS は塩基性アミノ酸にとんだ配列であることが特徴である。植物では NLS 配列は 3 パターン存在すると考えられている。我々は、様々な部分を欠損させた OsNAC4 を作成し、それぞれの局在を調べ、OsNAC4 の Leu²¹~Ile⁵² および Thr¹³⁹~Lys¹⁷⁵ という領域に含まれる、HYLCRKVAR (His³⁷~Arg⁴⁵) や RAPGGKKGSK (Arg¹⁵³~Lys¹⁶³) といった塩基性アミノ酸が、核移行シグナル (NLS) として作用している可能性を提示した。この NLS 領域とタンパク質リン酸化による核移行制御方法を研究することによって、これまで知られていないタンパク質の分子輸送制御方法を明らかにすることが出来るものと考えられる。OsNAC4 は、非病原性菌株を接種した細胞だけでなく、OsNAC4 を過剰発現させたイネプロトプラストにおいても核に局在することが示された。通常時に OsNAC4 が細胞内において細胞質と核に均等に分布していることを考えると、OsNAC4 の核への移行は細胞内における OsNAC4 の蓄積量によって制御されている可能性があると考えられる。今後、この機構についても明らかにすることが必要となるであろう。

②OsNAC4 によって発現制御される遺伝子

OsNAC4 の RNAi 抑制形質転換体を用いたマイクロアレイ解析を行った結果、OsNAC4 によって発現制御される 139 個の遺伝子を同定することが出来た。こうして得られた 139 個の遺伝子を、機能別に分類したところ、転写因子は全体の約 12% であり、多くの転写因子が OsNAC4 によって発現制御されていることが示された。これまでに植物では、様々なシグナル応答においていくつかの転写因子が相互に発現誘導調節を行っていることが報告されている。例えば、サリチル酸を介した HSP70 の発現誘導および蓄積には、hsfA1、hsfA2、hsfB1 という 3 つの Hsf (Heat shock factor: 熱ショック転写因子) が必須であることが報告されている。これらは、相互転写調節によってそれぞれの因子がシークエンシャルに発現し、さらなる転写制御によりそれぞれの現象を誘導していると考えられている。OsNAC4 の下流にこれだけ多くの転写因子の発現が制御されたことを考えると、植物の過敏感細胞死誘導においてもこれら転写因子の時間的、空間的に統制された発現誘導が必要なかもしれない。これら転写因子同士のクロストークに関してはほとんど知見が得られていないが、今後、植物の免疫応答を解明していく上で解析が必要となってくるであろう。

③過敏感細胞死誘導の分子モデル

本研究によって初めて明らかになった植

物の過敏感細胞死誘導の分子機構について考えてみたい。植物が非病原性細菌などの侵入を感知すると、この情報は細胞内に伝達される。この伝達されてきた情報によって核で OsNAC4 が発現誘導されると同時に、細胞質で OsNAC4 タンパク質の蓄積が生じる。細胞質における OsNAC4 の蓄積はタンパク質リン酸化酵素の活性化を引き起こし、OsNAC4 のセリン残基がリン酸化される。OsNAC4 のタンパク質リン酸化は核への移行を引き起こすと同時に、核内において少なくとも 139 個の遺伝子発現を制御する。OsNAC4 によって発現誘導された、OsHSP90 は細胞質から小胞体に移行し、細胞膜の膜透過性の喪失を引き起こし、IREN は細胞質から再度核に移行し、DNA の断片化を誘導する (図 3)。

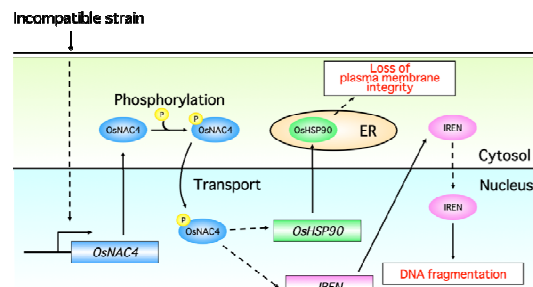


図 3 過敏感細胞死誘導の分子機構

④今後の展望

本研究によって植物の過敏感細胞死誘導の分子機構を初めて明らかにすることが出来た。今回の研究で得られた結果は、植物は動物とは異なるシステムでプログラム細胞死を誘導しているという初めての報告であり、細胞膜の透過性喪失に小胞体の分子シャペロンが関与するだけでなく、核の DNA の断片化とは異なる経路によって制御されているという興味深い知見を与えた。このようなことから、本研究結果は国際的にも非常に高く評価された。

一方、本研究では、植物による過敏感細胞死シグナルの認識機構やその細胞内情報伝達システムに関して知見を得ることが出来なかった。さらに、本研究遂行過程で新たに OsNAC4 のタンパク質リン酸化部位やこれに関わるリン酸化酵素、OsNAC4 が結合する特異的な DNA 配列の同定、OsHSP90 による細胞膜喪失や IREN による DNA 切断様式の機構などの新たな疑問も生じた。これらを明らかにすることが過敏感細胞死誘導機構の分子レベルでの理解には必須であり、これからも高いレベルでの研究を継続する必要がある。このような継続的な研究によって、人為的に植物の生死をコントロールすることが可能になり、特定の植物だけを死滅させる除草剤の開発や植物の腫瘍に細胞死を誘導し植物の病気を治療することなどにつながっていくものと考えられる。

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7件)

- ① Kaneda, T., Taga, Y., Takai, R., Iwano, M., Matsui, H., Takayama, S., Isogai, A., Che F. S. (2009) The transcription factor OsNAC4 is a key positive regulator of plant hypersensitive cell death. EMBO Journal, 926-936. 査読有
- ② Takakura, Y., Che, F. S., Ishida, Y., Tsutsumi, F., Kurotani, K., Usami, S., Isogai, A., and Imaseki, H. (2008) Expression of a bacterial flagellin gene triggers plant immune responses and confers disease resistance in transgenic rice plants. 9, 525-529. 査読有
- ③ Kaneda T., Fujiwara S., Takai R., Takayama S., Isogai A., Che F. S. (2007) Identification of genes involved in induction of plant hypersensitive cell death Plant Biotech. 24, 191-200. 査読有
- ④ Takai R., Kaneda T., Isogai A., Takayama S., Che F. S. (2007) A new method of defense response analysis using a transient expression system in rice protoplast. Biosci. Biotech. Biochem. 71, 590-593. 査読有

[学会発表] (計17件)

- ①多賀有里、金田隆志、松井弘善、蔡晃植、転写因子 OsNAC4 が関与する過敏細胞死の機構解析。2007年感染生理談話会、2007年8月9日、京都
- ②多賀有里、松井弘善、金田隆志、磯貝彰、高山誠司、蔡晃植、OsNAC4 により誘導される過敏細胞死の機構解析。第49回日本植物生理学会、2008年3月20日、札幌
- ③松井弘善、多賀有里、岩野恵、磯貝彰、蔡晃植、過敏細胞死誘導時における OsNAC4 の局在とその制御機構。日本農芸化学会 2008年大会、2008年3月28日、名古屋
- ④多賀有里、金田隆志、松井弘善、岩野恵、磯貝彰、高山誠司、蔡晃植、転写因子 OsNAC4 によって誘導されるイネ過敏細胞死の機構解析。第31回日本分子生物学会 2008年度年会、2008年12月10日、神戸
- ⑤松井弘善、多賀有里、日比野孝紀、岩野恵、

磯貝彰、蔡晃植、植物転写因子 OsNAC4 により転写制御される遺伝子群を介した過敏細胞死の誘導。第50回日本植物生理学会年会、2009年3月21日、名古屋

- ⑥神村麻友、藤原沙都姫、笹木亮志、濱本訓行、磯貝彰、高山誠司、蔡晃植、イネの免疫応答における細胞内 Ca²⁺の役割と OsCPK の関与。2009年度日本農芸化学会年会、2009年3月28日、福岡

[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]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

蔡 晃植 (SAI KOUHOKU)

長浜バイオ大学・バイオサイエンス研究科・教授

研究者番号：00263442

(2) 研究分担者

今村 綾 (IMAMURA AYA)

長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・講師

研究者番号：50410965

(3) 連携研究者

なし