

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24310152

研究課題名(和文) 癌抑制タンパク質 p53 の多量体化と配向化を基盤とした生物イベント制御と機能解明

研究課題名(英文) Control of Bioreaction via Oligomerization and Orientation of Tumor Suppressor Protein p53 Tetramer

研究代表者

坂口 和靖 (SAKAGUCHI, Kazuyasu)

北海道大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00315053

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,100,000円

研究成果の概要(和文)：生体機能分子の多量体化と配向化は、機能制御および機能拡張の手段として、生物が獲得した極めて有効な戦略である。本研究では、多量体化と配向化を基盤として、生物イベントであるバイオミネラルリゼーションを対象に、p53四量体形成ドメインをトポロジー分子素子として用いて金属ナノ粒子形成コントロールとその制御機構および機能解析を実施した。その結果、機能分子であるバイオミネラルリゼーションペプチドのトポロジー分子素子を介した多量体化と配向化により、金属ナノ粒子の形成および構造が制御され、さらに高機能化が可能であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Oligomerization and spatial orientation is a highly effective strategy for control and extension of functions of biomaterials. In this study, we selected biomineralization as a bioreaction and the p53 tetramerization domain structure as a spatial control element. We evaluated the effect of precisely defining the spatial orientation, arrangement and valency of the biomineralization peptide on the produced nanostructures. The results clearly have demonstrated that oligomerization and spatial orientation of biomineralization peptides via the spatial control element can effectively control the formation, structures and functions of metal nanoparticles.

研究分野：生物分子化学

キーワード：ペプチド 生物活性 多量体化 配向化 ナノマテリアル

1. 研究開始当初の背景

生命現象の主たる担い手であるタンパク質の活性や機能は、極めて厳密に制御されており、その重要な制御機構の一つがホモおよびヘテロ多量体化である。多量体化は、タンパク質の機能拡張の手段として、生物が獲得した極めて有効な戦略であり、標的分子への結合活性の著しい増強、相互作用における配向の制御、アロステリック効果およびドミナントネガティブ効果の獲得をもたらす。

バイオミネラリゼーションは、生体分子によって無機マテリアル形成が促進される現象であり、骨形成をはじめとした極めて重要な生物イベントである。また、バイオミネラリゼーションの応用は、最も期待される無機ナノマテリアル作製法の1つであり、現在までにバイオミネラリゼーション活性を持つバイオミネラリゼーションペプチド（以下、BM Pep）が多数同定されている。しかしながら、これら BM Pep の活性は高いとは言えず、生じる無機物の形状は不均一であり、新規ナノマテリアル創製への障害となっている。

癌抑制タンパク質 p53 は、細胞癌化の防止における中枢を担うタンパク質であり、その癌抑制機能の発現のためには四量体の形成が必須である。そのため癌抑制遺伝子 p53 の変異は、ヒト悪性腫瘍で最も多く認められる異常であり、臨床材料における変異の種類や頻度から生物学的意義まで、広範囲の研究が行われてきている。

p53 四量体形成ドメインは β -ストランド (326-333 位)、ターン (334 位)、 α -ヘリックス (335-356 位) の単量体より成り、2つの単量体が逆平行 β -シートの形成と α -ヘリックス間の相互作用によって二量化し、この2個の二量体が4ヘリックスバンドルによって会合することで四量体は形成される (図1)。また、この四量体構造は、模式的に立方体とみなすことができ、4個のN末端が立方体頂点に配置されたユニークなトポロジーを有しており、トポロジー分子素子として極めて興味深い (図1)。

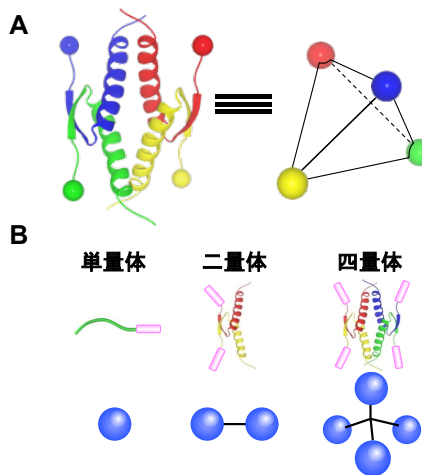


図1 トポロジー分子素子としての p53四量体形成ドメイン

2. 研究の目的

本研究では、癌抑制タンパク質 p53 の多量体形成を基盤とした生物イベントの反応コントロールと制御機能を目指し、生物イベントとしてバイオミネラリゼーションを対象として、p53 四量体形成ドメインをトポロジー分子素子として用いて解析を実施した。多量体化・配向制御 BM Pep の活性および形成された金属ナノ粒子の解析、多量体化・配向制御 BM Pep のミネラリゼーション反応機構の解明、さらに形成された金属ナノ粒子の機能解析を実施した。

3. 研究の方法

(1) ペプチドの調製: p53 四量体形成ドメインペプチドおよび BM Pep を含むすべてのペプチドは、Fmoc 固相合成法による化学合成あるいは大腸菌発現により調製した。

(2) バイオミネラリゼーション反応と形成金属ナノ構造解析: バイオミネラリゼーション反応は、20 mM HEPES-NaOH buffer (pH 7.4) 中で行った。還元剤としては、L-ascorbic acid あるいは NaBH_4 を使用した。形成された金属ナノ構造は、STEM および元素分析に Hitachi HD-2000 を、高分解能 TEM に JEOL JEM-2100F TEM を使用し解析した。

(3) パラジウムナノ粒子触媒活性測定: 2-,3-,または 4-nitrophenol、2-amino-4-nitrophenol あるいは 4-amino-2-nitrophenol を基質として、金属ナノ粒子存在かでの NaBH_4 による還元反応を測定した。パラジウムは 1 mol% とし、反応の進行は UV によってモニターした。

(4) 銀ナノ粒子の腫瘍細胞増殖阻害と細胞取り込み: ヒト前骨髄球性白血病由来の細胞株 HL-60 に対する細胞増殖は、MTS アッセイにより測定した。Alexa Fluor® 555 により蛍光ラベルした銀ナノ粒子を HL-60 添加し、1時間後の細胞内局在を蛍光顕微鏡により観察した。

(5) バイオミネラリゼーションペプチドと銀ナノ粒子の親和性測定: 銀ナノ粒子の親和性は、QCM 法により測定した。銀ナノ粒子を金コート電極に吸着させ、BSA によってブロックした後、HEPES buffer 中において測定した。得られたデータは、ラングミュアの吸着等温式を用いてフィッティングした。

4. 研究成果

(1) Buffer のバイオミネラリゼーションに対する効果

本研究では、温和な生理的な反応条件下で、生体分子である BM Pep によるバイオミネラリゼーション反応を検討する。そのため、形成されるパラジウム構造や触媒活性に対する、反応条件としての最も重要な buffer の効果を解析した。その結果、HEPES buffer では、なめらかな球状の構造を有する比較的大きいサイズのナノ構造体が形成された (図2)。一方、Tris buffer では、Buffer 非存在下と同様

な乱雑に凝集した粒子が形成された。これらの結果は、異なる buffer の存在により、金属表面に結合する BMPep の官能基が影響を受けることで、得られるナノ粒子の安定性に違いが生じることが原因であると考えられた。

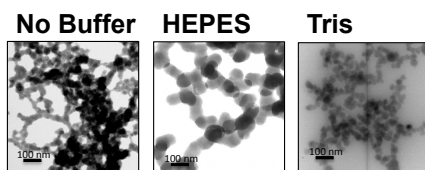


図2 Pd4のバイオミネラリゼーションにおけるbufferの効果

(2) 多量体化・配向化を介したパラジウムバイオミネラリゼーション反応

パラジウムに対する BMPep のトポロジーと価数が、バイオミネラリゼーション反応によって形成されるナノ構造と触媒活性に与える影響について解析した。パラジウムに対する BMPep として、Pd4 (アミノ酸配列: TSNAVHPTLRHL)を用いた。Pd4 をトポロジー分子素子 p53Tet の N 末端に結合させることで、空間的に制御された四量体化 Pd4 (Pd4-p53Tet) の形成が可能である。この Pd4-p53Tet を用いることで、サンゴ状で多孔質なパラジウムのアモルファスのナノ構造体形成に成功した (図3)。一方、BMPep 非存在下、Pd4 のみ、p53Tet のみ、あるいは monomer 変異体 Pd4-p53Mono の存在下では、このようなナノコーラル構造の形成は見られなかった。

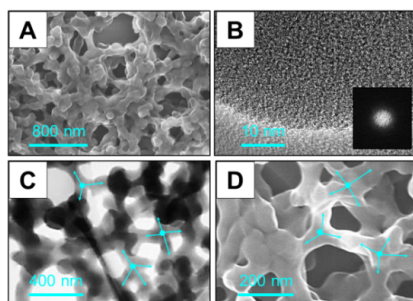


図3 Pd4-p53Tetによって形成されたパラジウムナノコーラル構造

(3) パラジウムナノコーラルの触媒活性

Pd4-p53Tet により形成されたパラジウムナノコーラルは、ニトロフェノールに対する

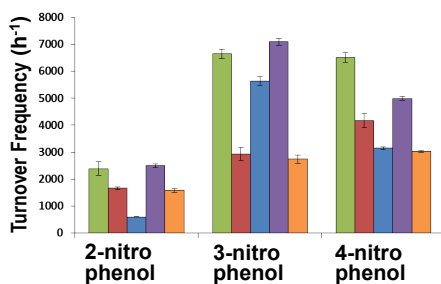


図4 パラジウムナノ構造体の触媒活性 (緑: Pd4-p53Tet, 赤: ペプチドなし, 青: Pd4, 紫: p53Tet, 黄: Pd4-p53Mono)

高い触媒活性を有していることが、反応定数とターンオーバー数の正確な測定から明らかとなった (図4)。ナノコーラル構造を形成していないナノ粒子では低い触媒活性を示していることから、このような高い触媒活性は三次元構造に由来すると考えられる。

(4) 銀ナノ構造体による癌細胞に対する増殖抑制活性

粒状およびプレート状銀ナノ構造体のヒト骨髓球性白血病細胞株 HL-60 に対する細胞増殖抑制活性を解析した。銀ナノ構造体の添加により、HL-60 細胞のアポトーシスが誘導された。興味深いことに、プレート状銀ナノ構造体は、粒状銀ナノ粒子より高い細胞増殖抑制能を示した (図5)。一方、細胞内取り込みと細胞周期については、2 種の銀ナノ構造体は共に顕著な差がないことが示された。この結果より、細胞増殖効率はナノ構造に依存し、生理活性に対するナノ構造の重要性と、銀ナノプレートの有用性が示された。

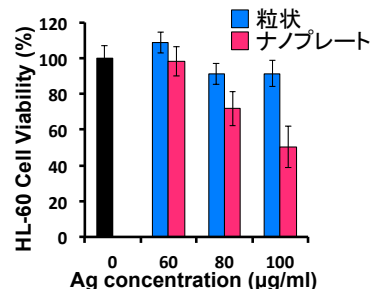


図5 銀ナノ構造体のHL-60癌細胞に対する増殖抑制活性

(5) 多量体化・配向化を介した銀バイオミネラリゼーション反応

BMPep が多量体および配向化を介して、その結合能および特異性に与える影響を検討した。銀に対する BMPep である TBP (アミノ酸配列: RKLPGA) を、p53Tet の N 末端に付加することによって TBP-p53Tet を得た。TBP-p53Tet は、バイオミネラリゼーション反応によって六角形ナノプレート構造を形成することが明らかとなった (図6)。一方、二量体変異体 TBP-p5Di は双晶型ナノプレートを形成し、単量体変異体 TBP-p53Mono では球状ナノ粒子のみしか形成されなかった。これらの結果より、BMPep の多量体化および配向化が、バイオミネラリゼーション反応によって形成される銀ナノ粒子の形状制御に極めて重要であることが明らかに示された。

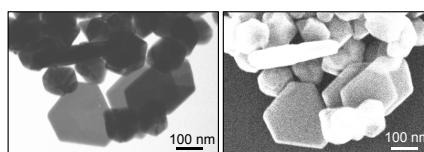


図6 TBP-p53Tetによって形成された銀六角形ナノプレート構造

QCM による親和性解析の結果、TBP-p53Tet

は、粒状銀ナノ構造と比較して、銀ナノプレートに対して強く結合し高い特異性を有することが示された。この結果から、BMPEPの標的に対する結合特異性は、多量体形成によって増強されることが明らかとなった。以上より、TBP-p53Tetが(111)面での銀結晶成長を抑制することによって、銀ナノプレートが形成機構モデルを提出する(図7)。

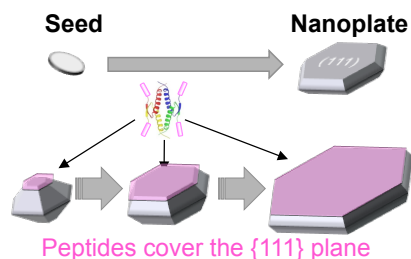


図7 TBP-p53Tetによる銀ナノプレート形成機構モデル

(6) アミロイドペプチドをトポロジー分子素子として用いるナノワイヤー形成

本研究では、さらに多量体化・配向化の概念について、アミロイドペプチドをトポロジー素子として用いる一次元機能性ナノワイヤー形成に拡張した。

我々は、アミロイドペプチドのN末端への3アミノ酸残基付加した構造制御アミロイドペプチド(SCAP)が、線維構造および線維形成能を大きく変化させることを見出している。本研究では、複数のSCAPをヘテロ混合することにより、効果的な自己組織化制御を可能とし、機能性ナノワイヤーを作製する混合SCAP法を開発した(図8)。この混合SCAP法を用いて形成したBMPEPナノワイヤー上でのバイオミネラル化反応により、TiO₂ナノワイヤーを形成させることに成功した(図9)。

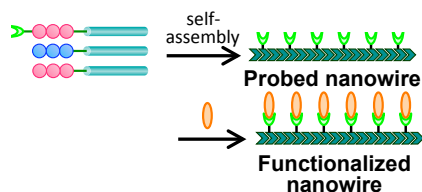


図8 混合SCAP法による機能性ナノワイヤー形成

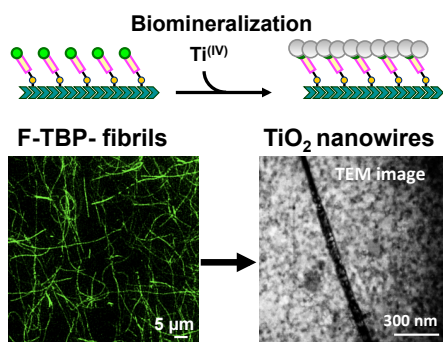


図9 混合SCAP法を介したバイオミネラル化によるTiO₂ナノワイヤーの形成

さらに、イオンモビリティ質量分析法(IM-MS)を用い、混合SCAP法の長鎖線維形成メカニズムの解明を実施した。その結果、混合SCAPでは、ヘテロオリゴマーの形成を介し「伸展型構造をもつ高次オリゴマーの形成能」というユニークなオリゴマー化特性を与えることが明らかになった。Seedingによる線維形成をAFMで観察した結果、混合SCAP法による伸長促進効果が核形成に非依存であり線維伸長過程に特異的に働くことが示唆された。

本研究は、多量体化・配向化が生物イベントであるBMPEPの活性および特異性を増強することを初めて明らかとした。以上の結果より、BMPEPによるナノ構造制御には、ペプチド配列のみならず、多価BMPEPの立体的配置が重要であることが示された。さらに、本研究により開発された混合SCAP法は、自己組織化制御を基盤とした効果的な機能化ナノワイヤー形成およびナノワイヤー構造制御に極めて有用であることが示された。

5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計9件)

1. T. Sakaguchi, K. Mine, F. Kudoh, R. Kamada, and K. Sakaguchi, Antiproliferative Activity of Silver Nanoplates on Human Promyelocytic Leukemia Cell Lines. *Chem Lett.*, 44, 327-329 (2015) 査読有, DOI: 10.1246/cl.141085
2. Y. Toguchi, M. Kanno, T. Imagawa, and K. Sakaguchi, Quantitative Analysis of p53 Hetero-tetramers for Dominant Negative Effect in Transcriptional Activity. *Peptide Sci.*, 2014, 181-182 (2015) 査読有
3. J. I. B. Janairo, T. Sakaguchi, K. Hara, A. Fukuoka, and K. Sakaguchi, Effects of Biom mineralization Peptide Topology on the Structure and Catalytic of Pd Nanomaterials. *Chem Comm.*, 50, 9259-9262 (2014) 査読有, DOI: 10.1039/c4cc04350b
4. J. I. B. Janairo and K. Sakaguchi, Effects of Buffer on the Structure and Catalytic Activity of Palladium Nanomaterials Formed by Biom mineralization. *Chem Lett.*, 43, 1315-1317 (2014) 査読有, DOI: 10.1246/cl.140405
5. H. Sakai, K. Watanabe, Y. Asanomi, Y. Kobayashi, Y. Chuman, L. Shi, T. Masuda, T. Wyttenbach, M. T. Bowers, K. Uosaki, and K. Sakaguchi, Formation of Functionalized Nanowires Based on Control of Self-Assembly Using Multiple Modified Amyloid Peptides. *Adv. Funct. Mater.*, 23, 4881-4887 (2013) 査読有, DOI: 10.1005/adfm.201300577
6. 坂井公紀, 坂口和靖, アミロイドペプチドの自己組織化制御による機能化ナノワイヤー形成. *機能材料*, 33, 47-53 (2013) 査読無

7. T. Sakaguchi, J. I. B. Janairo, Y. Chuman, K. Hara, A. Fukuoka, and K. Sakaguchi, Silver Nanocrystals Formed by Oligomeric Biom mineralization Peptide via p53 Tetramerization Domain. *Peptide Sci.*, 2012, 57-58 (2013) 査読有
- [学会発表] (計 64 件)
1. K. Mine, et al., DNA 高次構造体を介した多量体化バイオミネラリゼーションペプチドによる銀ナノ構造体形成, 化学系学協会北海道支部 2015 年冬季研究発表会, 2015/1/27-28, 北海道大学(北海道・札幌市)
 2. K. Sakaguchi, Tetramer Formation of Tumor Suppressor Protein p53: Mutation, Evolution and Application, *Frontiers in Chemical Sciences 2014 (SNU-HU)*, 2014/11/28, 北海道大学(北海道・札幌市) 招待講演
 3. Y. Toguchi, et al., Hetero-oligomerization of the Wild-type and Mutant Tumor Suppressor Protein p53, 5th Symposium on Academic Exchange and Collaborative Research (AECOR-5), 2014/11/27-28, Zurich (Switzerland)
 4. T. Sakaguchi, et al., Silver Nanoparticles Formed by Oligomeric Biom mineralization Peptide Conjugated with DNA, 第 51 回ペプチド討論会, 2014/10/22-24, 徳島大学(徳島県・徳島市)
 5. Y. Toguchi, et al., Quantitative Analysis of p53 Hetero-tetramers for Dominant Negative Effect in Transcriptional Activity, 第 51 回ペプチド討論会, 2014/10/22-24, 徳島大学(徳島県・徳島市)
 6. K. Sakaguchi, Changes in Tetramerization Domain of Tumor Suppressor Protein p53 in Tumorigenesis and Evolution, 15th Akabori Conference Japanese-German Symposium on Peptide Science, 2014/9/7-10, Boppard (Germany) 招待講演
 7. K. Sakaguchi, Amino Acid Substitution in Tetramerization Domain of Tumor Suppressor Protein p53 in Tumorigenesis and Evolution, the 10th Nanjing-Hokkaido-NIMS/MANA Joint Symposium, 2014/8/22-24, 北海道大学(北海道・札幌市) 招待講演
 8. K. Sakaguchi, Mutation and Evolution of Tetramerization Domain in Tumor Suppressor Protein p53, 18th Korean Peptide Protein Society Symposium, 2014/7/7-8, Busan, (Korea) 招待講演
 9. J. I. B. Janairo, et al., Enhancing Pd Biom mineralization Through Manipulation of Peptide Spatial Orientation and Buffer Selection, *Frontier Chemistry Center the 3rd International Symposium*, 2014/6/13-14, 北海道大学(北海道・札幌市)
 10. T. Sakaguchi, et al., Effects of Oligomerization and Orientation of Biom mineralization Peptides on Formation and Structure of Silver Nanoparticles, *Frontier Chemistry Center the 3rd International Symposium*, 2014/6/13-14, 北海道大学(北海道・札幌市)
 11. K. Sakaguchi, Tetramer Formation of Tumor Suppressor Protein p53: Mutation, Evolution and Application, *Frontier Chemistry Center the 3rd International Symposium*, 2014/6/13-14, 北海道大学(北海道・札幌市) 招待講演
 12. T. Sakaguchi, et al., Control of Silver Nanoparticle Formation by Oligomerization and Orientation of Biom mineralization Peptide, 日本化学会第 94 春季年会, 2014/3/27-30, 名古屋大学(愛知県・名古屋市)
 13. K. Sakaguchi, Control of Biom mineralization and Nanoparticle Arrangement via Peptide Self-assembly by 3D Structure Element, *The 16th HU-SNU Joint Symposium "The Present Chemistry at SNU and HU"*, 2013/12/12-14, Soul (Korea) 招待講演
 14. J. I. B. Janairo, Enhanced Biomimetic Synthesis of Pd Nanomaterials Through the p53 Tetramerization Domain, *Frontier Chemistry Center the 2nd international Symposium*, 2013/12/9-10, 北海道大学(北海道・札幌市)
 15. T. Sakaguchi, et al., Development of Nanostructure Control Method via Oligomerization of Biom mineralization Peptide, *Frontier Chemistry Center the 2nd international Symposium*, 2013/12/9-10, 北海道大学(北海道・札幌市)
 16. K. Sakaguchi, Control of Biom mineralization and Nanoparticle Arrangement via Peptide Self-assembly and Oligomerization, *NIMS/MANA Seminar*, 2013/11/27, NIMS (茨城県・つくば市) 招待講演
 17. K. Sakaguchi, アミロイドペプチドの自己組織化制御による機能性ナノワイヤー作成, 2013 年真空・表面学術合同講演会: 第 33 回表面科学学術講演会・第 54 回真空に関する連合講演会, 2013/11/26-28, つくば国際会議場(茨城県・つくば市) 招待講演
 18. K. Sakaguchi, Formation of Functionalized Nanowires via Control of Self-assembly Using Multiple Modified Amyloid Peptides, 4th Asia Pacific International Peptide Symposium, 2013/11/6-8, ホテル阪急エキスポパーク(大阪府・吹田市) 招待講演
 19. J. I. B. Janairo, et al., Formation of Ordered Pd-Based Nanostructures by Biom mineralization Peptide Conjugated with the p53 Tetramerization Domain, 4th Asia Pacific International Peptide Symposium, 2013/11/6-8, ホテル阪急エキスポパーク(大阪府・吹田市)
 20. K. Sakaguchi, Functionalized Nanowire Formation via Control of Self-Assembly Using Multiple Modified Amyloid Peptides, the 9th Nanjing-Hokkaido-NIMS/MANA Joint Symposium, 2013/10/11-13, Nanjing (China) 招待講演
 21. T. Sakaguchi, et al., Structure control of silver

- nanoparticles by orientation control of biomineralization peptides using oligomerization peptides, the 9th Nanjing-Hokkaido-NIMS/MANA Joint Symposium, 2013/10/11-13, Nanjing (China)
22. K. Sakaguchi, Structure Stability of the Tetramerization Domain of Tumor Suppressor Protein p53, 第 13 回日本蛋白質科学会年会, 2013/6/12-14, とりぎん文化会館(鳥取県・鳥取市) 招待講演
 23. H. Sakai, et al., アミロイド自己組織化の制御に基づく効果的な機能化ナノワイヤーの形成, 日本化学会第 93 春季年会, 2013/3/22-25, 立命館大学(滋賀県・草津市)
 24. J. I. B. Janairo, et al., p53 四量体形成ドメインとバイオミネラリゼーション配列の融合によるパラジウムナノ粒子の効果的な構造制御, 日本化学会第 93 春季年会, 2013/3/22-25, 立命館大学(滋賀県・草津市)
 25. T. Sakaguchi, et al., p53 四量体形成ドメインを介したバイオミネラリゼーションペプチドの立配置による銀ナノ結晶形成, 日本化学会第 93 春季年会, 2013/3/22-25, 立命館大学(滋賀県・草津市)
 26. H. Sakai, et al., Formation of Functionalized Nanowires Based on Control of Amyloid Self-Assembly, 2nd International Conference on Biomaterials Science (ICBS2013), 2013/3/19-22, つくば国際会議場(茨城県・つくば市)
 27. H. Sakai, et al., Control of Fibril Formation Using Multiple Modified Peptides and Its Application for Functional Nanowires, 2012 HU-NU-SNU-NIMS/MANA Joint Symposium, 2012/12/6-9, 北海道大学(北海道・札幌市)
 28. J. I. B. Janairo, et al., Formation of palladium nanosponges by an oligomerized biomineralization peptide through the p53 tetramerization domain, 2012 HU-NU-SNU-NIMS/MANA Joint Symposium, 2012/12/6-9, 北海道大学(北海道・札幌市)
 29. T. Sakaguchi, et al., Silver Nanoparticle Formation by Oligomeric Biomineralization Peptide via p53 Tetramerization Domain, 2012 HU-NU-SNU-NIMS/MANA Joint Symposium, 2012/12/6-9, 北海道大学(北海道・札幌市)
 30. H. Sakai, et al., Formation of Extended Oligomer Structure in Enhanced Fibrillation by Mixing SCAP Peptides, 第 49 回ペプチド討論会, 2012/11/7-9, かがしま県民センター(鹿児島県)
 31. J. I. B. Janairo, et al., Formation of Palladium Nanosponges by an Oligomerized Biomineralization Peptide through the p53 Tetramerization Domain, 第 49 回ペプチド討論会, 2012/11/7-9, かがしま県民センター(鹿児島県・鹿児島市)
 32. T. Sakaguchi, et al., Silver Nanocrystals Formed by Oligomeric Biomineralization Peptide via p53 Tetramerization Domain, 第 49 回ペプチド討論会, 2012/11/7-9, かがしま県民センター(鹿児島県・鹿児島市)
 33. K. Sakaguchi, Biomineralization and nanoparticle arrangement by Oligomeric Peptides, Cambodian Malaysian Chemical Conference 2012, 2012/10/19-21, Siem Reap (Cambodia) 招待講演
 34. H. Sakai, et al., Enhancement of Nanowire Formation by Mixing Multiple Modified Amyloid Peptides: Mechanism and Application, 19th International Mass Spectrometry Conference, 2012/9/15-21, 国立京都国際会館(京都府・京都市)
 35. K. Sakaguchi, Control of Biomineralization and Nanoparticle Arrangement via Peptide Self-assembly, 14th Akabori Conference, 2012/9/10-14, ニセコ町民センター(北海道・ニセコ町) 招待講演
 36. J. I. B. Janairo, et al., Porous and Amorphous Palladium Nanostructures Derived from a Biomineralization Peptide, 第 6 回バイオ関連化学シンポジウム, 2012/9/6-8, 北海道大学(北海道・札幌市)
 37. K. Sakaguchi, Biomineralization and nanoparticle arrangement via peptide self-assembly, Polish- Japanese Seminar, 2012/9/3-6, Krakow (Poland) 招待講演
 38. T. Sakaguchi, et al., Silver Crystal Formation by Biomineralization Peptide Oligomerized through p53 Tetramerization Domain, Polish-Japanese Seminar, 2012/9/3-6, Krakow (Poland)
- [その他]
ホームページ等
<http://wwwchem.sci.hokudai.ac.jp/~biochem/index.html>
6. 研究組織
- (1)研究代表者
坂口 和靖 (SAKAGUCHI KAZUYASU)
北海道大学・大学院理学研究院・教授
研究者番号：00315053
 - (2)研究分担者
今川 敏明 (TOSHIKI IMAGAWA)
北海道大学・大学院理学研究院・准教授
研究者番号：20142177
- 中馬 吉郎 (CHUMAN YOSHIRO)
新潟大学・大学院自然科学系・准教授
研究者番号：40372263