

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：85401

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2013～2017

課題番号：25220102

研究課題名(和文) In vivo, in situ突然変異検出系を用いた環境および放射線リスク評価

研究課題名(英文) In vivo, in situ assessment of the mutagenic risk of radiation and environmental chemicals, using newly developed animal systems

研究代表者

野田 朝男(NODA, Asao)

公益財団法人放射線影響研究所・分子生物学部・副部長

研究者番号：40294227

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 142,810,000円

研究成果の概要(和文)：個体内で起こる体細胞や生殖細胞の突然変異を、生体内の組織構築の「場」を壊すことなく検出する事をモデル動物にて実現した。これにより、放射線や環境変異原の暴露により生じる細胞の突然変異リスクについて、被ばく後の時間と組織内の三次元的情報を加えて計測することが可能となった。本システムは、組織をすりつぶしてDNAを抽出するといった従来法に対しては革命的である。我々の方法は、体内で起こる細胞の突然変異を生きたまま観察することを可能とし、組織幹細胞の突然変異とその増殖動態を明らかとした。今回作製したHPRTdupGFPマウスは公的バンクにも登録され、世界中に配布される。商業的利用に関しては特許も取得した。

研究成果の概要(英文)：We have created recombinant animal model systems in which radiation- or environmental mutagen-induced mutations at somatic and germ cells are readily detected in vivo and in situ living tissues without destroying tissue three-dimensional structure. The new animal system has a marked contrast with conventional mutant detecting system which requires cell/tissue lysis and DNA extraction. Our model animals will enable the observation of mutant stem cell propagations in the organisms (cell lineage tagging) and provide the new measure of risk assessment for environmental mutagens. The HPRTdupGFP mouse is now donated in mutant mice repository for the use of basic research. Patent for commercial use is also granted.

研究分野：環境・放射線影響科学

キーワード：放射線誘発突然変異 ノックインマウス トランスジェニックメダカ 体細胞突然変異 生殖細胞突然変異 遺伝影響評価 環境変異原 ゲノム解析

1. 研究開始当初の背景

放射線や環境変異原による体細胞突然変異(本人影響)や生殖細胞突然変異(次世代影響)は現代社会で重大な関心が持たれている。これは、がんや特定の遺伝性疾患の原因が遺伝子突然変異に起因する場合があるという考え方に基づいている。従来、有害物質によるゲノム損傷は、特定遺伝子(マーカー遺伝子)の誘発突然変異頻度を *in vitro* 細胞培養で見たり、組織から DNA を抽出したりすることで解析されてきた。しかしこの方法では、生体組織中の何処の、どの細胞が突然変異を起こしたのか、位置情報が得られなかった。特に、個体の発生と再生、老化を制御する細胞交代系の組織中には組織幹細胞が存在し、これが突然変異を起こすことが生体影響の大元であると考え、組織中の遺伝子変異リスク評価は細胞交代(組織幹細胞の増殖)の「場」にピンポイントで焦点を定める必要がある。すなわち、個体内で大きなクローン増殖をすることが可能な細胞に対する放射線や化学物質の突然変異誘発リスクを、直接個体レベルで測定するモデル実験系が必要であるが、そのような実験系はこれまでほとんど存在しなかった。放射線や化学発がんには、変異原ごとの作用機作とその組織依存性、さらには被曝(暴露)個体の年齢依存性があることが知られている。これについては、どの組織のどの細胞集団が、個体年齢のどの時期に発がんの標的になっているのか、つまり癌原性の突然変異の標的となっているのか、仮説を実証する実験が必要であった。また、生殖細胞の突然変異については、精原細胞や卵原細胞で見られる有糸分裂とその後の減数分裂で感受性が異なる事が知られているが、その具体的な突然変異成立のメカニズムはこれまでほとんど理解されていない状況であった。

2. 研究の目的

本研究では、個体を構成する全組織・細胞を対象として、組織・器官構築の3次元「場」を壊すことなく、体のなかで生じる突然変異細胞を検出することができるモデル動物を作製する。具体的には、モデル動物について文字通り「頭のとっぺんから尻尾の先まで」すべての組織・細胞で起こり得る突然変異細胞を顕微鏡で簡単に観察できる遺伝子組換え動物を作製する。血液・リンパ系の細胞はフローサイトメトリーで変異頻度を観察することになる。モデル動物の原型ができた後には、DNA 修復やがん抑制に関わる遺伝子欠損系統と交配し、変異の高感度検出系へとシステムを発展させる。

これを用いて放射線や環境変異原の生体リスク評価の検証実験を行い、万国共通のリスク測定・モニタリングシステムとして提案する。さらに、遺伝子編集技術を当該モデル動物に導入し、組織幹細胞や未分化細胞の突然変異感受性の元となる分子メカニズムの

解析に踏み込む。

3. 研究の方法

モデル動物としてマウスとメダカを用いる。突然変異の検出システムとしては、(1)復帰突然変異にて細胞が生きたまま光る系を最初に試み、次に(2)前進性突然変異、(3)あるいは発がん性突然変異で光る系を作製する。(4)ATM、BRCA1、Rev1、p53、Rb等の遺伝子欠失個体を、ゲノム編集技術を用いて作製し、これら変異遺伝子アリルを当該モデル動物に持ち込む。(5)発がん標的組織で生じた突然変異細胞の動態を観察し、ゲノムの損傷修復と突然変異誘発機構について考察する。(6)モデル動物を公的バンクに寄託し、世界中に配布する体制を整える。

(1)復帰突然変異の検出系としては突然変異研究について膨大な歴史がある HPRT 遺伝子を用いる事とし、この構造遺伝子約 30kb の後半(3'側)半分が重複した、HPRT 部分重複構造をマウス ES 細胞のノックイン技術にて作製する。この場合、重複している HPRT 後半部分 3'端に *in-frame* で GFP 遺伝子 ORF を繋いでおくことで、復帰突然変異が生じると HPRT-GFP 融合タンパク質が変異細胞内で発現し、細胞の表現型を HPRT(+)/GFP(+)とする。つまり、変異細胞は生きたまま光る。このマウスは HPRTdupGFP マウスと名付け、表現型は HPRT(-)/GFP(-)であるが、通常の飼育は良好であり、健康寿命を全うできる。メダカも同様である

(2) Tet オペレーター下流に GFP 遺伝子 ORF をつなぎ、一方で Tet リプレッサー遺伝子を HPRT 構造遺伝子内にノックインした ES 細胞を作製する。HPRT 遺伝子座内に TetR を含む突然変異が生じるとリプレッサー機能が失われ突然変異細胞が光る。このマウスは TeO-GFP/HP-TetR-RT と名付けるが、上述のマウスと同様に健康である。

(3) p53 構造遺伝子の 5'端、エクソン内、あるいは 3'端に GFP 遺伝子 *in-frame* で結合したノックインマウスを作製する。この場合、p53 に発がん性の突然変異(gain of function 変異)が生じると、変異タンパク質が核内に蓄積して細胞が光る。このマウスは p53fGFP マウスと名付ける。メダカの系: *mitf* プロモーター下流に *xmrk*(メダカの EGFR)をつないだトランスジェニックメダカでは、p53 遺伝子の LOH が生じると、がんが高頻度で発生する。このメダカを *mitf-xmrk* と呼ぶ。

(4) ATM、BRCA1、Rev1、p53、53BP1、Rb 等の遺伝子欠失個体を導入、あるいは遺伝子編集技術にて作製し、上述モデルマウス、メダカと交配して各種の遺伝的背景が異なった変異検出系とする。

(5) 組織毎の観察はバーチャル蛍光スライ

ドシステム、蛍光実体顕微鏡、FACS を用いる。

(6) 公的マウスバンクへの寄託、商業利用権(国内特許)の取得

4. 研究成果

(1) HPRtdupGFP マウスは完成形となり、組織学的な識別が容易な脾臓、肝臓、小腸、大腸、脾臓リンパ球、脳、甲状腺、乳腺、精巣等について、自然突然変異率と放射線被ばくによる誘発突然変異率が測定できる様になった(論文7)。凍結切片による詳細な組織像観察を基本とし(図-1) 組織・器官全体を低倍率にて蛍光実体顕微鏡で観察する方法、生きた血液細胞を FACS にて直接観察する方法等、いずれも極めて容易であった。

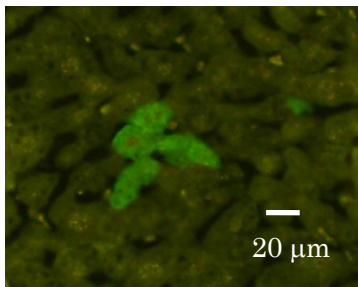


図 - 1 : 肝臓組織切片中で検出された GFP 陽性の突然変異細胞集団

小動物用の内視鏡がオリンパス社(ドイツ)で開発されており、これに超小型蛍光ランプを装着すればマウスの消化器系組織全般の変異原による体細胞突然変異とそのクローン増殖が生きたまま観察可能であると思われたが、これは本研究期間中には実現しなかった。オリンパス社バーチャルスライドシステムを導入し、組織切片および組織全体の観察と変異細胞(低倍率の場合は変異細胞集団)の全自動観察・変異率測定プログラムをオリンパス社と協同で作製した。これにより、はじめて見る人を圧倒するような、突然変異の in vivo, in situ 測定システムが完成した(図-2)。

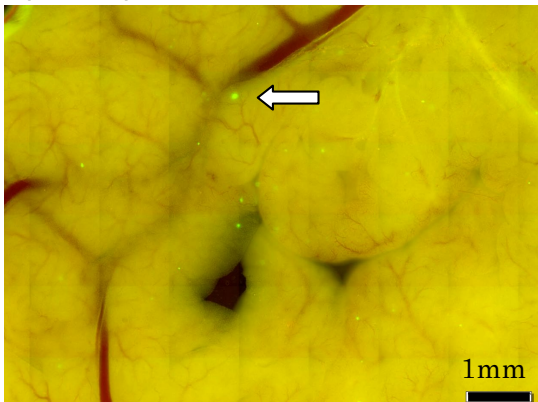


図 - 2 : 未固定の新鮮な脾臓の低倍率蛍光像。毛細血管網と、星空の様に光る突然変異細胞集団スポットが多数見える(矢印)

この自動観察システムは、その後のモデル動物作製毎に用いられることとなった。これらの観察方法により、組織幹細胞の突然変異が原因となり、体の中で変異細胞が増殖して広まっていく様子をピンポイントで、生き生きと観察する事がこのマウスで可能となった。この技術開発は画期的なものである。実証例として、被ばく後のマウス小腸で生じた突然変異(小腸幹細胞の突然変異)と、変異細胞のその後の広がり(細胞系譜)を図-3で示す。小腸クリプト最下部に位置する幹細胞で生じた突然変異は、細胞分裂による分化細胞の出現に伴い小腸上皮の先端へと向かって広がる。この細胞の広がりについて、HPRtdupGFP マウスでは詳細に捕らえることが可能である。また、突然変異を起こした小腸幹細胞が自己複製した場合は小腸絨毛全体、さらには隣りの絨毛までも変異細胞が広がる事が予想されるが、事実、放射線被ばくにより周辺の絨毛まで突然変異が広まる様子が観察された。

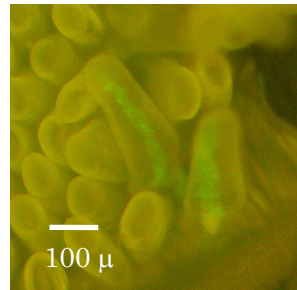


図 - 3 : 小腸絨毛に観察される、幹細胞突然変異による変異細胞集団

環境変異原の突然変異リスクを求めることが当初の目的であった。放射線 3Gy 照射のマウスについて全身を解析した結果、肝臓や小腸では有意な変異誘導が見られたが、脾臓ではあまり変化が見られず、血液リンパ球については個体ごとに自然突然変異頻度に大きなばらつきが認められ、そのばらつきの中に放射線の影響が埋もれる傾向となった。HPRtdupGFP マウスと ATM, p53 ノックアウトマウスとの交配を行い、マウスの遺伝的背景を ATM(-), p53(-) に代えてみる操作を行ったが、誘発突然変異頻度を大きく変える事は無かった。従って、現状では感度の良い in vivo 突然変異検出系には至っていない。もう一工夫、例えば自然突然変異率をもう一ケタ上げた個体が必要であるが、良いアイデアがこれまでに見つからない。一方で、このマウスシステムは個体を構成する体細胞のモザイクを観察する絶好の機会を提供することが明らかとなってきた。がんや心臓血管系の疾病の発症には、環境ストレスが引き金となる体細胞のクローン増殖が関わっている事が明らかになりつつある。原爆被爆者の過去 60 年に及ぶ調査でも、極端に大きな細胞クローンを持つ症例が多数見つかっている。例えば、ある被爆者の例では、血中の T リンパ球の数十%が同一の染色体異常を持つ。これは被ばく後に、骨髓幹細胞の中で特定の細胞の大きなクローン増殖が起こった

ことによると考えられる。このような、被ばくからの回復過程における幹細胞のクローン増殖と重要な遺伝子の突然変異が重なる場合に、がんなどの疾病が発症すると考えると、被ばく後の幹細胞のクローン増殖を *in situ* で三次元的に測定することを可能とした世界で初めてのモデルマウスと言えよう。なお、最近の2,3年で CRISPR 遺伝子編集技術が急速に発展してきたが、最新の技術でも大きな遺伝子は扱えず、HPRTdupGFP 構造のマウスへの導入は依然として容易ではない。

同様なシステムをメダカでも作製することを試みたが、メダカには遺伝子ノックインシステムの応用が難しい事、大きな遺伝子改変を行ったプラスミド DNA の受精卵への導入が難しい事などから、モデル個体の作製に時間を要した。最終的には、突然変異の標的を小さくせざるを得ず、蛍光タンパク質遺伝子自体の構造異常からの復帰変異で細胞が光るシステムへと変更し、トランスジェニックメダカが完成した。このメダカの初期発生時に放射線を照射した場合、発生途上で突然変異細胞が生じて細胞が光る事を確認した(論文投稿中)。さらに、個体内で特定の組織に焦点を絞って放射線を照射することにより、組織の損傷と突然変異を観察するシステムを完成させた(論文7)。

(2) 当初の想定通り、TetO-GFP のトランスジェニックと TetR の HPRT 遺伝子座へのノックインを行った ES 細胞 (TetO-GFP/HP-TetR-RT ES細胞)は、HPRT 内のあらゆる突然変異に伴って細胞が光った。これは我々がヒト培養細胞で検証した実験(文献)を再現する結果となった。しかし、この ES 細胞からマウス個体 (TetO-GFP/HP-TetR-RT マウス) を作製してみると、全身の細胞が光っていた。これは、個体内 (*in vivo*) では TetR による GFP の発現抑制が不十分であるためと考えられた。TetR の発現を CAG プロモーターに代えてみたが、GFP の発現抑制は改善されず、本試みは完成には至らなかった。

(3) マウス ES 細胞にて内在性の p53 遺伝子の第二エクソン、あるいは第三エクソンに *in-frame* で GFP 遺伝子を挿入(ノックイン)した。この操作は TALEN を用いた。一方、p53 構造遺伝子約 38Kb を持つ BAC clone について、p53 の最終エクソンに GFP を *in-frame* でつないだ fosmid を作製し、マウス受精卵に導入する事で p53-GFP マウスを作製した。これら p53-GFP マウスにメチルコラントレンを皮下投与し、これまでに 12 個の原発性がん(多くは肉腫)の発生を確認した。原爆被爆者のがんや、実験動物での化学発がんでは、p53 の dominant negative 変異が見られ、これに伴って変異型 p53 の細胞核内での蓄積が観察されることが過去には

報告されている。同様な現象が今回のマウスシステムでも観察されるはずであり、その場合はがん組織中で変異型 p53 が GFP との融合タンパク質として核内に蓄積して光ると考えた。しかし、これまでのところ、マウス個体内で生じたがん細胞は GFP 陽性になっていない。この理由として、dominant negative p53 の発現が予想以上に低いのか、あるいはメチルコラントレンによる発がんが今回は p53 突然変異を介さなかったことによると考えられる。従って、このシステムの有用性については結論が出なかった。なお、メチルコラントレン投与による p53-GFP マウスの発がん実験は、産業医科大学の天津山彰研究室にて行われた。

メダカシステムにおいて、p53 遺伝子の LOH と色素細胞の腫瘍の関係を調べた。mitf-xmrk トランスジェニックメダカにおいて、p53 アリルが LOH によりホモマイナスとなった場合、腫瘍の発生頻度が上昇することを確認した。放射線被ばくで誘発される LOH との関係を解析しているが、現時点では若齢期の非致死線量被ばくで初期腫瘍の発生頻度が低下することを発見している。

(4) モデルマウス、メダカの遺伝的背景の調整を行った。HPRTdupGFP マウスについては ATM, p53 ノックアウトアリルの導入を行ったが、突然変異率の変化はほとんど見られなかった。この点に付いては最近、MIT の Engelward グループも同様の観察を発表した。

メダカ個体において、放射線によるゲノム損傷を NBS1 や 53BP1 の細胞核内挙動を指標としてモニターするシステムを構築した(論文2)。このシステムとこれまでのモデルメダカのシステムを組み合わせる計画であったが、本研究ではここまでとなった。

一方、メダカ個体を用いて効率よく遺伝子改変を行うシステム開発は、トランスポゾン piggyBac (PB)を用いて当初、開始した。放射線被ばくに応答して転写因子が活性化し、GFP やルシフェラーゼが発現して細胞が光るシステムを複数作製した。p21 遺伝子のプロモーターを用いたレポーター系 (p21-luciferase) の作製が目標であったが、予想外にバックグラウンドが高くて良いレポーターが作製できなかった。損傷乗り越え DNA ポリメラーゼの代表格である rev1 遺伝子について、PCNA 結合部位を欠損した個体を作製した。この個体はニトロソアミン化合物に対して高感受性となり、突然変異を多発した。上述の、復帰変異にて GFP 発行するメダカシステムと交配する計画であったが本研究ではここまでとなった。

組織幹細胞や未分化細胞で生じる突然変異の特性を解析する目的でマウス胸腺、小腸、肺、肝臓などの突然変異特性をゲノムレベルにて解析した(論文3)。突然変異細胞のクローン増殖が胸腺と小腸で観察され、胸腺では

特にクローンサイズが大きい場合が観察された。これは、HPRTdupGFP マウスの例でも観察されたことから、組織を構成する幹細胞の動態を現しているものと考えられた。

(5) 突然変異細胞の体内動態は、上述のHPRTdupGFP マウスでは小腸クリプト幹細胞の被ばく後の増殖が際立ってよく観察できた。特に、幹細胞の分裂により分化にコミットした細胞が生み出されていく過程と、幹細胞の自己再生型の分裂により未分化の幹細胞数が増えていく過程が明らかに区別して観察され、被ばく後に未分化幹細胞が再生していく様子が確認できたことは組織再生の場を同定できたことを意味していた。

以上、本研究の中心的課題である in vivo, in situ での突然変異細胞の観察は達成され、将来の応用に道を拓いた。このシステムをさらに高感度系に改良する試みは試行錯誤の末、最終目標には未達となった。

(6) モデル動物の公開は最終年度に行い、国際的動物バンクとしてのMMRRC/Jackson mutant mouse repositoryにHPRTdupGFP マウスの寄託が終了した。現在、このマウスはMMRRC 043688-MUとして世界中に配布することが始まった。これは基礎研究の発展のためには実費のみにてマウスを分与するというものである。一方、このマウスの商業利用(例えばこのマウスを用いての環境汚染のモニタリングとか、医薬品の安全性試験等)については、日本国内特許を出願し、2014年に特許公告を達成した。公的助成金にて行われた本研究の所有権は放射線影響研究所が保有することとなり、将来ライセンス料が得られた場合は公益に処することが可能となった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計20件)

Noda, A. 2018 Radiation-induced

unrepairable DSBs: their role in the late effects of radiation and possible applications to

biodosimetry. *Journal of Radiation Research* Apr 1;59(suppl_2):ii114-ii120. doi:

10.1093/jrr/rxx074. 査読あり

Igarashi, K., J. Kobayashi, T. Katsumura., et al. (他6人/6番目) 2017 An Approach to Elucidate NBS1 Function in DNA Repair Using Frequent Nonsynonymous Polymorphism in Wild Medaka (*Oryzias latipes*) Populations. *PLoS One* 12: e0170006. DOI:

10.1371/journal.pone.0170006 査読あり

Nakayama, T., Sawai, T., Masuda, I., et al.

(他6人/5番目) 2017 Tissue-specific and

time-dependent clonal expansion of

ENU-induced mutant cells in *gpt* delta mice.

Environmental and Molecular Mutagenesis, 58 (8), 592–606, DOI: 10.1002/em.22132 査読あり

Ishikawa T, Toyama T, Nakamura Y., et al. (他11人/7番目) 2017 UPR transducer BBF2H7 allows export of type II collagen in a cargo- and development stage-specific manner. *J Cell Biol.* May 12. pii: jcb.201609100. doi: 10.1083/jcb.201609100 査読あり

Ishikawa-Fujiwara T, Shiraiishi E, Fujikawa Y., et al. 2017 (他3人/3番目) Targeted Inactivation of DNA Photolyase Genes in Medaka Fish (*Oryzias latipes*). *Photochem Photobiol.* Jan: 93(1):315-322. doi: 10.1111/php.12658. 査読あり

Yasuda T, Kimori Y, Nagata K., et al. 2016 (他4人/4番目) Irradiation-injured brain tissues can self-renew in the absence of the pivotal tumor suppressor p53 in the medaka (*Oryzias latipes*) embryo. *Journal of Radiation Research* 57(1):9-15. doi:10.1093/jrr/rrv054 査読あり

Nagata K, Hashimoto C, Watanabe-Asaka T., et al. 2016(他18人/18番目) In vivo 3D analysis of systemic effects after local heavy-ion beam irradiation in an animal model. *Scientific Reports* 6:28691. doi:10.1038/srep28691

Noda A, Suemori H, Hirai Y., et al. 2015 (他5人/1番目と3番目) Creation of mice bearing a partial duplication of HPRT gene marked with a GFP gene and detection of revertant cells in situ as GFP-positive somatic cells. *PLoS One* 10(8):e0136041. doi:10.1371/journal.pone.0136041 査読あり

Noda A, Mishima S, Hirai Y., et al. 2015 (他7人/1番目と3番目) Progerin, the protein responsible for the Hutchinson-Gilford progeria syndrome, increases the unrepaired DNA damages following exposure to ionizing radiation. *Genes and Environment* 37:13. doi:10.1186/s41021-015-0018-4 査読あり

Yasuda T, Oda S, Hibi Y., et al. 2015 (他 6人/6番目) Embryonic Medaka Model of Microglia in the Developing CNS Allowing In Vivo Analysis of Their Spatiotemporal Recruitment in Response to Irradiation. PLoS One 10(6): e0127325.

DOI:10.1371/journal.pone.0127325 査読あり

Otozai S, IshikawaFujiwara T, Oda S., et al 2014 (他 8人/5番目と8番目) p53-Dependent Suppression of Genome Instability in Germ Cells. Mutation Research 760:24-32.

doi:10.1016/j.mrfmmm.2013.12.004 査読あり

Nakano M, Nishimura M, Hamasaki K., et al. 2014 (他 7人/5番目) Fetal irradiation induces persistent translocations in rat mammary epithelial cells. Radiation Research 181:172-176. 査読あり

Sayed AE, Oda S and Mitani H. 2014 Nuclear and cytoplasmic changes in erythrocytes of p53-deficient medaka fish (*Oryzias latipes*) after exposure to gamma-radiation. Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 771:64-70.

DOI:10.1016/j.mrgentox.2014.01.013 査読あり

[学会発表](計 37 件)

浅香智美、大橋圭太 (他 9人/9番目) 2017 メダカを利用した造血組織への局所照射系の確立と放射線感受性の解析 日本放射線影響学会

藤川芳宏、藤原智子 (他 5人/5番目) 2017 メダカにおける rev31 変異体の紫外線誘発突然変異と消化管腫瘍の解析 日本環境変異原学会

野田朝男、平井裕子 (他 3名) 2016 放射線誘発突然変異を in vivo, in situ で検出、測定する 日本放射線影響学会

Noda A, Suemori H et al. (他 6名/2番目) 2015 Next generation transgenic mouse models for detecting somatic and germ cell mutations in situ at whole body level. Annual meeting of American Association for Cell Biology

野田朝男、末盛博文 (他 6名/2番目) 2014 In vivo 突然変異検出系作製の試み 日本放射線影響学会

[産業財産権]

取得状況 (計 1 件)

名称: 突然変異を起こした細胞が光る実験動物の作製とその利用

発明者: 野田朝男、中村典

権利者: 放射線影響研究所

種類: 特許

番号: 特許第 5525683 号

取得年月日: 平成 26 年 4 月 18 日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/12_kiban/ichiran_25/j-data/h25_j1202_noda.pdf

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野田 朝男 (NODA, Asao)

公益財団法人放射線影響研究所・

分子生物科学部・副部長

研究者番号: 4 0 2 9 4 2 2 7

(2) 研究分担者

濱崎 幹也 (HAMASAKI, Kanya)

公益財団法人放射線影響研究所・

分子生物科学部・研究員

研究者番号: 8 0 4 4 3 5 9 7

三谷 啓志 (MITANI, Hiroshi)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・

教授

研究者番号: 7 0 1 8 1 9 2 2

藤堂 剛 (TODO, Takeshi)

大阪大学・医学系研究科・

教授

研究者番号: 9 0 1 6 3 9 4 8

立花 章 (TACHIBANA, Akira)

茨城大学・理学部・

教授

研究者番号: 2 0 1 8 8 2 6 2

山本 卓 (YAMAMOTO, Takashi)

広島大学・理学研究科・

教授

研究者番号: 9 0 2 4 4 1 0 2

(3) 連携研究者

保田 隆子 (YASUDA, Takako)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科

研究員

研究者番号: 4 0 4 5 0 4 3 1