

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2013～2017

課題番号：25220204

研究課題名(和文)DNAソフト界面の特性を活かしたバイオマテリアルの創製

研究課題名(英文)Creation of Biomaterials Endowed with Unique Properties of DNA Soft-Interfaces

研究代表者

前田 瑞夫(MAEDA, Mizuo)

国立研究開発法人理化学研究所・前田バイオ工学研究室・主任研究員

研究者番号：10165657

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 170,540,000円

研究成果の概要(和文)：独自に見出した、DNAを密に固定したナノ粒子の特異なコロイド安定性を、以下の応用範囲に拡張した。第1に、表面のDNAが完全二重鎖の金ナノ粒子の線形集合体が、基板上で円盤状に収縮してナノ粒子アレイを与えることを見出した。第2に、DNA担持ナノゲルを合成し、内包した薬物モデルを温度に応じて放出させることに成功した。第3に、完全二重鎖DNA層の間に引力が生じることをコロイドプローブAFM法で明らかにした。第4に、この界面特性を利用した遺伝子診断法とDNA親和性薬物探索法を開発した。以上の結果より、DNAが材料表面間の相互作用を自在に制御できる優れた表面修飾剤であることが実証された。

研究成果の概要(英文)：Applications of unique colloidal behaviors of nanoparticles densely modified with DNA were successfully broadened. First, linear assemblies of fully matched double-stranded (ds) DNA-modified nanoparticles were spontaneously folded into an island-like structure to readily afford two-dimensional nanoparticle arrays on substrate surfaces. Second, nanogels covered with DNA were constructed to be used as a drug delivery carrier that released model payloads in a thermoresponsive manner. Third, force-distance curve analyses between dsDNA layers using colloid probe-AFM revealed that the outermost complementary dsDNA layers attract each other at a high NaCl concentration. Finally, gene mutation assays and discovery methods of DNA-binding drug candidates were developed using the unique DNA-surface property. All results indicate that DNA molecules are unique surface-modifiers that are capable of controlling interactions between materials surfaces.

研究分野：生体材料学

キーワード：核酸 生体材料 ソフト界面 ゲル ナノ粒子 コロイド 細胞・組織 診断・計測

1. 研究開始当初の背景

さまざまな生体物質と密接な相互作用をするバイオ材料(たとえば人工臓器)は、表面構造が機能発現の鍵となる。高度に構造を制御した合成高分子や、多彩で優れた機能をもつ生体分子などのソフトマターで形成した界面(ソフト界面)の高い有効性が認められつつあった。研究代表者が開発した、短いDNA二重鎖が密生したソフト界面(DNA界面)もその1つである。その特異な物性は、DNA二重鎖をブラシ状に固定したナノ粒子の分散安定性が、分散媒(水)とDNA層の境界に位置する末端一塩基の対合に応じて極めて鋭敏に変化する、という予想外の現象として見出された。

2. 研究の目的

上記の界面特性の発現メカニズムを解明し、バイオ材料の表面設計に応用することを目指した。この特性が、(1)規則構造をもつナノ粒子集合体の内部で発現すること、(2)ハイドロゲルの内部や分子混雑環境で生じること、(3)核酸とタンパク質の間で生じること、線形集合体、ゲル、平面基板という空間次元の異なる反応場を使って明らかにし、合目的に界面特性を付与したバイオ材料を作製することを目的にした。さらに平成27年度からは、(4)界面特性を利用したバイオ分析法の開発も試みた。

3. 研究の方法

(1)DNAナノ粒子集合体の動的構造制御：粒径5nmの金ナノ粒子の表面に、鋳型固定用DNA(1粒子につき1本)と凝集用DNA(1粒子につき5本)を、Au-S結合を利用して固定した。得られたDNA担持金ナノ粒子を、繰り返し配列をもつ一本鎖DNAの鋳型の上に多数配置して、糸ビーズ状のナノ粒子集合体を作製した。イオン強度を上げて隣接粒子同士を凝集させ、全体構造の変化を誘起した。透過型電子顕微鏡またはクライオ電子顕微鏡を用いて顕微観察するとともに、得られた画像の粒子間距離を画像解析ソフトで計算して統計解析した。溶液中の可逆的な構造変化については、表面プラズモン共鳴シフトも併用して解析した。

(2)刺激応答性を示すDNA担持ハイドロゲルの開発：温度応答性高分子であるポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)(PNIPAAm)とDNAのブロック共重合体を測定対象にして、PNIPAAm部位の相変化に伴う共重合体の自己集積化によるミセル形成過程と、そのコロイド分散安定性のメカニズムを詳細に検討した。さらに、ミセル内部に化学架橋を施すことでDNAナノゲルの作製を試み、DNAナノゲル構造の温度応答性と薬物徐放性との相関を調べた。

(3)DNA界面の特性解析に基づく細胞培養基

板の開発：水溶液中で向かい合う2つのDNA界面間で発生する力(表面力)を、コロイドプローブAFM法を用いて直接計測した。DNA界面表層の塩基構造(対合ありまたは対合なし)や水溶液のNaCl濃度が、表面力に与える影響を系統的に評価し、DNA界面の特性を調べた。続いて、表面力測定の結果に基づき、培養細胞の接着・伸展挙動の制御を目指したDNA界面の設計および評価を行った。表面にDNA界面を形成させた金基板を培地溶液に浸漬させ、接着細胞の懸濁液を播種して培養を行い、DNA界面上における細胞接着数や伸展状態を評価した。

(4)DNAナノ粒子を用いるバイオ分析法：二重鎖DNA担持金ナノ粒子は、高いイオン強度下で自発的に凝集するが、粒子の表層部に一塩基突出構造を導入すると、粒子の分散安定性は著しく増大する。この粒子の凝集・分散は鮮やかな色調変化を与えることから、遺伝子一塩基多型(SNP)の目視識別およびDNA親和性薬物の目視探索に応用することを検討した。また、疎水核をナノスケールからナノロッドやナノプレートに変えた際の色変化特性も合わせて評価した。

4. 研究成果

(1)ナノ粒子集合体：DNAを担持した金ナノ粒子を鋳型DNAの上に3つ配置して、糸ビーズ状の粒子集合体を作製した。粒子表面のDNAを完全相補の二重鎖にすると、集合体内部の粒子間距離が短縮した。一方、粒子表面に担持されたDNA二重鎖の分散媒側の末端が一塩基ミスマッチの場合は、粒子間距離に変化はなかった。この末端塩基対に特異的な構造収縮は、透過型電子顕微鏡とクライオ電子顕微鏡による顕微観察、および粒子間距離の短縮に伴う金ナノ粒子の表面プラズモン吸収バンドの長波長シフトで実証された(発表論文11)。

続いて、ローリングサークル増幅法で合成された繰り返し配列をもつ長い鋳型DNAの上に300個以上の粒子を配置して、巨大な糸ビーズ状集合体を作製した。粒子表面のDNA二重鎖が完全相補の場合は、糸ビーズ状集合体は基板上で円盤状に収縮し、金ナノ粒子の2次元アレイを与えることが透過型電子顕微鏡で観察された。また、糸ビーズ状集合体での粒子間隔や、粒子表面に担持したDNAの鎖長、金ナノ粒子の粒径などを変えることで、さまざまな形状の2次元アレイが自発的に生成することを見出した。一方、粒子表面のDNA二重鎖の末端がミスマッチの場合は、粒子集合体は線状のままだった(発表論文1)。

当初の計画にはなかったが、DNA担持金ナノロッドも研究対象に加え、DNA担持金ナノ粒子3量体の会合挙動と比較した。異なる配列のDNAで金ナノロッドの側面と両端面をそれぞれ表面修飾し、側面DNAの完全相補鎖と、両端面DNAの末端ミスマッチ鎖

を加えたところ、金ナノロッドが側面同士で接して横に並ぶことが透過型電子顕微鏡で観察された。逆に、側面 DNA がミスマッチで、両端面 DNA が完全相補のときは、縦に並んだ金ナノロッド集合体を得られた。さらに、水銀イオンを介する非天然型塩基対を末端部位に導入することで、金ナノロッドの横並びと縦並びを相互変換することにも成功した（発表論文 4）。興味深いことに、同様の配向制御は上述の DNA 担持金ナノ粒子 3 量体でも達成された（論文作成中）。3 量体の中央に位置する粒子の表面 DNA 二重鎖を完全相補、両端に位置する粒子の表面 DNA 二重鎖を末端ミスマッチにすると、3 量体は側面で接して並んだ（ナノロッドの横並びに相当）。逆に、3 量体の両端の粒子の表面 DNA 二重鎖を完全相補、中央を末端ミスマッチにすると、縦に並んだ 3 量体が観察された（ナノロッドの縦並びに相当）。

以上の結果は、粒子表面の DNA 二重鎖が完全相補のときは粒子間に引力が発現し、末端ミスマッチの粒子間（および完全相補の粒子と末端ミスマッチの粒子との間）には斥力が生じることを示唆しており、このルールで糸ビーズ状集合体の構造変化と会合挙動をすべて合理的に説明できる。すなわち、DNA はナノ材料間の引力/斥力相互作用を自在にデザインできる優れた表面修飾剤であり、次世代の光電子デバイスやバイオ分析デバイスへの応用が期待できる。

(2)DNA ハイドロゲル：PNIPAAm を原子移動ラジカル重合により精密合成した。この PNIPAAm の片末端に一本鎖 DNA の片末端を結合することでブロック共重合体とし、その温度応答性を調べた。この共重合体は室温で親水性を示す、加温によって PNIPAAm 部位が相転移を起こすと、共重合体の集積が始まる。その結果、PNIPAAm 部位が集積してできた疎水核のまわりを一本鎖 DNA が覆ったコア-シェル型の球状ミセルを生成する。DNA 鎖の静電反発に加え、一本鎖の柔軟性に起因する立体斥力により、高塩濃度下でもミセル粒子は安定に分散した。その後、相補 DNA とハイブリダイゼーションさせて二重鎖を形成させると、ミセル粒子は凝集した。

一方、予め相補 DNA と二重鎖形成させたブロック共重合体の温度応答性を調べた（図 1）。相転移温度以下でも、高塩濃度下で二重鎖 DNA 同士の疎水性相互作用による分子鎖集積が指摘されていたが、そのような現象は観測されなかった。加温による相転移により、これまでと同じコア-シェル型のミセル粒子が観測され、相転移直後にミセル粒子は凝集した。これらの結果は、粒子間凝集はファンデルワールス力の作用によるものであり、二重鎖 DNA を起点とした凝集ではないことを意味する。ミセル間の斥力相互作用の低下により凝集が生じたと考えられる（発表論文 9）。

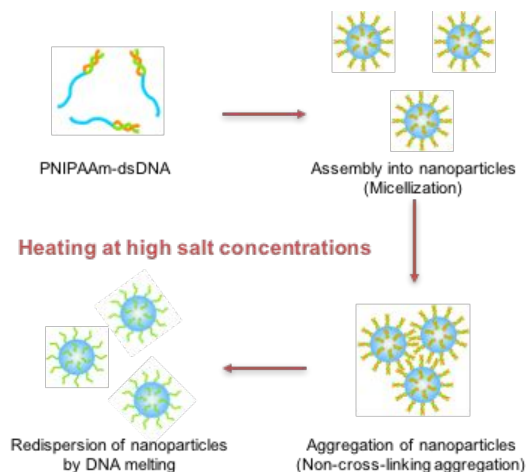


図 1 二重鎖 DNA 担持高分子ミセルの作製

PNIPAAm 部の相転移によって生成するミセルは、疎水化した PNIPAAm 同士が物理架橋されたナノゲルとみなせるため、相転移温度以下では容易に崩壊してしまう。この欠点を克服するため、分子鎖間の化学架橋によるミセル構造の安定化を試みた。反応基を有するモノマーを第二成分とする PNIPAAm 共重合体を合成し、その片末端に DNA を結合させて三成分共重合体を得た。これをミセル形成する温度まで加熱した後で、架橋剤を添加してミセル内部での分子鎖間架橋反応を起こし、分散安定性の高い DNA ナノゲルを簡便に作成することに成功した。温度に responding PNIPAAm 部位が可逆的に水和と脱水和を起こすことに起因する、ナノゲルの可逆的な膨張・収縮が確認された。また、このナノゲルが疎水性化合物を内包する能力を有するとともに、温度に responding 構造変化によって内包物を徐放できることも確認された。さらに、光架橋反応による DNA ナノゲルの構築も試みた。光反応基をもつモノマーとの共重合体を作製し、その水溶液を加熱することで PNIPAAm 鎖を自己集積させて DNA ナノゲルを形成させた。光照射による環化反応を施した結果、ミセル構造は相転移温度以下でも維持され、さらに温度に responding して膨張・収縮できることが実証された（論文作成中）。

(3)DNA 界面の特性解析：コロイドプローブ AFM 法を用いて、DNA 界面間に発生する表面力をさまざまな NaCl 濃度の水溶液中で測定した（図 2）。表層が塩基対合した（G-C ペア）DNA 界面同士を接近させると、NaCl 濃度 100 mM 以下で斥力、250 mM 以上で引力を示すフォースカーブが観測された。一方、表層が塩基対合していない（CC ミスマッチ）DNA 界面同士を接近させると、溶液の NaCl 濃度によらず斥力を示すフォースカーブが得られた。また、DNA 界面のゼータ電位測定によって、表層塩基対合の有無が表面電荷に影響しないことが確認された。溶液中の NaCl 濃度の上昇に伴い、DNA 界面の

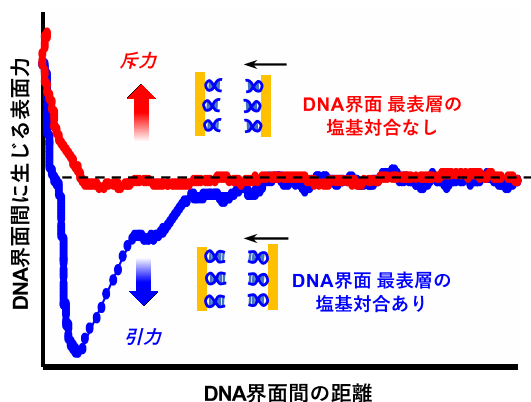


図2 高 NaCl 濃度条件でのフォースカーブ

電荷中和に加えて DNA 鎖が徐々に脱水和し、塩基対合した最表層でスタッキングが増強される機構が示唆された (発表論文 8)。

上記の機構に基づけば、DNA 界面の表層における塩基対合の有無は、表層の水和状態を支配し、タンパク吸着、さらには培養細胞の接着・伸展に影響を与えることが期待される。そこで、表層構造の異なる DNA 界面を表面に形成した金基板を DMEM 培地に浸漬し、MDCK 細胞の懸濁液を播種して培養を行った。その結果、最表層に一本鎖 DNA 部位 (5 塩基以上) を有する DNA 界面と比較して、完全相補の二重鎖 DNA を提示した DNA 界面の上には MDCK 細胞が比較的多く接着し、大きく伸展する傾向が確認された (論文作成中)。

(4) 遺伝子目視診断法 : 薬物代謝酵素のシトクロム P450 2C19 遺伝子を測定対象に選び、DNA ナノ粒子を使った SNP 目視診断法を開発した (図 3)。まず、化学合成したモデル遺伝子を用いて測定原理の妥当性を確認した (発表論文 13)。また、ナノロッドやナノプレートなどの形状異方性粒子もナノスフェアと同様に迅速な SNP 目視識別ができるだけでなく、ナノスフェアと異なる発色特性 (分散で青色、凝集で灰色) を示すことが明らかになった (発表論文 10)。続いて、被験者 3 名の毛根細胞から抽出したゲノムをサンプルに用いた SNP 診断を実施した。室温で 10 分以内に色変化が観察され、DNA シーケンサーで決定された配列情報とも一致したことから、簡便、迅速、かつ正確に遺伝子診断ができることが実証された (発表論文 7)。また、SNP の目視検出を可能にする金ナノ粒子凝集の 2 つの様式 (架橋凝集と非架橋凝集) を比較検討した結果、遺伝子サンプルの濃度が十分に高い場合は、本研究の非架橋凝集の方が既存の架橋凝集よりも迅速に色変化を与えることが明らかになった (発表論文 6)。さらに、暗視野電子顕微鏡で散乱光強度を測定して凝集の初期過程を追跡することで、わずか 100 fM のサンプルでも SNP を検出することが可能となり、本手法の高感度化も達成された (発表論文 14)。

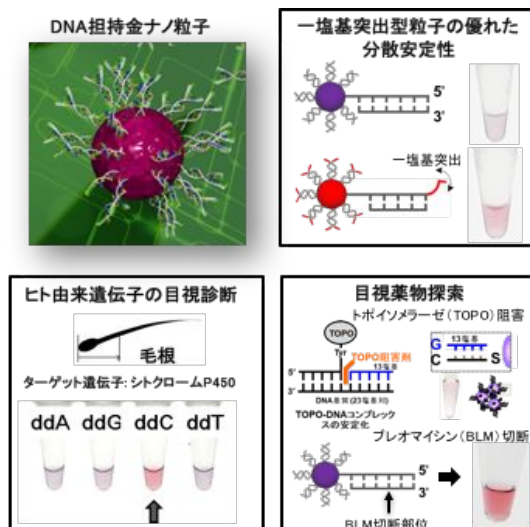


図3 簡便・迅速な目視バイオ分析法の構築

同じ測定原理を、DNA 親和性薬物の目視探索法にも展開した (図 3)。トポイソメラーゼ阻害剤 (カンプトテシンなど) の存在下で生成する基質 DNA の切断断片を、DNA 担持金ナノ粒子の色調変化で目視検出する薬物評価システムが構築できた (論文作成中)。また、DNA 切断活性をもつ薬物 (プレオマイシン) を DNA 担持金ナノ粒子と反応させると、粒子上の二重鎖 DNA が末端突出構造に変化して粒子凝集が抑制される薬物評価システムの構築にも成功した (論文作成中)。以上の結果から、本法をさまざまな DNA 親和性薬物を目視探索する手法に展開することが期待できる。

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 24 件)

- S. Shiraishi, L. Yu, Y. Akiyama, G. Wang, T. Kikitsu, K. Miyamura, T. Takarada, M. Maeda, Folding of nanoparticle chains into 2D arrays: structural change of DNA-functionalized gold nanoparticle assemblies, *Adv. Mater. Interfaces*, in press. 査読有
DOI: 10.1002/admi.201800189
G. Wang, T. Bu, T. Zako, R. Watanabe-Tamaki, T. Tanaka, M. Maeda, Dark field microscopic analysis of discrete Au nanostructure: understanding the correlation of scattering with stoichiometry, *Chem. Phys. Lett.* **684**, 310–315 (2017). 査読有
DOI: 10.1016/j.cplett.2017.07.012
G. Wang, Y. Liu, C. Gao, L. Guo, M. Chi, K. Ijro, M. Maeda, Y. Yin, Island growth in the seed-mediated overgrowth of monometallic colloidal nanostructures, *Chem* **3**, 678–690

(2017). 査読有
DOI: 10.1016/j.chempr.2017.08.004
G. Wang, Y. Akiyama, N. Kanayama, T. Takarada, M. Maeda, Directed assembly of gold nanorods by terminal-base pairing of surface-grafted DNA, *Small* **13**, 1702137 (2017). 査読有
DOI: 10.1002/smll.201702137
C.-C. Chang, G. Wang, T. Takarada, M. Maeda, Iodine-mediated etching of triangular gold nanoplates for colorimetric sensing of copper ion and aptasensing of chloramphenicol, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9**, 34518–34525 (2017). 査読有
DOI: 10.1021/acsami.7b13841
G. Wang, Y. Akiyama, S. Shiraishi, N. Kanayama, T. Takarada, M. Maeda, Cross-linking versus non-cross-linking aggregation of gold nanoparticles induced by DNA hybridization: a comparison of the rapidity of solution color change, *Bioconjugate Chem.* **28**, 270–277 (2017). 査読有
DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00410
Y. Akiyama, G. Wang, S. Shiraishi, N. Kanayama, T. Takarada, M. Maeda, Rapid naked-eye discrimination of cytochrome P450 genetic polymorphism through non-crosslinking aggregation of DNA-functionalized gold nanoparticles, *ChemistryOpen* **5**, 508–512 (2016). 査読有
DOI: 10.1002/open.201600110
N. Kanayama, T. Sekine, K. Ozasa, S. Kishi, T. Nyu, T. Hayashi, M. Maeda, Terminal-specific interaction between double-stranded DNA layers: colloidal dispersion behavior and surface force, *Langmuir* **32**, 13296–13304 (2016). 査読有
DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b03470
M. Fujita, H. Hiramane, P. Pan, T. Hikima, M. Maeda, Effects of complementary DNA and salt on the thermoresponsiveness of poly(*N*-isopropylacrylamide)-*b*-DNA, *Langmuir* **32**, 1148–1154 (2016). 査読有
DOI: 10.1021/acs.langmuir.5b04141
G. Wang, Y. Akiyama, T. Takarada, M. Maeda, Rapid non-crosslinking aggregation of DNA-functionalized gold nanorods and nanotriangles for colorimetric single-nucleotide discrimination, *Chem. Eur. J.* **22**, 258–263 (2016). 査読有
DOI: 10.1002/chem.201503834
Y. Akiyama, H. Shikagawa, N. Kanayama, T. Takarada, M. Maeda, Modulation of interparticle distance in

discrete gold nanoparticle dimers and trimers by DNA single-base pairing, *Small* **11**, 3153–3161 (2015). 査読有
DOI: 10.1002/smll.201500045
C. Ma, P. Pan, G. Shan, Y. Bao, M. Fujita, M. Maeda, Core-shell structure, biodegradation, and drug release behavior of poly(lactic acid)/poly(ethylene glycol) block copolymer micelles tuned by macromolecular stereostructure, *Langmuir* **31**, 1527–1536 (2015). 査読有
DOI: 10.1021/la503869d
Y. Akiyama, H. Shikagawa, N. Kanayama, T. Takarada, M. Maeda, DNA dangling-end-induced colloidal stabilization of gold nanoparticles for colorimetric single-nucleotide polymorphism genotyping, *Chem. Eur. J.* **20**, 17420–17425 (2014). 査読有
DOI: 10.1002/chem.201404801
T. Bu, T. Zako, M. Fujita, M. Maeda, Detection of DNA induced gold nanoparticle aggregation with dark field imaging, *Chem. Commun.* **49**, 7531–7533 (2013). 査読有
DOI: 10.1039/c3cc44182b

[学会発表](計 200 件)

Y. Akiyama, T. Takarada, M. Maeda, “Non-crosslinking phenomena of double-stranded DNA-functionalized gold nanoparticles: approach to nanomaterials science,” The International Union of Materials Research Society-The 15th International Conference on Advanced Materials, 2017.
M. Maeda, “Nano-bio architectures from double-stranded DNA-functionalized nanoparticles,” Advanced Materials for Biomedical Applications, 2017.
M. Maeda, “Non-cross-linking aggregation of nanoparticles carrying double-stranded DNA: directed assembly, mechanism, and sensor application,” The International Advanced Drug Delivery Symposium, 2017.
M. Maeda, “Nano-bio architectures based on DNA conjugate chemistry,” MANA International Symposium, 2017.
Y. Akiyama, T. Takarada, M. Maeda, “Non-crosslinking phenomena of DNA-modified gold nanoparticles: approach to nanomaterials science,” SPIRITS 3rd International Symposium, 2017.
M. Maeda, “Double-stranded DNA-functionalized nanoparticle

assembly for sensing,” ASIANALYSIS XIII, 2016.

M. Maeda, “Rapid non-crosslinking aggregation of DNA-functionalized gold nanoparticles for colorimetric single-nucleotide discrimination,” IUPAC International Conference on Advanced Polymeric Materials Commemorating the 40th Anniversary of the Polymer Society of Korea, 2016.

M. Maeda, “Non-cross-linking aggregation of nanoparticles carrying double-stranded DNA: molecular mechanism and application,” The 2nd International Symposium on Smart Biointerface Science and Engineering, 2016.

M. Maeda, “Unique properties of double-stranded DNA-functionalized nanoparticles,” The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, 2015.

M. Maeda, “DNA-functionalized nanoparticles for reliable diagnostics,” World Engineering Conference and Convention, 2015.

G. Wang, N. Kanayama, T. Takarada, M. Maeda, “Directed self-assembly of anisotropic nanoparticles by DNA single-base pairing,” BIT’s 6th World Gene Convention, 2015.

M. Maeda, “Stimuli-responsive assembly of dsDNA-functionalized nanoparticles,” IUPAC 11th International Conference on Advanced Polymers via Macromolecular Engineering, 2015.

M. Maeda, “Double-helical DNA-functionalized nanoparticles for reliable genotyping and chemical sensing,” International Symposium on Smart Biomaterials, 2015.

M. Maeda, “Double-helical DNA-functionalized nanoparticles for bio- and chemical-sensing,” JSPS A3 Foresight International Symposium on Nano-Biomaterials and Regenerative Medicine, 2014.

M. Maeda, “DNA duplex-carrying nanoparticles for chemical sensing,” International Bioscience Conference, 2014.

M. Maeda, “DNA-functionalized nanoparticle for chemical- and bio-sensing,” The 3rd International Summer Course Single Molecular/Nanoparticle Spectroscopy and Imaging, 2014.

M. Maeda, “Smart biomaterials for DNA analyzing tools,” 13th International

Conference on Modern Materials and Technologies, 2014.

M. Maeda, “Double-helical DNA-functionalized gold nanoparticles for bio and chemical sensing,” Tokyo Metropolitan University International Kick Off Workshop for the Research Center for Gold Chemistry, 2014.

M. Maeda, “DNA-carrying nanoparticles for biosensing,” 12th Asian Conference on Analytical Sciences, 2013.

M. Maeda, “Biosensing using DNA-carrying nanoparticles,” 10th International Symposium on Frontiers in Biomedical Polymers, 2013.

〔図書〕(計2件)

藤田雅弘 他、エヌ・ティー・エス、刺激応答性高分子ハンドブック、2018、印刷中。
宝田徹 他、化学同人、医療・診断・創薬の化学、2017、63-68。

〔その他〕

ホームページ

<http://www.riken.jp/lab-www/bioengineering/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田 瑞夫 (MAEDA, Mizuo)

国立研究開発法人理化学研究所・前田バイオ工学研究室・主任研究員

研究者番号：10165657

(2) 研究分担者

宝田 徹 (TAKARADA, Tohru)

国立研究開発法人理化学研究所・前田バイオ工学研究室・主任研究員

研究者番号：30336010

秋山 好嗣 (AKIYAMA, Yoshitsugu)

東京理科大学・基礎工学部教養(長万部)・講師

研究者番号：40640842

(平成27年度より追加)

藤田 雅弘 (FUJITA, Masahiro)

国立研究開発法人理化学研究所・前田バイオ工学研究室・主任研究員

研究者番号：50342845

金山 直樹 (KANAYAMA, Naoki)

信州大学・総合工学系研究科(長野)・准教授(特定雇用)

研究者番号：80377811