

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440027

研究課題名(和文) タンパク質性アミロイド線維凝集過程における生物学的毒性評価とその抑制

研究課題名(英文) Evaluation of cytotoxicity and control of protein aggregation in the amyloid fibril formation

研究代表者

河田 康志 (Kawata, Yasushi)

鳥取大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：40177697

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：神経変性病を引き起こすタンパク質(シヌクレイン, SOD1, A-βペプチド)のアミロイド線維形成メカニズムや特徴をアミノ酸レベルで明らかにするとともに, その過程で生じる凝集分子種の細胞毒性について評価した。また, アミロイド線維凝集形成を抑制するアントシアニンの作用機作や特徴について分子論的に明らかにした。アントシアニンは細胞毒性を有しない非アミロイド性の凝集体に導く働きをしていることが分かった。

研究成果の概要(英文)：We clarified the characteristics and mechanism of amyloid fibril formation of neurodegenerative disease causative proteins, such as alpha-synuclein, SOD1, and A-beta peptide, at amino acid level. We also evaluated cytotoxicity of the molecular species during amyloid fibril or aggregates formation process in the presence or absence of anthocyanins. We found that anthocyanins suppressed amyloid fibril formation by bypassing the protein molecules to mediate formation of amorphous aggregates that are not harmful for cells.

研究分野：生物学

キーワード：タンパク質 アミロイド線維 タンパク質凝集抑制 神経変性病

1. 研究開始当初の背景

遺伝子がコードしている酵素・タンパク質は細胞内で合成され、正しい場所で活性を発揮するために、それぞれの特異的な立体構造をとることが必須である、とこれまでは考えられてきた。しかし、ヒトゲノム解析がなされた後、様々なタンパク質産物の実態が分かってきた結果、固有の立体構造を必ずしも形成せず機能を果たすタンパク質も多く存在していることが明らかになってきた。これらのタンパク質は総称して天然変性タンパク質と呼ばれている。天然変性タンパク質は、その結合すべき相手分子に対応して形を作り、多様な標的の認識を可能にしていると考えられている。これは、タンパク質による分子認識の古典的描像である“鍵と鍵穴”モデルを否定し、誘導適合の概念の大幅な変更を促すものであった。これらの天然変性タンパク質は遺伝子発現調節タンパク質や DNA と相互作用するものが多いが、脳神経細胞内に多量に存在しているものもある。その一つにシヌクレインタンパク質がある。このシヌクレインは天然変性タンパク質でありながら、アミロイド線維を形成し、パーキンソン病の発症と密接に関連しているが、その本来の生物学的機能の役割や、どのような形の分子種が細胞毒性を示すのかはまったく分かっていなかった。

一方、申請者らは、固有の特異的な立体構造を形成しているタンパク質でさえも、変性させると天然変性タンパク質と同様な性質を示し、典型的なアミロイド線維を形成することを、分子シャペロンの一つであるコシャペロン GroES を用いて世界で初めて示し、その分子論的機構を明らかにした。また、筋萎縮性側索硬化症(ALS 病)に関連している SOD1 タンパク質は、構造が不安定化することでアミロイド線維を形成することを発見した。天然変性タンパク質であるシヌクレインはパーキンソン病原因タンパク質であり、GroES は正しい構造を作らせる働きをする分子シャペロンタンパク質、SOD1 は酵素の一つであり、ALS 病原因タンパク質である。

これらの結果と実験事実から、元来変性しているタンパク質であるシヌクレインと構造が不安定化して変性した GroES や SOD1 タンパク質の間に、何が共通していて、何が異なっているのかを分子論的に明らかにすることができれば、細胞内でのタンパク質の本来の機能についても明らかになることが予想されると考えられた。また、病気を発症させる細胞毒性作用がどの分子種かを見極め、それらを制御する方法を明らかにすることが重要であった。

2. 研究の目的

上記に示した背景と研究経緯に基づいた着想から、本研究では、天然変性タンパク質を含めた変性タンパク質の構造ダイナミクス特性を明らかにし、アミロイド線維凝集

機構を細胞毒性という観点から明らかにするとともに、その制御方法の解明を行うことを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

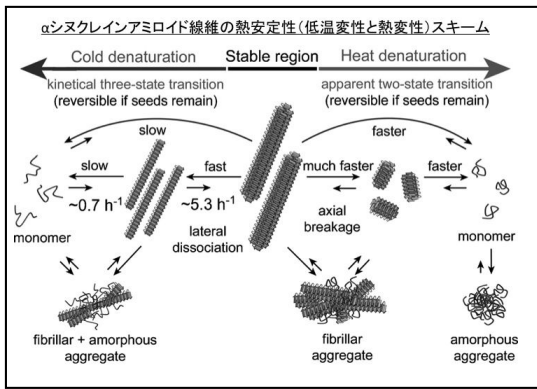
天然変性タンパク質として代表的なパーキンソン病原因タンパク質であるシヌクレインや SOD1 を中心にしたアミロイド線維形成メカニズムについて遺伝子変異手法を駆使して、*in vitro* 基盤研究を詳細に行った (*in vitro* 研究)。また、アミロイド線維凝集過程で示す毒性分子種の構造特性を培養細胞を用いて探り、生物学的意義を探った (*ex-vivo* 研究)。さらに、アルツハイマー病を発症するトランスジェニックマウスを用いた、ポリフェノール、アントシアニンによる発症抑制効果を研究した (*in vivo* 研究)。*in vitro* から *ex-vivo*、*in vivo* 研究に渡る幅広い手法によって、タンパク質のアミロイド線維凝集メカニズム、細胞毒性を示す構造特性の解明とマウス動物での発症抑制・メカニズムを明らかにし、神経変性病に関わる基盤研究を推進した。

4. 研究成果

【*in vitro* 研究におけるアミロイド線維形成メカニズム】

(1) シヌクレインタンパク質

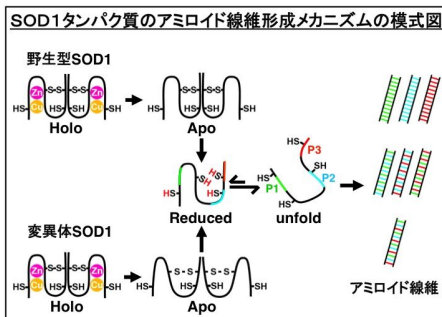
パーキンソン病発症原因であるシヌクレインタンパク質を用いたアミロイド線維形成機構について、蛋白質工学的手法を駆使して研究を行い、その核部位周辺の負電荷と正電荷のバランスの重要性を明らかにした。シヌクレインタンパク質は本来立体構造を有しておらず、溶液中では非常に柔軟性に富む、いわゆる天然変性タンパク質である。このタンパク質を試験管内で長時間インキュベーションするとアミロイド線維凝集を形成するがこのときアミロイド核を形成する疎水性に富むアミノ酸残基領域とその前後周辺に存在している正電荷と負電荷アミノ酸残基は、アミロイド線維凝集形成に重要な因子となり得ることを蛋白質工学的変異導入法によって明らかにした。また、アミロイド線維の熱安定性にもこの電荷が効いていることが明らかになった。すなわち、アミロイド線維は熱をかけることによっても壊れるが、低温にすることもいわゆる低温変性が起こり、アミロイド線維は壊れることを明らかにした。さらに、アミロイド線維の形成と溶解に超音波照射が効果的であることも分かった。シヌクレインのアミロイド線維は超音波照射によって分解されるが、培養細胞を用いた毒性評価の実験ではかえって細胞毒性が高くなることが分かった。



(2) SOD1タンパク質

筋側索硬化症発症原因タンパク質であるSOD1の*in vitro*でのアミロイド線維形成とその制御メカニズムに関して分子内部のジスルフィド結合が重要であることを明らかにした。すなわち、SOD1のアミロイド線維形成メカニズムについて蛋白質の構造安定性と関連させて詳細に調べたところ、銅と亜鉛が脱離したアポ体のSOD1の分子内部に位置するSS結合がさらに還元されるとアミロイド線維がすみやかに形成されることが明らかになった。このアミロイド線維の中心部位(核)を担っている領域をペプチドマッピングで検索した結果、SOD1のN末端領域と中央領域、C末端領域の3カ所に相当する部位を同定することができた。その同定したアミロイド線維の核部位の合成ペプチドを用いてアミロイド線維形成を試みた結果、それぞれのペプチド単独でも、さらに2つ、3つのペプチドの組み合わせでもアミロイド線維形成が起こることを明らかにした。

一方、家族性変異体であるSOD1の場合ではアポ体自体がかなり不安定化されており、生体内の還元環境下でその変異体SOD1のSS結合が還元されやすいのでアミロイド線維形成が早く起こることが明らかになった。この結果は家族性ALSの早期発症原因が蛋白質科学的に解釈できることを示している。

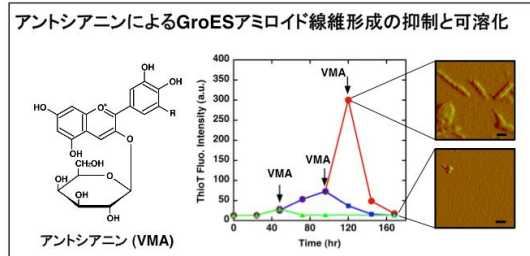


【*ex-vivo* 研究における細胞毒性評価とポリフェノールアントシアニンによるアミロイド線維形成制御研究】

アミロイド線維形成反応過程で生じる分子

種の細胞毒性について、培養細胞Neuro2Aを用いて調べ、以下について明らかにした。

すなわち、病気とは関連性のないものの、変性条件下では典型的なアミロイド線維を形成することを我々が独自に見出しているコシャペロニンGroESを用いて、その凝集過程に生じる分子種やアミロイド線維自体の細胞毒性を調べた。その結果、GroESアミロイド線維形成途中の中間体分子種に高い細胞毒性があることを世界で初めて明らかにした。またポリフェノールの一種であるアントシアニンによって、このアミロイド線維形成がほぼ完全に抑制されるとともに、すでに形成されたアミロイド線維も可溶化されることを明らかにした。さらに、途中に生じた細胞毒性を示す分子種の形成もアントシアニンの添加によって抑制され、その結果、無毒化されることが判明した。アントシアニン添加によってアミロイド線維ではなく、アモルファスな凝集体が形成されるがそれには細胞毒性は見られなかった。



【アントシアニンを用いたアミロイド線維凝集制御の*in vivo*研究】

神経変性疾患の発症原因の一つにはタンパク質の凝集が関与しており、構造に富んだアミロイド線維形成中に細胞毒性を示す分子種が生じることが問題であり、その分子種の形成抑制が*in vitro*だけではなく、*in vivo*でも制御できることが望ましい。前述したように、アントシアニンはアミロイド線維形成を抑制し、培養細胞に対する毒性緩和効果があることが分かったので、アルツハイマー病発症モデルマウスを用いた*in vivo*研究を行った。

A 1-42ペプチドは凝集性が非常に高く、数時間でアミロイド線維を形成し、そのアミロイド線維形成反応中に生じるオリゴマー分子種がマウス神経細胞であるNeuro2Aに対して毒性を示すことが分かった。しかし、ここにアントシアニンを共存させると不定形の凝集体はできるものの、アミロイド線維は形成されず、細胞毒性も観測されることが分かった。このアントシアニンの効果を*in vivo*で確かめるため、アルツハイマー病モデルマウスにアントシアニンを豊富に含むビルベリーエキス(VMA)を食餌に混ぜて摂取させたところ、摂取させていないマウスに比べてY字迷路試験による短期記憶力の低下が抑制

されることが明らかになった。すなわち，マウスを用いた *in vivo* においてもアントシアニンによる効果が認められたということである。脳細胞の病理学的解析においては，アントシアニンを与えた場合，A ペプチドの沈着量は予想に反して現象は見られず，むしろ増加気味であったが，これは *in vitro* の結果と同様に毒性には関与しないアモルファスな凝集体形成であるものと予想された。このモデルマウスを用いた *in vivo* 研究からアルツハイマー病の発症予防にアントシアニンが有効であることを示唆している。

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8件)

Structural basis of Cu, Zn-superoxide dismutase amyloid fibril formation involves interaction of multiple peptide core regions

Masataka Ida, Mizuho Ando, Masayuki Adachi, Asumi Tanaka, Kodai Machida, Kunihiro Hongo, Tomohiro Mizobata, Miho Yoshida Yamakawa, Yasuhiro Watanabe, Kenji Nakashima, and Yasushi Kawata

J. Biochem. **159** (2), 247-260 (2016) (査読有)

Anthocyanin suppresses the toxicity of A β deposits in *in vitro* and *in vivo* models of Alzheimer's disease

Miho Yoshida Yamakawa, Kazuyuki Uchino, Yasuhiro Watanabe, Tadashi Adachi, Mami Nakanishi, Hikari Ichino, Kunihiro Hongo, Tomohiro Mizobata, Saori Kobayashi, Kenji Nakashima, and Yasushi Kawata

Nutritional Neuroscience, **19** (1), 32-42 (2016) (査読有)

Cryogenic coherent X-ray diffraction imaging for biological non-crystalline particles using the KOTOBUKI-1 diffraction apparatus at SACLA

Tomotaka Oroguchi, Yuki Sekiguchi, Amane Kobayashi, Yu Masaki, Asahi Fukuda, Saki Hashimoto, Masayoshi Nakasako, Yuichi Ichikawa, Hitoshi Kurumizaka, Mitsuhiro Shimizu, Yayoi Inui, Sachihiko Matsunaga, Takayuki Kato, Keiichi Namba, Keiichi Yamaguchi, Kazuo Kuwata, Hiroshi Kameda, Naoya Fukui, Yasushi Kawata, Takashi Kameshima, Yuki Takayama, Koji Yonekura, Masaki Yamamoto

J. Physics B: Atomic, Molecular and Optical Physics, **48** (18), 184003 (2015) (査読有)

Ultrasonication-dependent formation and degradation of α -synuclein amyloid fibrils

Hisashi Yagi, Aiko Mizuno, Masatomo So, Miki Hirano, Masayuki Adachi, Yoko

Akazawa-Ogawa, Yoshihisa Hagihara, Tatsuya Ikenoue, Young-Ho Lee, Yasushi Kawata, and Yuji Goto

Biochim. Biophys. Acta/Proteins and Proteomics **1854** (3), 209-217 (2015) (査読有)

Cold Denaturation of Alpha-Synuclein Amyloid Fibrils

Tatsuya Ikenoue, Young-Ho Lee, József Kardos, Miyu Saiki, Hisashi Yagi, Yasushi Kawata, and Yuji Goto

Angew. Chem. Int. Ed., **53**, 7799-7804 (2014) (査読有)

Bilberry anthocyanins neutralize the cytotoxicity of co-chaperonin GroES fibrillation intermediates

Hisanori Iwasa, Hiroshi Kameda, Naoya Fukui, Sakiho Yoshida, Kunihiro Hongo, Tomohiro Mizobata, Saori Kobayashi, and Yasushi Kawata

Biochemistry, **52**(51), 9202-9211 (2013) (査読有)

Probing the Dynamic Process of Encapsulation in Escherichia coli GroEL

Toshifumi Mizuta, Kasumi Ando, Tatsuya Uemura, Yasushi Kawata, and Tomohiro Mizobata

PLoS ONE, **8** (10), e78135 (2013) (査読有)

Amyloid fibril formation mechanism of alpha-synuclein, a causative protein of Parkinson's disease

Yasushi Kawata

Proceedings of the Specialist Research Meeting on 'Abnormal protein aggregation and the folding diseases, and their protection and repair system', KURRI-KR-184, pp. 26-30 (2013) (査読無)

[学会発表](計31件)

ALS発症原因タンパク質 SOD1 の構造安定性とアミロイド線維形成機構

井田昌孝, 安藤瑞歩, 本郷邦広, 溝端知宏, 河田康志

BMB2015:第38回日本分子生物学会年会, 第8回日本生化学会大会, 2015年12月2日, 神戸国際会議場(神戸市)

アントシアニンによる クリスタリン蛋白質の凝集抑制

下田 香, 山下 智, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織, 河田康志

BMB2015:第38回日本分子生物学会年会, 第8回日本生化学会大会, 2015年12月2日, 神戸国際会議場(神戸市)

アントシアニンによる家族性 ALS 原因タンパク質 SOD1 G93A のアミロイド線維形成抑制

安藤瑞歩, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織, 河田康志

BMB2015:第38回日本分子生物学会年会,

第 8 8 回日本生化学会大会, 2015 年 12 月 1 日, 神戸国際会議場(神戸市)

蛋白質の安定性と構造変化がもたらすアミロイド線維形成

河田康志

京都大学原子炉実験所特別講演会, 2015 年 10 月 27 日, 京都大学原子炉実験所(大阪府泉南郡熊取町)

タンパク質の構造形成と凝集形成(招待教育講演)

河田康志

第 54 回日本白内障学会総会, 第 4 1 回水晶体研究会, 2015 年 9 月 19 日, ミッドランドホール(名古屋市)

シヌクレインの添加物によるアミロイド線維形成への影響

平野 美貴, 宗 正智, 八木寿梓, 河田康志, 後藤祐児

第 5 3 回日本生物物理学会年会, 2015 年 9 月 15 日, 金沢大学(金沢市)

シナプス小胞膜を模倣した膜上でのシヌクレイン線維形成メカニズム

寺川まゆ, 林 雨曦, 池之上達哉, 福井直也, 河田康志, 李 映昊, 後藤祐児

第 5 3 回日本生物物理学会年会, 2015 年 9 月 14 日, 金沢大学(金沢市)

Effect of GroEL Apical Domain on the Aggregation of α -Synuclein

Bimlesh Ojha, Kunihiro Hongo, Tomohiro Mizobata, and Yasushi Kawata

第 15 回日本蛋白質科学会年会, 2015 年 6 月 25 日, あわぎんホール(徳島市)

シヌクレインのアミロイド線維形成抑制を引き起こすアントシアニンの作用機構

李 石, 平川和哉, 本郷邦広, 溝端知宏, 河田康志

第 15 回日本蛋白質科学会年会, 2015 年 6 月 25 日, あわぎんホール(徳島市)

パーキンソン病原因タンパク質 シヌクレインのアミロイド線維形成抑制におけるアントシアニンの作用機構

李 石, 平川和哉, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織, 河田康志

第 5 6 回日本生化学会中国四国支部例会, 2015 年 5 月 30 日, 島根大学(松江市)

Bilberry Anthocyanins Neutralize the Cytotoxicity of Co-Chaperonin GroES Fibrillation Intermediates

Hiroshi Kameda, Hisanori Iwasa, Naoya Fukui, Sakiho Yoshida, Kunihiro Hongo, Tomohiro Mizobata, Saori Kobayashi, and Yasushi Kawata

The 4th Asia Pacific Protein Association Conference, May 19, 2014, Jeju, Korea

Role of the disulfide bond of Cu, Zn-superoxide dismutase in the amyloid fibril formation and identification of the amyloid core peptides

Masataka Ida, Mizuho Ando, Asumi Tanaka, Kunihiro Hongo, Tomohiro Mizobata, and

Yasushi Kawata

The 4th Asia Pacific Protein Association Conference, May 19, 2014, Jeju, Korea

Mechanism of amyloid fibril formation of alpha-synuclein, a causative protein of Parkinson's disease (Invited)

Yasushi Kawata

Mechanism and regulation of aberrant protein aggregation, Institute for Protein Research Seminar, JSPS Japan Hungary Joint Seminar, Nov.19, 2014, 大阪大学蛋白質研究所(吹田市)

シヌクレイン蛋白質のアミロイド線維核部位に存在する Phe94 とその周辺残基の線維形成における役割解明

齋木美裕, 伊藤有未, 本郷邦広, 溝端知宏, 河田康志

第 8 7 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 17 日, 京都国際会議場(京都市)

家族性 ALS 原因タンパク質 SOD1 G93A 変異体のアミロイド線維形成機構の解明とポリフェノール VMA による線維形成抑制効果の検証

安藤瑞歩, 井田昌孝, 足立誠幸, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織, 山川(吉田)三穂, 渡辺保裕, 中島健二, 河田康志

第 8 7 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 17 日, 京都国際会議場(京都市)

GroEL minichaperones to protect against the aggregation of alpha-synuclein

Bimlesh Ojha, Kunihiro Hongo, Tomohiro Mizobata, and Yasushi Kawata

第 8 7 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 17 日, 京都国際会議場(京都市)

白内障原因蛋白質クリスタリンの凝集抑制に関わる内在性, 外来性シャペロンの効果

河田康志, 山下 智, 下田 香, 内島諒子, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織

第 53 回日本白内障学会総会, 2014 年 9 月 27 日, TKP ガーデンシティ品川(東京都)

パーキンソン病原因蛋白質 α -synuclein のアミロイド線維に対するアントシアニンの効果

河田康志, 平川和哉, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織

第 14 回日本蛋白質科学会年会, 2014 年 6 月 25 日, ワークピア横浜(横浜市)

クリスタリン蛋白質の凝集抑制に関わる内在性, 外来性シャペロンの効果

下田 香, 山下 智, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織, 河田康志

第 14 回日本蛋白質科学会年会, 2014 年 6 月 25 日, ワークピア横浜(横浜市)

家族性 ALS 発症原因タンパク質 SOD1G93A 変異体の apo 化による立体構造とアミロイド線維形成の特性変化

安藤瑞歩, 井田昌孝, 本郷邦広, 溝端知宏, 河田康志

第 14 回日本蛋白質科学会年会, 2014 年 6 月 25 日, ワークピア横浜(横浜市)

⑳ 家族性 ALS 発症原因タンパク質 SOD1 G93A 変異体の apo 化による立体構造とアミロイド線維形成の特性変化

安藤瑞歩, 井田昌孝, 本郷邦広, 溝端知宏, 河田康志

第 5 回日本生化学会中国四国支部例会, 2014 年 6 月 7 日, 愛媛大学(松山市)

㉑ アントシアニンによるアルツハイマー病原因タンパク質 A のアミロイド線維形成抑制に関する *in vitro* と *in vivo* 研究

河田康志, 内野数之, 山川(吉田)三穂, 渡辺保裕, 中島健二, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織

第 3 回日本認知症予防学会学術集会, 2013 年 9 月 27 日, 朱鷺メッセ(新潟市)

㉒ タンパク質凝集形成抑制と神経変性病発症に対するアントシアニンの効果

河田康志

第 7 回眼抗加齢医学研究会講習会, 2013 年 9 月 15 日, THE GRAND HALL(東京都)

㉓ Structure and function of flexible protein: Chaperonin GroEL/ES and intrinsically disordered protein alpha-synuclein (Plenary Lecture, Invited)

Yasushi Kawata

The 18th Biophysics Conference, at Institute of Biomedical Science, Academia Sinica, June 27-29, 2013, Taipei, Taiwan

㉔ Molecular mechanism of protein amyloid fibril formation (Invited Lecture)

Yasushi Kawata

Special Lecture in Institute of Biological Chemistry, Academia Sinica, June 26, 2013, Taipei, Taiwan

㉕ シヌクレイン蛋白質の Phe 94 の線維形成における役割

齋木美裕, 伊藤有未, 本郷邦広, 溝端知宏, 河田康志

第 13 回日本蛋白質科学会年会, 2013 年 6 月 14 日, とりぎんホール(鳥取市)

㉖ アントシアニンによるアルツハイマー病原因タンパク質 A のアミロイド線維形成抑制

内野数之, 山川(吉田)三穂, 渡辺保裕, 中島健二, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織, 河田康志

第 13 回日本蛋白質科学会年会, 2013 年 6 月 14 日, とりぎんホール(鳥取市)

㉗ クリスタリン蛋白質の凝集抑制効果に関する研究

山下智, 内島諒子, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織, 河田康志

第 13 回日本蛋白質科学会年会, 2013 年 6 月 14 日, とりぎんホール(鳥取市)

㉘ シヌクレインのアミロイド線維形成を抑制するキノコ由来ケミカルシャペロンの探索

亀田 啓, 櫻井 敏彦, 本郷 邦広, 溝端 知宏, 河田 康志

第 13 回日本蛋白質科学会年会, 2013 年 6 月 14 日, とりぎんホール(鳥取市)

㉙ 家族性 ALS 発症原因タンパク質 SOD1G93A 変異体の構造特性とアミロイド線維形成機構

足立誠幸, 本郷邦広, 溝端知宏, 山川(吉田)三穂, 渡辺保裕, 中島健二, 河田康志

第 13 回日本蛋白質科学会年会, 2013 年 6 月 14 日, とりぎんホール(鳥取市)

㉚ パーキンソン病原因蛋白質 α -synuclein アミロイド線維のアントシアニンによる分解機構

平川和哉, 岩佐尚徳, 本郷邦広, 溝端知宏, 小林沙織, 河田康志

第 13 回日本蛋白質科学会年会, 2013 年 6 月 14 日, とりぎんホール(鳥取市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.bio.tottori-u.ac.jp/~prot/main.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河田 康志 (KAWATA YASUSHI)

鳥取大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号: 41077697

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

溝端 知宏 (MIZOBATA TOMOHIRO)

鳥取大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号: 50263489