

機関番号：32641

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20350058

研究課題名 (和文) 内孔径を広狭調節できる蛋白質ナノチューブの創製と分子包接ダイナミクス

研究課題名 (英文) Synthesis and Molecule-Capturing Dynamics of Protein Nanotubes Having Size Control Ability of the Inner Pore

研究代表者

小松 晃之 (KOMATSU TERUYUKI)

中央大学 理工学部 教授

研究者番号：30298187

**研究成果の概要 (和文)：**

蛋白質からなる中空シリンダー構造のバイオナノチューブを構築し、その管壁や一次元内孔空間に所望の分子や標的とする生体高分子を捕捉することに成功した。①ナノチューブの組成・構造・調製条件、②三次元構造と孔径変化、③管壁や内孔空間への分子の捕捉、④内孔空間への生体高分子の包接に関する成果を研究論文 17 報として発表。ウイルスをトラップするナノチューブについては、英国化学会誌(*Chemistry World*)で紹介され、注目を集めている。

**研究成果の概要 (英文)：**

We prepared novel bionanotubes composed of proteins and succeeded to capture desired molecules and target biopolymers into their cylindrical walls and one-dimensional pore space interior. (i) Compositions, structures, and preparation conditions of the nanotubes, (ii) 3D structures and pore-size controls, (iii) molecule-capturing to the tubular walls and inner pores, and (iv) biopolymer-capturing into the channels were clarified. These results were published as 17 research papers. Virus trap nanotubes were highlighted by *Chemistry World* (Royal Society of Chemistry) and are attracted considerable attention.

**交付決定額**

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8,500,000	2,550,000	11,050,000
2009年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2010年度	3,000,000	900,000	3,900,000
総計	15,300,000	4,590,000	19,890,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・高分子化学

キーワード：高分子錯体、ナノチューブ、蛋白質、分子包接、超分子、アルブミン、交互積層

**1. 研究開始当初の背景****(1)はじめに**

近年、10 nm～数 100 nm 領域をねらった有機系ナノチューブの合成に注目が集まってい

る。単一分子を検出するナノセンサー、流動させるナノチャネル、反応させるナノフラスコなど、分析デバイスの極微小化や選択的物質変換を見据えた研究が進んでいる。

最初の報告例は1985年、国武ら(九大)により見つけ出されたキラル両親媒性分子にさかのぼる。1993年、J.-H. Fuhrhopら(Freie Univ. Berlin)は、双頭型アミノ酸脂質が水中で自己組織化して均一内径を有するナノチューブを形成することを見出した。清水ら(産総研)はこの発見を大きく発展させ、脂質ナノチューブに関する最近の系統的研究成果を確立している(*Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1401)。本研究が対象とする蛋白質ナノチューブは、管壁自身が機能を発現できる点で、これらのナノチューブとは大きく異なる。

## (2) 鑄型内交互積層法

1990年にC. R. Martinら(Florida Univ.)が多孔性ポリカーボネイト(PC)膜を鑄型にしたナノチューブの調製法を報告して以来、多くの中空管構造体が鑄型合成されてきている。2003年、高分子電解質を細孔内に積み重ね、最後にテンプレートを除去する、いわゆる鑄型内交互積層法がF. Carusoら(Univ. Melbourne)により開発されると(*Adv. Mater.* **2003**, *15*, 1849)、生体高分子(DNAや脂質)からなるナノチューブも合成されるようになった(C. R. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8586など)。蛋白質ナノチューブとしては唯一、グルコースオキシダーゼの例があるものの(*Nano Lett.* **2005**, *5*, 231)、形態観察と活性測定にとどまっている。

## (3) アルブミンの構造解析

ヒト血清アルブミン(HSA)の代表的な基質として脂肪酸が知られている。1998年、S. Curry(Imperial College)は、HSA-ミリスチン酸錯体のX線結晶構造解析に世界で初めて成功した(*Nat. Struct. Biol.* **1998**, *5*, 827)。HSAにミリスチン酸が結合すると、分子径が8 nmから9 nmへと変化する。さらに研究代表者との共同研究により、HSA-プロトヘム-ミリスチン酸錯体でも同様な立体構造変化が起こることが明らかにされた(*BMC Struct. Biol.* **2003**, *3*, 6)。最近、我々はこの立体構造をもとに、遺伝子組換えHSA-プロトヘム錯体を合成し、プロトヘムを活性中心とする酸素錯体系を初めて具体化した(*J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14304)。この独創展開は、未だ他の追随を見ない。

## 2. 研究の目的

上記研究を進めるうちに、何とかこの機能性HSAを基本ユニットとして構造明確な組織体を創り出し、三次元空間と協奏させた機能発現を実現したいと考えるようになった。そこで、鑄型内交互積層法に着目し、HSA分子の表面電荷を調節しながらナノチューブを作成してみると、幸いなことに均一構造の中空シリンダー(外径400 nm、内径200 nm)

が得られた(*Chem. Commun.* **2007**, 2980)。遺伝子組換え技術による変異体の発現からX線結晶構造解析まで、我々のもとに蓄積された膨大なHSAの化学を基盤として、蛋白質ナノチューブ合成への挑戦を開始した。ナノチューブの最大の魅力は、管内に広がる一次元微小空間とその利用にある。もし、管径サイズを任意に制御することができれば、望む場所、望むタイミングで分子の吸入・放出が可能となり、従来のリボソームやミセルとは全く異なる分子キャリアの誕生につながる。この着想が本研究構想の起点となっている。

本研究は、管径サイズを調節できる蛋白質中空シリンダーを構築し、その一次元内孔空間へ所望の生体高分子(ウイルスなど)を吸入できる従来に類例のないバイオナノチューブを創製することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) ナノチューブの合成と構造解析

シリンジポンプを用いて多孔性PC膜(直径:25 mm、孔径:400 nm)にポリ-L-アルギニン(PLA, 1 mg/mL)のリン酸緩衝水(PB)溶液(pH 7.1, 10 mM, 0.1 M NaCl) 10 mLを通し、純水10 mLで洗浄後、HSA(2 mg/mL)のPB溶液(pH 7.1, 10 mM) 10 mLを通過させ、再度純水で洗浄した。このサイクルを計3回行うことにより、細孔内に(PLA/HSA)<sub>3</sub>の交互積層膜を作成した。PC膜をN,N-ジメチルホルムアミドで溶解した後、沈殿物を素早く凍結乾燥することで、(PLA/HSA)<sub>3</sub>ナノチューブを得た。同様な方法により、(PLA/HSA)<sub>3</sub>PLA、(PLA/HSA)<sub>2</sub>PLA/PLG/Avi(Avi:アビジン)、(PLA/HSA)<sub>2</sub>PLA/PLG/HBsAb(HBsAb:HBs抗体)ナノチューブを調製した。

得られた蛋白質ナノチューブの形態観察は、FE-SEM、TEM測定により行った。

### (2) 分子捕捉能の解析

(PLA/HSA)<sub>3</sub>ナノチューブをPB溶液(pH 7.0, 10 mM) 1.5 mLに分散し、そこへ基質分子[3,3'-ジエチルチアカルボシアニン(DTC)、亜鉛プロトポルフィリン(ZnPP)など]を0.2 μMになるように添加した。3時間後、遠心分離(4,000 g, 10 min)によりナノチューブを除去、上澄みの蛍光スペクトル測定から残存する基質濃度を定量することで、捕捉率を算出した。また、(PLA/HSA)<sub>2</sub>PLA/PLG/AviナノチューブのFITC-ビオチンやビオチン化ナノビーズ捕捉率についても同様の手法により算出した。

### (3) ウイルス捕捉能の解析

B型肝炎ウイルス(HBV)は、感染能力を有する球状粒子(Dane粒子、DP)と、HBs抗体(HBsAg)のみから構成され感染能力を持たない小型粒子(SP)、桿状粒子(LP)の混合物から

なる。実験には、HBV-1 (SPのみ)、HBV-2 (SP、DP、LPの混合物)、HBV-3 (DPとLPの混合物)の三種類のHBV溶液を使用した。

(PLA/HSA)<sub>2</sub>PLA/PLG/HBsAb ナノチューブのリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 分散液 (含 HSA 0.2 mM) 0.75 mL に HBV の水溶液を添加し、2 時間静置した後、遠心分離 (5,000 g, 10 min) でチューブを沈殿させた。上澄みに含まれる HBsAg 量の測定は、化学発光酵素免疫測定 (CLEIA) 法により、DNA 量の測定は PCR 法により行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) ナノチューブの組成・構造・調製条件

多孔性 PC 膜の均質な細孔空間を利用した鋳型内交互積層法により、蛋白質 [ヒト血清アルブミン (HSA, Mw 66,500)] からなる中空シリンドラ構造のナノチューブを効率高く合成することに成功した。HSA の等電点は 4.8 と低く、生理条件下 (pH 7.4) では分子表面が負に帯電している。HSA が血管外へ逸脱し難いのは、血管内皮細胞の外側にある基底膜との静電反発による。そこで、①まず高分子電解質 [例えば、ポリ-L-アルギニン (PLA) などのポリアミノ酸など] を PC 膜の細孔に通し、②続いて HSA 水溶液を通過させる。この操作①②を丁寧に 3 回繰り返しながら、細孔内壁に HSA の交互積層 (Layer-by-Layer) 膜を調製し、最後に PC 膜を溶解除去、沈殿物を凍結乾燥することで、均一な (PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブ (図 1) を白色粉末として得た。

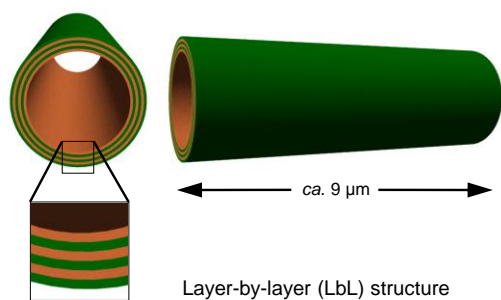


図 1. (PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブの構造

##### (2) ナノチューブの三次元構造と孔径変化

得られた蛋白質ナノチューブの形態を FE-SEM 観察により詳細に解析した。SE-SEM に 2 軸モーターステージを導入し、構造解析の精度と効率を大幅に向上させた。例えば、孔径 400 nm の PC 膜を用いて作成した計 6 層構造からなる (PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブの外径は  $407 \pm 10$  nm、管壁厚は  $50 \pm 4$  nm であった (図 2A,B)。HSA の分子径を 8 nm とすると、(PLA/HSA) 層の厚みは約 16.7 nm となり、PLA

一層の厚みは 8.7 nm と見積もられる。

テンプレートの孔径サイズ (200~800 nm) を変更することにより、外径の異なるナノチューブを作成することができた。また、チューブの管壁厚は、積層回数や使用する蛋白質のサイズにも依存した。一方、4 層構造からなる (PLA/HSA)<sub>2</sub> ナノチューブはもろく、管壁は 6 層構造 [(PLA/HSA)<sub>3</sub>] が必要条件であることがわかった。

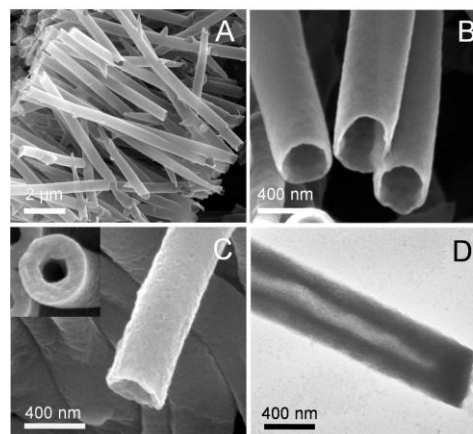


図 2. (PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブの (A-C) SEM 写真と (D) TEM 写真

(PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブの水中における形態を明らかにするため、チューブの水分散液を凍結乾燥し、得られた試料の FE-SEM、TEM 観察を行った。水中では管壁が膨潤し、その厚みは約 100 nm まで増大した (図 2C,D)。面白いことに外径はほとんど変わらず、内孔径のみが狭まることが明らかとなった。pH 変化に応答した広狭現象を誘起する組成・条件について検討したが、現在までに明確な結論は得られていない。

##### (3) 管壁や内孔空間への分子の捕捉

得られたナノチューブは、HSA の分子捕捉能を保持していた。例えば、(PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブの水分散液に HSA のリガンドである蛍光色素 3,3'-ジエチルチアカルボシアニン [DTC、結合定数 ( $K$ ) =  $1.7 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ] を加え、遠心分離後、上澄みの蛍光スペクトルを測定すると、蛍光強度はナノチューブがない場合に比べ 35% まで減少し、DTC が (PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブに捕捉されていることがわかった。①内孔表面の HSA 層を PLA でブロックした (PLA/HSA)<sub>3</sub>PLA ナノチューブでも同様な蛍光強度の減少が見られたこと、②HSA の代わりにポリ-L-グルタミン酸 (PLG) を用いて作成した (PLA/PLG)<sub>3</sub> ナノチューブでは蛍光スペクトルが全く変化しなかったことから、DTC は (PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブの HSA 層に結合していると考えられる。

亜鉛プロトポルフィリン (ZnPP) は、HSA のサブドメイン IB 内に中心金属と Tyr-161 との軸配位を介して結合する。(PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブの水分散液に ZnPP を添加すると、DTC 同様、管壁に効率よく捕捉された (図 3)。

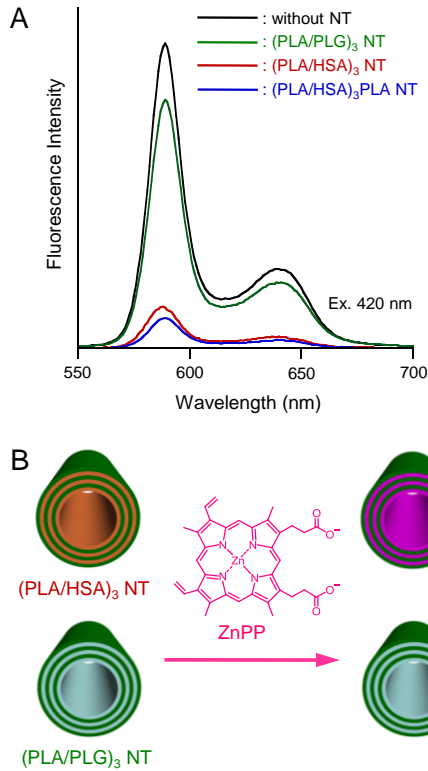


図 3. (A) ZnPP の蛍光スペクトル変化、(B) (PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブによる ZnPP の捕捉。

組換え HSA 変異体 [rHSA (I142H/Y161L/L185N)] では、Tyr-161 の代わりに His-142 が ZnPP に配位するため、ZnPP の結合定数は HSA に比べ約 3 倍上昇する。rHSA (I142H/Y161L/L185N) を用いてナノチューブを調製し、同条件で ZnPP の取り込みを観測してみると、(PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブより高い捕捉能を示した。

一方、HSA のサブドメイン IB は脂肪酸の結合サイトでもある。ZnPP を捕捉した (PLA/HSA)<sub>3</sub> ナノチューブに過剰量のミリスチン酸を加えたところ、リガンド交換反応が起こり、結合していた ZnPP が速やかに解離した。

以上の結果は、HSA からなるナノチューブが可逆的な分子捕捉能を持つばかりでなく、遺伝子組換え技術を利用した HSA とリガンドの結合力調節により、その分子捕捉能が調整できることを示している。

分子捕捉能をより選択的かつ強固にするため、最内層にアビジン (Avi, Mw: 68,000) を配置した (PLA/HSA)<sub>2</sub>PLA/PLG/Avi ナノチューブ

を合成した (外径: 416 ± 11 nm、管壁厚: 119 ± 9 nm)。このナノチューブには、フルオレセイン標識ビオチン (FITC-ビオチン) が効率よく取り込まれた (図 4)。(PLA/HSA)<sub>3</sub>PLA ナノチューブには全く捕捉されなかったことから、FITC-ビオチンは Avi 層に結合していると考えられる。

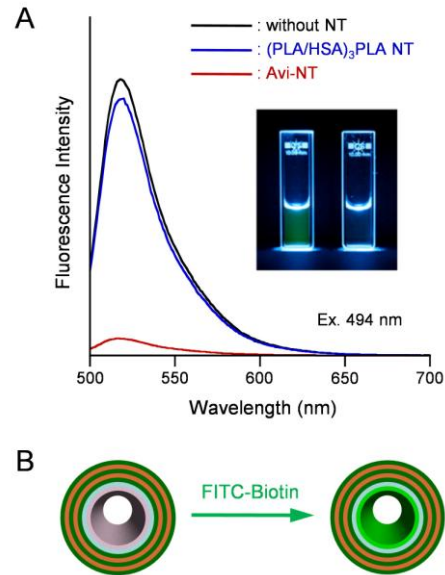


図 4. (A) FITC-ビオチンの蛍光スペクトル変化、(B) (PLA/HSA)<sub>3</sub>PLA/PLG/Avi ナノチューブによる FITC-ビオチンの捕捉。

この反応を利用して、ビオチン修飾蛍光ナノビーズをサイズ選択的に管内へ取り込ませることに成功した。直径 250 nm の大きなビーズはチューブの内孔 (径 200 nm) に入れないが、直径 100 nm の小さなナノビーズは充填率約 30% まで捕捉されることが、蛍光スペクトル測定と TEM 観察から明らかとなった (図 5)。

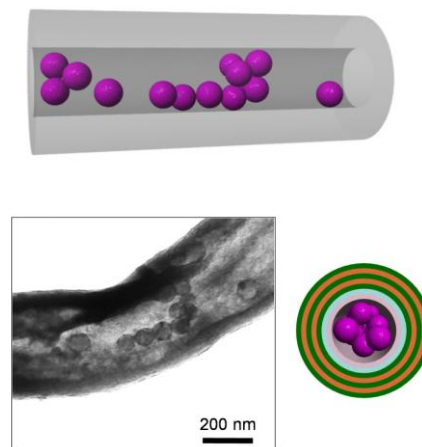


図 5. ビオチン修飾ナノビーズを捕捉した (PLA/HSA)<sub>3</sub>PLA/PLG/Avi ナノチューブの TEM 写真と模式図。

#### (4)内孔空間への生体高分子の包接

ヒトB型肝炎ウイルス(HBV)は、感染能力のある球状粒子[Dane粒子(DP)、直径42nm]と、感染能力のない小型粒子(SP)、桿状粒子(LP)からなる(図6A)。DPを標的分子として、最内層にHBVの表面抗原であるHBs抗原(HBsAg)の抗体[抗HBs抗原抗体(HBsAb)]を配置した(PLA/HSA)<sub>3</sub>PLA/PLG/HBsAbナノチューブを調製した。HBV水溶液にナノチューブを添加後、HBVの濃度変化をCLEIA法による抗原定量、PCR法によるDNA定量から詳細に解析した。その結果、感染能力を持たないSPやLPに比べ、感染能力を有するDPが選択的かつ効率的に(ほぼ100%)チューブ内孔へ取り込まれることがわかった(図6B,C)。この成果は、英国王立化学会誌の*Chemistry World*でニュースとして紹介され、世界中から注目を集めている。

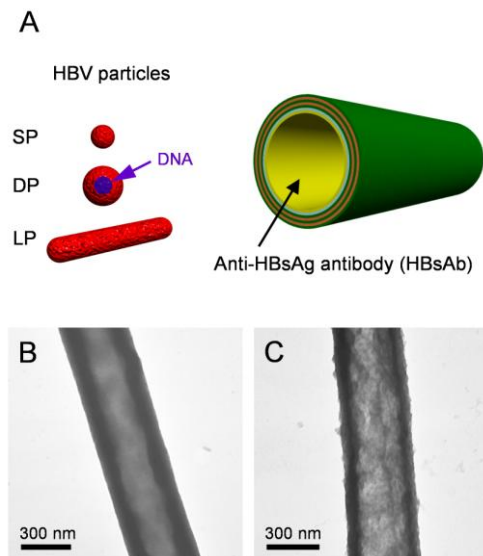


図6. (A) 3種類のHBV粒子(SP, DP, LP)と(PLA/HSA)<sub>3</sub>PLA/PLG/HBsAbナノチューブ、(B) DP包接前と(C)包接後のナノチューブのTEM写真。

最内層に導入する抗体の種類を変えれば、様々なウイルスが捕集できるものと考えられる。除去法の確立していないヒトE型肝炎ウイルスやヒトパルボウイルスB19が効率よく包接できるようになれば、その医学的意義はきわめて大きい。

以上、3年間で得られた結果を総合し、蛋白質ナノチューブの基礎化学、分子包接科学を整理した。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計17件)

- ① “Human Serum Albumin Nanotubes with Esterase Activity”, T. Komatsu, T. Sato, C.

Böttcher, *Chem. Asian J.* **2011**, 6, 掲載決定 (査読有)

- ② “Protein Nanotubes Arrays Immobilized on Solid Substrates: Molecular Trap in Aqueous Medium”, R. Kato, T. Komatsu, *Chem. Lett.* **2011**, 40, 掲載決定 (査読有)
- ③ “Protein Nanotubes Bearing a Magnetite Surface Exterior”, T. Komatsu, N. Kobayashi, *Polym. Adv. Technol.* **2011**, 22 (8), 1315–1318. (査読有)
- ④ “Virus Trap in Human Serum Albumin Nanotube”, T. Komatsu, X. Qu, H. Ihara, M. Fujihara, H. Azuma, H. Ikeda, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133 (10), 3246–3248. (査読有)
- ⑤ “Protein Nanotubes with an Enzyme Interior Surface”, T. Komatsu, H. Terada, N. Kobayashi, *Chem. Eur. J.* **2011**, 17 (6), 1849–1854. (査読有)
- ⑥ “Solid Nanotubes Comprising  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanoparticles Prepared from Ferritin Protein”, X. Qu, N. Kobayashi, T. Komatsu, *ACS Nano* **2010**, 4 (3), 1732–1738. (査読有)
- ⑦ “Molecular Capture in Protein Nanotubes”, X. Qu, T. Komatsu, *ACS Nano* **2010**, 4 (1), 563–573. (査読有)
- ⑧ “Protein Nanotubes Comprised of an Alternate Layer-by-Layer Assembly using a Polycation as an Electrostatic Glue”, X. Qu, G. Lu, E. Tsuchida, T. Komatsu, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14 (33), 10303–10308. (査読有)
- ⑨ “Human Serum Albumin Nanotubes Comprising Layer-by-Layer Assembly with Polycation”, G. Lu, E. Tsuchida, T. Komatsu, *Chem. Lett.* **2008**, 37 (9), 972–973. (査読有)

[学会発表] (計27件)

- ① T. Komatsu, “Protein-Based Nanotubes for Biomolecular Traps”, 7<sup>th</sup> IUPAC International Conference on Novel Materials and their Synthesis & 21<sup>th</sup> International Symposium on Fine Chemistry and Functional Polymers, Shanghai (China) 2011年11月16日 (招待講演)
- ② 後藤 峻、小松晃之、金ナノ粒子を階層成分に導入したアルブミンナノチューブの合成と構造、第60回高分子討論会、岡山、2011年9月29日
- ③ Komatsu, “Biomolecular Capture in Protein Nanotubes”, 2011 East Asian Symposium on Polymers for Advanced Technology, Jeju (Korea) 2011年6月14日 (招待講演)
- ④ 加藤竜之介、小松晃之、コバルトフェリチンを用いた酸化コバルトナノチューブの合成と触媒活性、第60回高分子学会年次大会、大阪、2011年5月25日
- ⑤ 加藤竜之介、小松晃之、フェリチンを用いた

金属酸化物ナノチューブの合成と触媒活性、第91日本化学会春季年会、神奈川、2011年3月27日

- ⑥ 後藤 峻、小松晃之、金ナノ粒子を含むアルブミンナノチューブの合成、第91日本化学会春季年会、神奈川、2011年3月27日
- ⑦ 白石佑太、小松晃之、レクチンを最内層に有する蛋白質ナノチューブの合成と多糖捕捉能、第91日本化学会春季年会、神奈川、2011年3月27日
- ⑧ T. Komatsu, “Structural and Mutagenic Approach to Create Human Serum Albumin-Based Oxygen Carrier”, 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu (USA) 2010年12月18日
- ⑨ T. Komatsu, X. Qu, E. Tsuchida, “Protein Nanotubes: Synthesis, Structure, and Molecular Capturing Ability”, 13<sup>th</sup> IUPAC International Symposium on Macromolecular Complexes, Concepcion (Chile) 2010年11月16日
- ⑩ T. Komatsu, X. Qu, “Protein Nanotubes for Biomolecular Separation”, 5<sup>th</sup> IUPAC International Conference on Novel Materials and their Synthesis & 19<sup>th</sup> International Symposium on Fine Chemistry and Functional Polymers, Shanghai (China) 2010年10月21日 (招待講演)
- ⑪ 小松晃之、完全合成系人工酸素運搬体の開発、第17回日本血液代替物学会年次大会、熊本、2010年10月18日 (招待講演)
- ⑫ 小松晃之、血漿蛋白質を用いた機能分子・材料の創製、日本学術振興会分子ナノテクノロジー第147委員会第31回研究会、東京、2009年12月8日 (招待講演)
- ⑬ 小松晃之、屈 雪、蛋白質ナノチューブの構造制御と分子捕捉、第58回高分子討論会、熊本、2009年9月16日 (依頼講演)
- ⑭ 小松晃之、屈 雪、土田英俊、蛋白質からなるナノチューブの合成と機能発現、第58回高分子学会年次大会、神戸、2009年5月29日
- ⑮ 小松晃之、人工酸素運搬体“アルブミン-ヘム”の創製と酸素輸送、第36回日本集中治療医学会学術集会、大阪、2009年2月25日 (招待講演)
- ⑯ T. Komatsu, “Albumin-Heme Complexes: Heme Pocket Architecture for Modulation of Oxygen-Binding Property”, International Symposium on Development of Albumins with New Functions and Clinical Applications, Kumamoto 2008年10月30日 (招待講演)
- ⑰ 小松晃之、屈 雪、盧 剛、土田英俊、蛋白質ナノチューブの合成と構造制御 (依頼講演)、第57回高分子学会年次大会、横浜、2008年5月30日

[その他]

#### (1) ホームページ

研究代表者が中央大学へ異動(平成22年度)したのを契機に、中央大学理工学部応用化学科のwebサイトに「小松研究室」ホームページ(日本語版と英語版)を開設、本研究で得られた成果を広く世界に向けて発信している。

小松研究室 URL

日本語版

<http://www.chem.chuo-u.ac.jp/~komatsu-lab/index.html>

英語版

<http://www.chem.chuo-u.ac.jp/~komatsu-lab/en/index.html>

#### (2) 研究紹介・記事

- ① 中央大学ホームページ  
“タンパク質ナノチューブ”  
[http://www.chuo-u.ac.jp/chuo-u/news/contents\\_j.html?suffix=k&topics=13194&start=130](http://www.chuo-u.ac.jp/chuo-u/news/contents_j.html?suffix=k&topics=13194&start=130)
- ② 中央大学 ChuoOnline ニュース  
“タンパク質ナノチューブ”  
<http://www.yomiuri.co.jp/adv/chuo/news/20110303.htm>。
- ③ *Chemistry World* (Royal Society of Chemistry), **2011**, February.  
“Protein nanotubes traps viruses”
- ④ *高分子*, **2008**, 57, 740 (Hot Topics)  
“Template Synthesis of Protein Nanotubes”
- ⑤ *高分子*, **2008**, 57, 55 (Hot Topics)  
“Functional Protein Nanotubes”

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

小松 晃之 (KOMATSU TERUYUKI)  
中央大学・理工学部・教授  
研究者番号：30298187

##### (2) 研究分担者

なし  
研究者番号：

##### (3) 連携研究者

中川 晶人 (NAKAGAWA AKITO)  
早稲田大学・理工学術院・講師  
研究者番号：3268973622  
(H20)

##### (4) 研究協力者

屈 雪 (QU XUE)  
日本学術振興会外国人研究員  
(H20, 21)

STEPHEN CURRY  
Imperial College London ・ 教授  
(H20, 21)

東 寛 (AZUMA HIROSHI)  
北海道赤十字血液センター ・ 研究部 ・ 部長  
(H22)