

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月1日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590129

研究課題名（和文）EGFレセプターの構造特性にもとづくペプチド性阻害薬の設計・探索

研究課題名（英文）Development of peptide inhibitors against the EGF receptor based on its structural properties.

研究代表者

齋藤 一樹 (SAITO KAZUKI)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・特任研究員

研究者番号：10192585

研究成果の概要（和文）：EGFレセプターを標的とする新たな抗がん薬の開発に向けて、その二量化を阻害するペプチドの設計を行った。EGFレセプターの二量化複合体の結晶構造にヒントを得て、二量化界面に存在するβ-ヘアピンアームの先端ループ構造を模倣した環状ペプチドがEGFレセプターの活性化を阻害することを見出した。そこで、その環状ペプチドの構造を改変してより強い阻害活性を得るための手段として、2種類の活性測定法を構築した。

研究成果の概要（英文）：Aiming at development of new EGF-receptor-targeting anti-cancer drugs, a peptide that inhibits the receptor dimerization has been designed, based on the crystal structure of the receptor ectodomains dimerized by EGF. A cyclic peptide, which mimics the loop structure of a β-hairpin arm existing at dimerization interface, was revealed to reduce dimer formation and autophosphorylation of the receptor. In addition, two different assay methods have been established for optimization of the peptide structure to gain higher inhibitory activity against the EGF receptor.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学、創薬化学

キーワード：医薬分子設計、レセプター創薬、二量化阻害、ループ構造模倣環状ペプチド

1. 研究開始当初の背景

上皮成長因子 (Epidermal Growth Factor; EGF) レセプターは、細胞の増殖・分化などに深く関わっている一方で、肺がんの細胞などで過剰に発現していることから、EGFレセプターの制御異常ががん細胞の無秩序な増殖や転移を引き起こしているのではないかと考えられている。生化学的な研究から、EGFレセプターは細胞外領域にリガンドEGFが結合すると細胞膜上で二量化し、それに伴って細胞内のチロシンキナーゼドメインが活性化されて二量体の相手分子のテイル部分

をリン酸化して“自己リン酸化”が起こることが知られている。

EGFレセプターは、古くから抗がん薬の創薬ターゲットとされ、IRESSA[®]（一般名 *gefitinib*）など数多くの薬剤が細胞内領域のチロシンキナーゼドメインを標的として開発されてきた。しかし、近年、それらのキナーゼ阻害薬にはしばしば重篤な副作用が伴うことが知られるようになり、これまでとは異なる視点からの抗EGFレセプター薬の設計やキナーゼ阻害薬の特異性を向上させる補助薬の開発が望まれるようになっている。

また、多くの研究者が、EGFレセプターの

(細胞内のキナーゼではなく)細胞外領域を標的とする薬剤の開発を目指して、EGFのアナログを合成しEGFに競合してレセプターに特異的に作用するようなアンタゴニストを得ようとしてきたが、すべて失敗に終わっている。そこで、私は、2002年に自ら世界に先駆けて明らかにしたEGFによるレセプター細胞外領域の二量化複合体構造をヒントに、「EGFレセプターの二量化そのものを阻害する」という新たな視点から抗がん薬の設計を試みようとするに至った。

2. 研究の目的

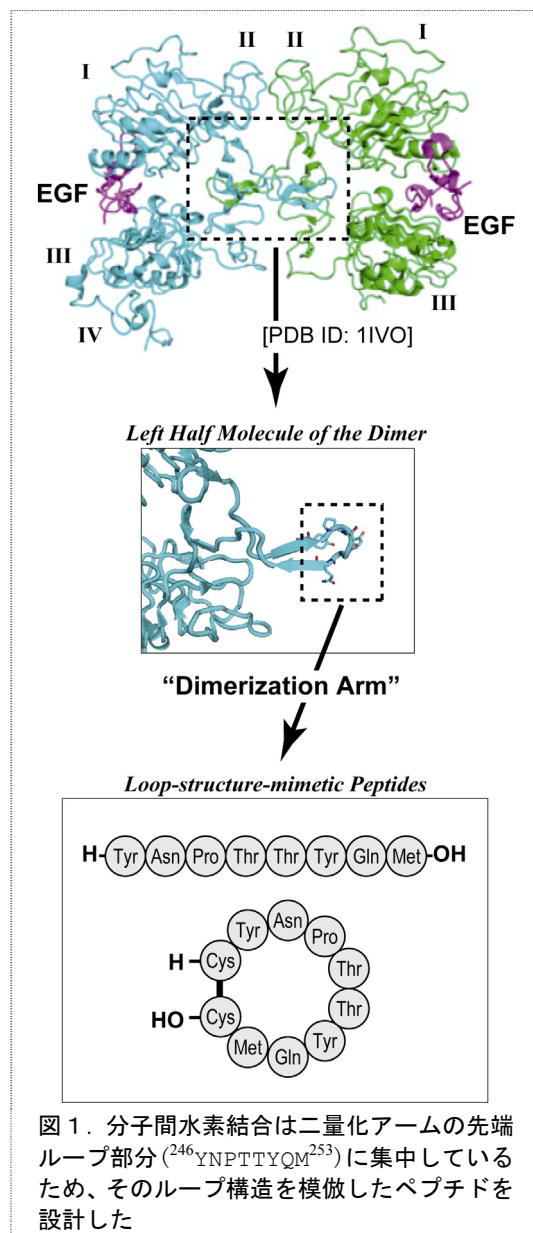
EGFレセプター細胞外領域の二量化複合体構造を精査してみると、二量体内のレセプター分子同士が接する界面は、細胞外のドメインI～IVのうちドメインIIに集中している。特に、二量体を構成する片方のレセプター分子のドメインIIから他方の分子のドメインIIに“二量化アーム”と呼ばれるβヘアピンアームが伸びており、そのアーム先端のループ部分(アミノ酸残基246-253)にレセプターの二量体形成を支える数多くの水素結合が集中していることが見て取れる。そこで、本研究では、レセプター分子の二量化と競合して阻害活性を持つような分子の設計を目指して、この二量化アーム先端ループ構造を模倣したペプチドを合成した。また、同時に、これまでの煩雑で時間のかかった阻害活性測定法に代わるアッセイ手法を確立し、EGFレセプターの二量化阻害を戦略とする薬剤リードの創製に向けて、阻害ペプチドの改変および活性確認を推進することにした。

3. 研究の方法

(1) 二量化アーム先端ループ模倣ペプチドの設計とEGFレセプター阻害活性

「二量化アーム先端ループ構造の模倣ペプチド」として、EGFレセプターのアミノ酸残基246-253の配列に相当する直鎖状のオクタペプチドYNPTTYQMおよびその両端にCys残基をつけ、Cysの側鎖間にジスルフィド架橋を形成させて環化して環状ペプチドとを化学合成した(図1)。ペプチド鎖の伸長は通常Fmoc固相合成法で行い、ペプチドの環化は一般的な空気酸化の手法を用いた。合成した直鎖および環状ペプチドは、MALDI-TOF-MSで目的物であることを確認した。

EGFレセプターの二量化実験は、Fangerらの論文[FASEB J., 3, 71-75 (1989)]にしたがって行い、試料ペプチドの二量化阻害効果を算出した。二量化実験で阻害効果が確認されたペプチドに関しては、Kimらの論文[Eur. J.



Biochem., 269, 2323-2329 (2002)]にしたがって、EGFレセプターの自己リン酸化に対する阻害を調べた。

(2) 二量化阻害環状ペプチドの活性測定法の開発

後述するように、二量化アーム先端ループ構造を模倣した環状ペプチドは、 $10\ \mu\text{M}$ 以下の濃度でEGFレセプターに対する阻害活性を示した。そこで、次はこのペプチドのアナログを数多く合成しより強い阻害活性を持つものを見出せばよいのだが、上で行った従来の活性測定法では、定量性・再現性が低くスループットにも劣る。そこで、たとえ間接的な評価法であってもいいので、もっとスループットの高い阻害活性の測定法を開発することにした。

①生細胞を用いたリガンド-レセプター間の親和性測定法の開発

EGF レセプターへのリガンドの結合とレセプターの二量化とは密接な関連があることから、まず、リガンド-レセプター間の親和性に対する影響からペプチドの阻害作用を推察する手法を開発することにした。

細胞膜タンパク質である EGF レセプターを、活性を保持したまま精製するには時間がかかるので、レセプターの大量調製を完了するまでの間に、生細胞を用いてリガンド-レセプター間の親和性測定法を開発した。具体的には、表面プラズモン共鳴のチップ上にリガンド EGF を固定化し、その表面に A431 細胞の懸濁液を流すことにより、細胞表面に発現しているレセプターと EGF との間の親和性を測定した。

②スクリーニング技術を利用した親和性ペプチド配列探索法の開発

ペプチドはアミノ酸から構成され、固相法という高度なコンビナトリアル合成技術が確立された化合物である。そこで、「二量化アーム先端ループ模倣ペプチド」のどこに阻害活性に必要な部位（ファーマコホア）があるのかを探るために、混合合成された一連の配列を持つペプチドの個々の標的タンパク質への親和性を、混合物のまま評価する測定法を開発した。具体的には、キャピラリー電気泳動を用い、キャピラリー管の内部で標的タンパク質との親和性にしたがって分離を行い、泳動されてきたペプチドを質量分析で同定するという手法である。

4. 研究成果

(1) 二量化アーム先端ループ模倣ペプチドの設計と EGF レセプター阻害活性

EGF レセプターを高発現している A431 細胞を Triton X-100 で可溶化した膜画分を用いて、設計したペプチドの EGF レセプター二量化に対する阻害効果を調べた。レセプターの二量化は、EGF を作用させて二量体を形成させ、Bis(sulfosuccinimidyl) suberate (略称 BS³) を用いてレセプター分子を架橋した後、SDS-PAGE で分離してから抗 EGF レセプター抗体で免疫染色して定量した。図 2 A は、ペプチド非存在下での値を 100% として、二量体と単量体の比（レセプター二量化の程度）を示したものである。白色棒が環状ペプチド、灰色棒が直鎖ペプチドの効果を示したものである。直鎖ペプチドではほとんど阻害が見られなかったのに対して、環状ペプチドでは濃度依存的な二量化阻害効果が見られた。また、二量化阻害活性を示した環状ペプチドについては、実際に 10 μ M 以下の濃度で A431

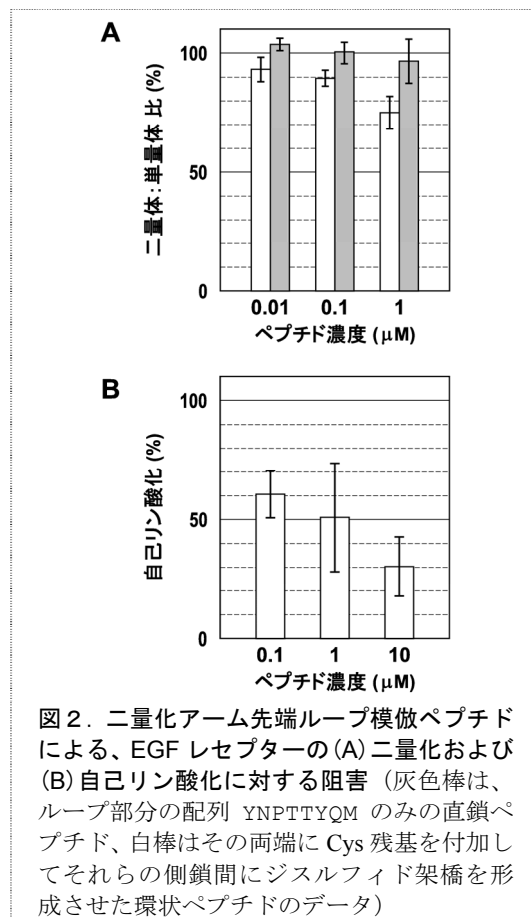


図 2. 二量化アーム先端ループ模倣ペプチドによる、EGF レセプターの (A) 二量化および (B) 自己リン酸化に対する阻害 (灰色棒は、ループ部分の配列 YNPTYQM のみの直鎖ペプチド、白棒はその両端に Cys 残基を付加してそれらの側鎖間にジスルフィド架橋を形成させた環状ペプチドのデータ)

細胞における EGF レセプターの自己リン酸化を阻害することがわかった (図 2 B)。

これらの結果は、「二量化アーム先端ループの構造を模倣したペプチド」が、10 μ M 前後の濃度で、二量化阻害を介した EGF レセプター阻害活性を有している可能性を示している。

(2) 二量化阻害環状ペプチドの活性測定法の開発

①生細胞を用いたリガンド-レセプター間の親和性測定法の開発

ビオチン化した EGF をアビジンでコートされた表面プラズモン共鳴のセンサーチップ表面に固定化しそこに浮遊させた A431 細胞を流すことにより、固定化したリガンドと A431 細胞表面の EGF レセプターとが結合する様子を示すシグナルを観察することに成功した。このシグナルは、あらかじめ細胞に遊離の EGF を添加しておくこと消失することからリガンド-レセプター間の相互作用に特異的なシグナルであると考えられる。

このシグナルは A431 細胞に上述の阻害環状ペプチドを添加することによっても強度が減少するので、阻害ペプチドが EGF レセプターへ相互作用 (阻害) する目安となると考えられる。

②スクリーニング技術を利用した親和性ペプチド配列探索法の開発

キャピラリー電気泳動を用いて混合物の状態にあるペプチドの個々の親和性を独立に測定できるアッセイ系を確立した。この系では、あらかじめ標的タンパク質の溶液をキャピラリー中に注入してから、結合ペプチド候補の混合物を電気泳動することにより、ペプチドがタンパク質溶液を通過する際に標的タンパク質と相互作用するペプチドのみが遅れて泳動されることを利用している。

モデル実験では、この手法を用いることにより、ウシ血清アルブミン(BSA)のプロテアーゼ消化混合物の中からカルモデュリンという酵素に結合する3つの消化断片を拾い出すことに成功している(表1)。現在、EGFレセプターに対する阻害環状ペプチドのYNPTTYQMの配列部分をまったくランダムにAla残基に置換したライブラリのコンビナトリアル固相合成を完了しており、EGFレセプターの細胞外領域を標的タンパク質とし、この合成ペプチド混合物ライブラリをこのアッセイ手法で探索にかければ、どのアミノ酸側鎖がEGFレセプターの阻害に効いているのかを同定することができる。

表1. BSAのプロテアーゼ消化混合物の中から本研究のスクリーニング手法を用いて拾い出したカルモデュリン結合ペプチド断片

BSAのGlu-C消化断片	K_d 値(μM)
LLKHKPKATEE (BSA ₅₃₁₋₅₄₁)	10.3
KQIKKQTALVE (BSA ₅₃₁₋₅₄₁)	147
LLKHKPKATE (BSA ₅₃₁₋₅₄₀)	7.88

拾い出した断片は別途化学合成し、表面プラズモン共鳴を用いてカルモデュリンとの親和性を確認した(K_d 値はそのときに求められた数値)。

(3) まとめ

本課題研究は、平成21年度に京都薬科大学で開始され、最終年度(平成23年度)に研究代表者が東京大学に異動して継続された。しかし、残念ながら、最終年度は直前に発生した東北地方太平洋沖大震災に端を発する電力需給制限により、表面プラズモン共鳴装置、キャピラリー電気泳動-質量分析装置をほとんど稼働することができなかった。そこで、最終年度は、機器分析研究を実施できなかった代わりに、阻害ペプチド・リガンド・レセプター細胞外領域の三者複合体の構造解析に向けた研究を優先させ、 ^{18}O -安定同位体標識を用いた3本のジスルフィド架橋を持つリガンドの大量調製法を確立した。

今後、実際に、本研究で確立された様々な手法を阻害環状ペプチドの構造最適化に適用し、抗EGFレセプター薬リードの探索に努めてゆきたいと考えている。

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11件)

- ① Kazuki Saito*, Hiromasa Uchimura, Yusam Kim, Itsuki Yasuo, Shizuyo Koide-Yoshida, Takaaki Mizuguchi, Hiroshi Kataoka, Yoshiaki Kiso: Quantitative analyses of disulfide bond formation in proteins using ^{18}O -labeled peptide standards. *Pept. Sci.* 2011, 77-78 (2012). [査読有]
- ② Takaaki Mizuguchi, Hiromasa Uchimura, Hiroshi Kataoka, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito*: Intact-cell-based surface plasmon resonance measurements for ligand affinity evaluation of a membrane receptor. *Anal. Biochem.*, 420, 185-187 (2012). [査読有]
- ③ Hiromasa Uchimura, Yusam Kim, Takaaki Mizuguchi, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito*: Quantitative evaluation of refolding conditions for a disulfide-bond-containing protein using a concise ^{18}O -labeling technique. *Protein Sci.*, 20, 1090-1096 (2011). [査読有]
- ④ Kazuki Saito*, Mamiko Nakato, Takaaki Mizuguchi, Shinji Wada, Hiromasa Uchimura, Shigeyuki Yokoyama, Hiroshi Hirota, Yoshiaki Kiso: Screening methodology for discovery of inhibitory peptides against pathogenic proteins using a plug-plug affinity capillary electrophoresis technique. *Pept. Sci.* 2010, 287 (2011). [査読有]
- ⑤ Hiromasa Uchimura, Yusam Kim, Takaaki Mizuguchi, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito*: Isotope labeling-assisted quantitative evaluation of refolding conditions of a recombinant disulfide protein. *Pept. Sci.* 2010, 148 (2011). [査読有]
- ⑥ Takaaki Mizuguchi, Hiromasa Uchimura, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito*: Intact cell-based SPR analyses of interactions between EGF and its receptor. *Pept. Sci.* 2010, 98 (2011). [査読有]
- ⑦ Kazuki Saito*, Itsuki Yasuo, Hiromasa Uchimura, Shizuyo Koide-Yoshida, Takaaki Mizuguchi, Yoshiaki Kiso: Verification of protein disulfide bond arrangement by in-gel tryptic digestion under entirely neutral pH conditions. *Proteomics*, 10, 1505-1509 (2010). [査読有]
- ⑧ Kazuki Saito*, Itsuki Yasuo, Hiromasa Uchimura, Shizuyo Koide-Yoshida, Takaaki Mizuguchi, Yoshiaki Kiso: Quantitative

proteolytic ^{18}O -labeling analysis of protein disulfide bond rearrangement. *Pept. Sci.* 2009, 393–394 (2010). [査読有]

- ⑨ Takaaki Mizuguchi, Hiromasa Uchimura, Taeko Kakizawa, Tooru Kimura, Shigeyuki Yokoyama, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito*: Inhibitory effect of a dimerization-arm-mimetic peptide on EGF receptor activation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 19, 3279–3282 (2009). [査読有]
- ⑩ Takaaki Mizuguchi, Hiromasa Uchimura, Taeko Kakizawa, Tooru Kimura, Shigeyuki Yokoyama, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito*: Design and synthesis of inhibitory peptides against EGF receptor dimerization. *Pept. Sci.* 2008, 383–384 (2009). [査読有]
- ⑪ Kazuki Saito*, Mamiko Nakato, Takaaki Mizuguchi, Hiromasa Uchimura, Shigeyuki Yokoyama, Hiroshi Hirota, Yoshiaki Kiso: High-throughput screening method for ligand peptides using capillary electrophoresis–mass spectrometry (CE–MS). *Pept. Sci.* 2008, 119–120 (2009). [査読有]

[学会発表] (計 19 件)

- ① 水口貴章, 内村浩正, 木曾良明, 齋藤一樹, 赤路健一: 「表面プラズモン共鳴を用いた細胞表面 EGF レセプターへの親和性評価」, 第 1 回四大学連携研究フォーラム, 2011 年 12 月 9 日, 京都市芸繊維大学 60 周年記念館 (京都)
- ② 齋藤一樹, 内村浩正, 金裕三, 安尾五起, 小出静代, 水口貴章, 片岡宏誌, 木曾良明: 「 ^{18}O 標識された内部標準ペプチドを用いたジスルフィド結合形成の定量的解析」, 第 48 回ペプチド討論会, 2011 年 9 月 29 日, 札幌コンベンションセンター (札幌)
- ③ 水口貴章, 内村浩正, 片岡宏誌, 赤路健一, 木曾良明, 齋藤一樹: 「生細胞を用いた SPR 測定による EGF レセプターとリガンドとの相互作用解析」, BIA Symposium 2011 「～カイネティクス×サーモダイナミクス×構造情報～ 発展する Biophysical Interaction Analysis」, 2011 年 9 月 20 日, ホテルモントレグラスミア 大阪 (大阪)
- ④ Takaaki Mizuguchi, Hiromasa Uchimura, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito: Application of surface plasmon resonance measurements to intact A431 cells for analysis of the interaction between EGF receptor and its ligands. 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010): Biological

Chemistry Division “Protein, Peptide, and Peptidomimetics Design”, 2010 年 12 月 19 日, Honolulu, Hawaii, USA.

- ⑤ Kazuki Saito, Mamiko Nakato, Takaaki Mizuguchi, Shinji Wada, Hiromasa Uchimura, Shigeyuki Yokoyama, Hiroshi Hirota, Yoshiaki Kiso: Improvement of affinity capillary electrophoresis–mass spectrometry (ACE–MS) for screening of inhibitory peptides against protein–protein interactions. 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010): Biological Chemistry Division “Polypharmacology for Drug Discovery”, 2010 年 12 月 18 日, Honolulu, Hawaii, USA.
- ⑥ Hiromasa Uchimura, Yusam Kim, Takaaki Mizuguchi, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito: Quantitative evaluation of refolding conditions of a disulfide protein using an isotopically labeled internal standard. 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010): Biological Chemistry Division “Protein Alteration by Mutagenesis and Chemical Modification: Applications in Biochemistry, Drug Discovery, Diagnostics, and Nutrition”, 2010 年 12 月 16 日, Honolulu, Hawaii, USA.
- ⑦ Kazuki Saito, Mamiko Nakato, Takaaki Mizuguchi, Shinji Wada, Hiromasa Uchimura, Shigeyuki Yokoyama, Hiroshi Hirota, Yoshiaki Kiso: Screening methodology for discovery of inhibitory peptides against pathogenic proteins using a plug-plug affinity capillary electrophoresis technique. 5th International Peptide Symposium (5th IPS) in conjunction with 47th Japanese Peptide Symposium, 2010 年 12 月 9 日, 京都国際会館 (京都)
- ⑧ Hiromasa Uchimura, Yusam Kim, Takaaki Mizuguchi, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito: Isotope labeling-assisted quantitative evaluation of refolding conditions of a recombinant disulfide protein. 5th International Peptide Symposium (5th IPS) in conjunction with 47th Japanese Peptide Symposium, 2010 年 12 月 6 日, 京都国際会館 (京都)
- ⑨ Takaaki Mizuguchi, Hiromasa Uchimura, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito: Intact cell-based SPR analyses of interactions between EGF and its receptor. 5th International Peptide Symposium (5th IPS) in conjunction with 47th Japanese Peptide Symposium, 2010 年 12 月 5 日, 京都国際会館 (京都)

- ⑩ Kazuki Saito, Mamiko Nakato, Takaaki Mizuguchi, Hiromasa Uchimura, Shigeyuki Yokoyama, Yoshiaki Kiso: Versatile screening method for inhibitory peptide leads against protein-protein interactions. The 13th Akabori Conference: German-Japanese Symposium on Peptide Science, 2010年9月14日, Breitenfelder Hof, Leipzig, Germany.
- ⑪ 齋藤一樹, 水口貴章, 中戸真巳子, 内村浩正, 横山茂之, 木曾良明: 「タンパク質間相互作用を標的としたペプチド性阻害薬リードの探索のための高速スクリーニング手法の開発」, 日本ヒトプロテオーム機構 第8回大会 (日本プロテオーム学会 2010年会), 2010年7月27日, 東京ベイホテル東急 (浦安)
- ⑫ 水口貴章, 内村浩正, 木曾良明, 齋藤一樹: 「EGF レセプターを過剰発現した細胞そのものをアナライトとしたリガンド EGF との SPR 相互作用解析」, BIA Symposium 2010 「アフィニティーのその先へ ~Biophysical Interaction Analysis~」, 2010年7月16日, 品川プリンスホテル (東京)
- ⑬ 内村浩正, 金裕三, 水口貴章, 木曾良明, 齋藤一樹: 「同位体ラベルした内部標準を用いたジスルフィド・タンパク質のリフォールディング条件の定量的検証法の確立」, 第10回日本蛋白質科学会年会, 2010年6月18日, 札幌コンベンションセンター (札幌)
- ⑭ 水口貴章, 内村浩正, 木曾良明, 齋藤一樹: 「EGF レセプターを過剰に発現している A431 細胞とそのリガンドとの相互作用の表面プラズモン共鳴解析」, 日本薬学会 第130年会, 2010年3月29日, 岡山県桃太郎アリーナ (岡山)
- ⑮ 水口貴章, 内村浩正, 柿澤多恵子, 木村徹, 横山茂之, 木曾良明, 齋藤一樹: 「EGF レセプター細胞外領域の二量化阻害に着目した新規ペプチド性抗がん薬リードの開発」, 難病克服を目指した分子基盤創薬科学の開拓 成果発表会, 2010年3月15日, 京都薬科大学愛学館 (京都)
- ⑯ 齋藤一樹, 中戸真巳子, 水口貴章, 和田真治, 内村浩正, 横山茂之, 木曾良明: 「タンパク質間相互作用の阻害を標的としたペプチドの高速スクリーニング法の開発」, 難病克服を目指した分子基盤創薬科学の開拓 成果発表会, 2010年3月15日, 京都薬科大学愛学館 (京都)
- ⑰ Kazuki Saito, Mamiko Nakato, Takaaki Mizuguchi, Shinji Wada, Hiromasa Uchimura, Shigeyuki Yokoyama, Hiroshi Hirota, Yoshiaki Kiso: An efficient peptide screening method using capillary electrophoresis-mass spectrometry. 3rd Asia-Pacific International Peptide Symposium (3rd APIPS), 2009年11月10日, Shineville Luxury Resort, Jeju, Korea.
- ⑱ Takaaki Mizuguchi, Hiromasa Uchimura, Taeko Kakizawa, Tooru Kimura, Shigeyuki Yokoyama, Yoshiaki Kiso, Kazuki Saito: An inhibitory cyclic peptide against EGF receptor dimerization. 3rd Asia-Pacific International Peptide Symposium (3rd APIPS), 2009年11月8日, Shineville Luxury Resort, Jeju, Korea.
- ⑲ 水口貴章, 内村浩正, 柿澤多恵子, 木村徹, 横山茂之, 木曾良明, 齋藤一樹: 「EGF レセプターの二量化阻害に着目した新規抗がん薬リードの設計」, 第59回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2009年10月24日, 近畿大学 (東大阪)

〔図書〕 (計1件)

- ① 齋藤一樹*, メディカル ドゥ, 遺伝子医学 MOOK 21号「最新ペプチド合成技術とその創薬研究への応用」(木曾良明 編)の第8章 第4節『EGF レセプターの構造生物学とその二量化抑制を戦略とする阻害薬の創製』, 2012, pp. 283-291.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 一樹 (SAITO KAZUKI)
東京大学・大学院新領域創成科学研究科・特任研究員
研究者番号: 10192585

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

木曾 良明 (KISO YOSHIAKI)
長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・客員教授
研究者番号: 40089107

(4) 研究協力者

水口 貴章 (MIZUGUCHI TAKAAKI)
京都薬科大学・薬学部・大学院生