

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23685049

研究課題名(和文) 精密に構造制御したポリマーブラシ付与複合微粒子の体内動態に関する基礎科学的研究

研究課題名(英文) Fundamental study on physiological properties of polymer-brush-afforded hybrid particles

研究代表者

大野 工司 (Ohno, Kohji)

京都大学・化学研究所・准教授

研究者番号：00335217

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 22,300,000円、(間接経費) 6,690,000円

研究成果の概要(和文)：表面開始リビングラジカル重合により、分散性に優れた、ポリマーブラシ付与シリカ微粒子を合成する技術を確立した。得られた複合微粒子のタンパク質の吸着特性および体内動態挙動は、複合微粒子の構造パラメータに大きく依存した。優れた血中滞留性をしめす、濃厚ブラシ付与シリカ微粒子がEPR効果によってガン組織に選択的に集積することを明らかにした。また、蛍光標識した複合微粒子を用いることにより、ガン組織の選択的イメージングに成功した。また、ポリマーブラシ付与酸化鉄ナノ粒子が、優れた血中滞留性およびガン組織への選択的な集積性を示し、当該ナノ粒子によるガン組織のMRイメージングに成功した。

研究成果の概要(英文)：Perfectly dispersive polymer-brush-afforded hybrid particles were synthesized by surface-initiated living radical polymerization. The protein adsorption properties and circulation lifetime in the blood of the resultant hybrid particles were significantly dependent on their structural parameters. Some hybrid particles exhibiting an excellently prolonged circulation lifetime preferentially accumulated in tumor tissue. The tumor-targeted delivery was optically visualized using hybrid particles grafted with fluorescence-labeled polymer brushes. In addition, the tumor-targeted delivery of polymer-brush-afforded iron oxide nanoparticles was visualized by an MRI measurement.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：材料化学・高分子・機能材料

キーワード：リビングラジカル重合 グラフト重合 ポリマーブラシ 微粒子 体内動態

1. 研究開始当初の背景

我々は、リビングラジカル重合の利用により、長さの揃った高分子鎖を飛躍的な高密度で固体表面にグラフトすることに世界に先駆けて成功し、最近まで未知・未開拓であった高分子組織体「濃厚ポリマーブラシ」を創製した。この濃厚ポリマーブラシ中の分子鎖は良溶媒中で、伸びきり鎖に匹敵するほど高度に伸張配向しており、この構造を反映し濃厚ポリマーブラシには独自で斬新な性質が生まれた。例えば、本研究構想の契機の一因となる、親水性濃厚ポリマーブラシでは、同種のキャスト膜や希薄(低密度)ブラシ表面と比較して、タンパク質や細胞の非特異的吸着が著しく抑制されるという優れた生体適合性を見出した。

2. 研究の目的

微粒子を用いた治療・診断用材料の開発においては、微粒子表面の物理化学的特性や粒径などを制御し、機能・性能を効率的に高めることが重要である。我々は、これまでに微粒子表面に長さの揃った水溶性高分子を飛躍的な高密度で生やす(グラフト化する)技術を初めて開発し、さらに、その複合微粒子が優れた体内動態挙動を示すことを発見した。本法は、ナノレベルの精緻な製造技術であることに加え、制御可能な構造因子の多様性において他に類を見ない。そこで、構造因子の異なる一連の複合微粒子を合成し、それらの血中滞留性および体内分布を系統的に調べるなど、基礎科学的アプローチにより、微粒子製剤の普遍的な設計指針を構築することを本研究目的とした。

3. 研究の方法

(1) 親水性ポリマーブラシ付与シリカ微粒子の精密合成：重合開始基を固定化したシリカ微粒子からの表面開始リビングラジカル重合(表面開始 LRP)により、親水性ポリマーをグラフトし複合微粒子を合成した。サイズ効果を検証するために、コア部のシリカ微粒子の粒径を適宜変化させた。この際、粒径の標準偏差指数が 5%以下の粒径分布が狭い粒子を使用した。また、シェル部のポリマーブラシ層の厚みによっても、複合微粒子のサイズを制御した。これは、リビングラジカル重合(LRP)を用いることで、グラフトポリマーの分子量を制御することにより達成できた。しかしながら、従来の LRP では、制御できる分子量範囲の上限が数十万程度と限られている。そこで、独自に開発した、高圧下での LRP を適用することにより、超高分子量ポリマーのグラフト化を試み、評価可能な分子量範囲(サイズ範囲)を大幅に拡大することができた。粒子の表面ポテンシャル(粒子の変形能や表面弾性率など)の効果を検証するために、グラフトポリマーの表面密度(グラフト密度)が異なる試料を調製した。これは、シリカ粒子表面に導入する重合開始基の密度を調整

することにより達成できた。また、粒子の曲率の影響により、グラフトポリマーの鎖長が長くなるに伴い、粒子最表面の有効グラフト密度が小さくなるため、グラフト鎖長によっても表面ポテンシャルを制御できた。後述する生化学的特性評価において放射性同位体(RI)を標識するため、グラフト重合の際、独自に合成した、フェノール残基を有するモノマーを共重合した。この工夫により、感度および精度に優れた RI 実験を可能とした。複合微粒子の構造解析は、動的光散乱、熱重量天秤、電子顕微鏡などにより行った。

(2) ポリマーブラシ付与複合微粒子の生化学的特性解析：タンパク質の吸着特性解析は、サンプル管内に所定濃度の複合微粒子、タンパク質、およびリン酸緩衝液(pH = 7.4)を入れ1時間攪拌した。リン酸緩衝液(pH = 7.4)で洗浄、遠心分離を繰り返した後、5 wt%のドデシル硫酸ナトリウム(Sodium dodecyl sulfate; SDS)溶液を加え、攪拌することにより、吸着したタンパク質を微粒子表面から剥離した。遠心分離した後、上澄み液を回収し、そこに含まれるタンパク質をマイクロ BCA法により定量した。ポリマーブラシ付与微粒子を用いた動物実験では、定量的な解析を行うためにポリマーブラシ付与シリカ微粒子を放射性同位元素(^{125}I)で標識した。複合微粒子(1 wt%, 100 μL)と Na^{125}I 溶液(5 μL)を混合し、続いて、クロラミン T 溶液(0.2 mg/mL 0.5M リン酸緩衝液(pH 7.5, 0.5M NaCl))を加え、2分間、ボルテックスミキサーで攪拌した。続いて、ピロ亜硫酸ナトリウム溶液(4 mg/mL ミリ Q 水)を添加し、2分間、ボルテックスミキサーで攪拌した。反応液をゲルろ過カラム(PD-10 column, GE Healthcare)にかけ、 ^{125}I 標識複合微粒子を精製、回収した。 ^{125}I 標識複合微粒子をマウスに尾静脈投与し、各測定時間に眼下採血により、血液を回収し、血中の放射線強度、すなわち、微粒子濃度を γ 線カウンターにより測定した。また、血中に残存する微粒子が少なくなった時点で、マウスを犠牲死させ、解剖し各臓器の放射線量を測定して、微粒子の体内分布を評価した。

(3) 酸化鉄ナノ粒子表面からのリビングラジカル重合：鉄-オレイン酸複合体の熱分解反応により酸化鉄ナノ粒子を合成した。本合成法は、熱分解時の溶媒、昇温速度、攪拌速度などを選択することにより、粒径を数ナノから数十ナノメートルまで制御できる利点がある。典型例を以下に示す。鉄-オレイン酸複合体を合成するため、塩化鉄($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10.8 g)とオレイン酸ナトリウム(36.5 g)を、エタノール(80 mL)、水(60 mL)、ヘキサン(140 mL)の混合溶媒に溶解し、その溶液を 70 $^{\circ}\text{C}$ で4時間攪拌した。反応終了後、上層の有機層を回収し、それを純水で3回洗浄した。有機層をロータリーエバポレータで濃縮し、残渣を 70 $^{\circ}\text{C}$ で1晩、真空乾燥した。乾燥した鉄-オレイン酸複合体(36 g)とオレイン酸(5.7

g) をトリオクチルアミン (200 g) に溶かし、その溶液を、5 °C/min の昇温速度で 370°C まで加熱した。370°C に達した後、同温度でさらに 30 分間、還流下で加熱を続けた。その後、反応溶液を室温まで冷却し、テトラヒドロフラン (THF) で希釈した後、遠心分離 (12000 rpm) でナノ粒子を回収した。さらに、THF に再分散させ、遠心分離で回収することによりナノ粒子を洗浄した。酸化物微粒子表面への ATRP 開始基の導入の際、従来の方法では、分散溶媒としてエタノールを主に用いてきた。これは、酸化物微粒子のエタノールに対する高い分散性と、固定化開始剤の溶解性のためである。しかし、ここで用いる酸化鉄ナノ粒子の表面には多数のオレイン酸があり、エタノールに対するナノ粒子の分散性が極めて悪い。そのため、数種類の溶媒を用い、原子移動ラジカル重合 (ATRP) の固定化開始剤の導入率、および反応後の微粒子の分散性を検討した結果、THF で処理したナノ粒子において良好な結果を得ることができた。具体的には、得られたナノ粒子の THF 分散液 (1wt%) を作成し、その後、アンモニア水 (1wt%) を加え、しばらく攪拌した後、BPE (2wt%) を加え、3 日間、室温で定期的に超音波照射しながら攪拌した。ナノ粒子を遠心分離 (12000rpm) で回収し、THF による再分散、遠心分離をくりかえすことにより、ATRP 開始剤で修飾した酸化鉄ナノ粒子を合成した。また、固定化開始剤で修飾したナノ粒子の分散性を検討した結果、THF に対するそれが極めて良く、それを重合溶媒とすることにした。酸化鉄ナノ粒子を用いた表面開始 ATRP は、開始基付与酸化鉄ナノ粒子、モノマー、溶媒、銅触媒を所定濃度で混合し、脱気下、60°C で行った。

4. 研究成果

(1) タンパク質の吸着特性：粒径 130 nm の未修飾シリカ粒子と粒径 130 nm のシリカ粒子に様々な分子量のポリ (ポリエチレングリコールメタクリレート) poly(PEGMA) をグラフトした複合微粒子を用いて BSA の吸着実験を行った。その結果、未修飾のシリカ粒子に対しては高い吸着量を示したのに対し、poly(PEGMA) をグラフトしたシリカ粒子はいずれもほとんど吸着しないことがわかった。また、グラフトポリマーの分子量を変化させたところ実験の範囲において吸着量に顕著な差が見られなかった。よって、グラフト密度が高い濃厚領域ではグラフト鎖長依存性はないということがわかった。また、グラフトした poly(PEGMA) の分子量がほぼ 10 万と等しく、コア粒径が異なる複合微粒子を用いて BSA の吸着実験を行った。その結果、コア粒径を変化もさせて実験の範囲において吸着量に顕著な差が見られなかった。よって、グラフト密度が高い濃厚領域ではコア粒径依存性もないということがわかった。以上のことから、微粒子の最表面のグラフト密度

が高い領域において、タンパク質吸着量は複合微粒子の構造因子に依存しないことがわかった。

分子量約 10 万の poly(PEGMA) を様々な密度でグラフトした複合微粒子を用いて BSA の吸着実験を行った。その結果、グラフト密度の低下により BSA の吸着量は増大した。これはグラフト密度が下がることによりタンパク質が吸着しやすいコア粒子表面の開始基由来の疎水部を十分に覆うことができないためと考えられる。また、グラフト密度が 0.0014 chains/nm² 以下になると複合微粒子が分散しなくなった。これは表面開始基由来の疎水部との疎水性相互作用によるものと考えられる。よって、実験の範囲においてタンパク質吸着におけるグラフト密度依存性があることがわかった。

グラフト密度が低い領域で密度がほぼ等しく (~0.003 chains/nm²)、様々な分子量の poly(PEGMA) をグラフトした複合微粒子を用いて BSA の吸着実験を行った。その結果、低グラフト密度ではグラフトポリマーの鎖長が長くなると BSA の吸着が抑制され、グラフト鎖長依存性があることがわかった。このことから、poly(PEGMA) のような生体適合性の高い高分子では低グラフト密度でもグラフト量を多くすることでコア粒子の疎水表面覆うことができ、タンパク質の吸着が抑制されることがわかった。

(2) 複合微粒子の体内動態：ポリマーブラシ付与複合微粒子の生理化学的特性を中心とした諸物性をより系統的に理解するため、コア粒子をシリカとする一連のモデル粒子を作成し、それらの体内動態を評価した。

コア粒子径の依存性を評価するために、グラフトポリマーの分子量がほぼ等しく、コア粒径が異なる試料を用い、それらの体内動態を評価した。分子量約 10 万の poly(PEGMA) をグラフトした粒径が 15 nm のシリカナノ粒子において、投与 24 時間後の血中残存率は約 30% であり、非常に優れた血中滞留性を示した。一方、グラフトポリマーの分子量は約 10 万と等しいが、粒径が 130 nm、740 nm と大きくなるに伴い、血中滞留性は悪くなった。この結果は、大きな粒子は血中滞留性が悪い傾向にあるという、これまでの報告に合致している。

グラフトポリマー鎖長の依存性を評価するために、コア粒径が 130 nm と等しく、グラフトポリマーの分子量が異なる試料を用い同様に実験を行った。分子量が約 5 万、10 万、30 万、40 万と大きくなるに伴い、血中滞留性が良くなった。さらに、分子量依存性を評価するために、高圧力表面開始 ATRP を用いて、より大きな分子量を有するグラフトポリマーを付与した複合微粒子の合成に取り組みた。これら複合微粒子の体内動態を調べた結果、粒径には最適値が存在し、ある程度までは、分子量が大きくなるに伴い、血中滞留性が良くなるが、それ以降は、分子量の

増加、つまり、粒径が大きくなるに伴い、血中滞留性は悪くなる傾向にあることが判明した。グラフト鎖の分子量が大きくなると、複合微粒子の流体力学的サイズが大きくなるだけでなく、表面の有効グラフト密度が小さくなり、タンパクが吸着しやすくなると考えられ、血中滞留性が悪くなると推測したが、本研究結果は、これに必ずしも一致しない。これは、複合微粒子のサイズのみならず、粒子の表面弾性率やグラフトポリマー鎖の運動性などが生体内での相互作用において重要な因子であることを示唆する。本研究で、高圧力表面開始 ATRP を用い、高分子量のグラフト鎖を有する複合微粒子を合成できたことがブレイクスルーとなり、体内動態におけるグラフト分子量の最適値を示すことができたことは特筆すべきことである。

得られた結果をより分かりやすくするために、横軸に複合微粒子の流体力学的半径、縦軸に投与 1 時間後の微粒子の血中残存率をとりプロットした (図 1)。500 nm 程度の流体力学的半径を有する微粒子に着目した場合、コア粒径が小さくグラフト鎖長が長い複合微粒子は、コア粒径が大きくグラフト鎖長が短い複合微粒子に比べ、体内動態が非常に優れていることがわかる。サイズ効果のみならず、他の構造因子も重要であることを示す実験的証拠である。

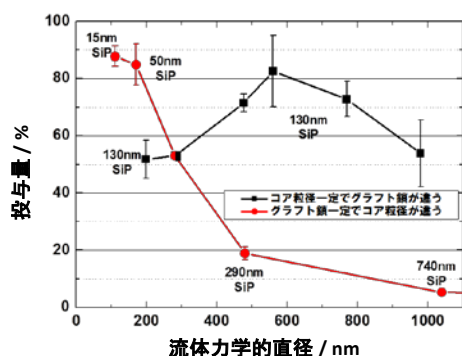


図 1. ポリマーブラシ付与シリカ微粒子の血中滞留性

ビニルベンジルフタルイミドを用いて LPR を行うことで、アミノ基を含有する複合微粒子の合成に成功した。これにより高濃度で Cy5.5 を含有した複合微粒子を合成することが可能となった。担癌マウスのイメージングにおいて、複合微粒子の優れた血中滞留性の結果、EPR 効果により複合微粒子が選択的に腫瘍組織に集積することを確認した (図 2)。

(3) ポリマーブラシ付与酸化鉄ナノ粒子の合成と応用: 酸化鉄ナノ粒子表面からの重合特性について検討するために、まず、メタクリル酸メチル (MMA) の重合を行った。重合時間に伴いモノマー転化率は増加し、分子量はコンバージョンの増加に伴い比例的に増加した。また、フリーポリマーと酸化鉄ナ

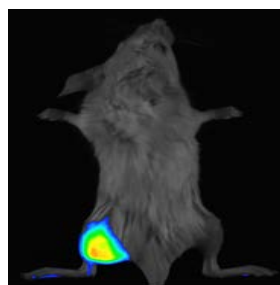


図 2. ポリマーブラシ付与蛍光微粒子によるガン組織のイメージング

ノ粒子から切り出したグラフトポリマーの分子量はほぼ一致し、いずれも小さな分子量分布指数を示した。さらに、グラフト密度は重合時間によらず、グラフト密度は 0.7 chains/nm² 程度であり、濃厚ブラシ領域に達していることが分かった。これらの結果から、酸化鉄ナノ粒子表面において、構造の明確なポリマーが高密度にグラフトされ、これまでに行われた酸化物微粒子表面からのリビンググラジカル重合と同様に重合が進行していることが明らかとなった。ポリマーブラシ付与酸化鉄ナノ粒子の磁化率の磁場、温度依存性を SQUID (Superconducting Quantum Interference Device) 磁束計を用いて行った。試料として、PMMA 付与酸化鉄ナノ粒子 (PMMA-Fe₃O₄)、PPEGMA 付与酸化鉄ナノ粒子 (PPEGMA-Fe₃O₄)、未処理の酸化鉄ナノ粒子を用いた。5K と 300K で測定した磁化率の磁場依存性は、試料間において大きな違いは無く、300K においてヒステリシスはなく超常磁性を示していることが明らかとなった。また、いずれの試料においても、5K における飽和磁化と保磁力はそれぞれ 100 emu/g-Fe と 400 Oe であった。これらの結果は、ポリマーブラシを付与したとしても、ナノ粒子の磁気特性にほとんど影響を与えないことを示している。

ポリマーブラシ付与酸化鉄ナノ粒子の肝臓での取り込まれやすさを評価するため、肝臓の病理組織学的評価を行った。生理食塩水を用いて濃度を 1.9 wt% に調整した複合粒子の溶液を、マウスに尾静脈内投与した。投与 3 日後に犠牲死させ、摘出した肝臓をホルマリン固定後、パラフィン包埋、薄切し、プルシアンブルー染色およびヘマトキシリン・エオシン染色した。肝臓の病理組織学的評価の結果、グラフト鎖長の短い試料を作用させた場合には、プルシアンブルーでよく染色され、さらに、ヘマトキシリン・エオシン染色で肝臓マクロファージ (クッパー細胞) が褐色状に染色されることから、酸化鉄ナノ粒子 (複合粒子) が貪食されたことが示された。一方、グラフト鎖長の長い試料を用いた場合には、染色はほとんど確認されず、正常なクッパー細胞が多く見られ貪食作用はほとんど認められなかった。この結果から、グラフト鎖分子量の違いによりポリマーブラシ付与酸化

鉄ナノ粒子の肝臓への蓄積性が異なることが確認できた。

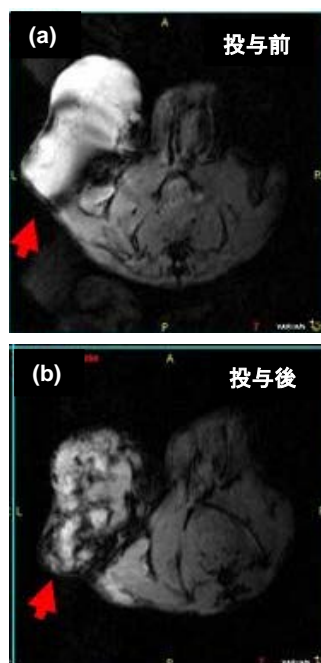


図3. 腫瘍部の T_2 強調 MRI 画像 : (a) 造影剤投与前、(b) 造影剤投与 24 時間後

^{125}I で標識したポリマーブラシ付与酸化鉄ナノ粒子分散液を、担癌マウスの尾より静脈内投与し複合粒子の血中残存率を求めた。また、投与 24 時間後に担癌マウスを犠牲死させ、摘出した各臓器の放射活性を測定し、複合粒子の体内分布を評価した。血中残存率の結果、分子量 11,000 の poly(PEGMA) をグラフとした酸化鉄微粒子 (粒径 = 20 nm) では投与直後から残存率が低下する一方で、分子量 109,000 をグラフとした酸化鉄ナノ粒子では、投与 24 時間後まで高い血中残存率 (約 50%) を維持し、血中滞留性に優れることを示した。つまり、分子量の大きいポリマーを付与した酸化鉄ナノ粒子の方が、血中滞留性に優れることを示しており、これは、これまでに報告したポリマーブラシ付与シリカ微粒子の体内動態の結果と一致する。また、体内分布では、投与 24 時間後の組織中蓄積率で肝臓に 8 ~ 18 %、脾臓に 1 ~ 2 % の蓄積が確認された。従来の酸化鉄系造影剤の投与 1 時間後の肝臓内皮系への集積率は約 80 % であることから、本系の複合粒子の肝臓および脾臓への集積率は極めて低いことが確認できた。また、分子量 109,000 をグラフとした酸化鉄ナノ粒子の投与 24 時間後の重量あたり組織中蓄積率では、腫瘍への蓄積性が高く、肝臓および脾臓への蓄積性は低いことが示された。これらの結果から、グラフ鎖分子量が大きい複合粒子は、血中滞留性が延長され、EPR 効果により腫瘍への集積性が上昇することが確認できた。

血中滞留性に優れた複合粒子 (酸化鉄ナノ粒子の粒径 = 20 nm、分子量 = 109,000) を用いて MRI 実験を行った。麻酔下の担癌マウス (8 週齢、BALB/c 雌マウス) を MRI 装置にセットし、左大腿部の腫瘍に対して位置決め (投与前) 撮影を行った後、複合粒子の生理食塩水による分散液 (100 μM -Fe/kg, 100 μL) を尾静脈投与し、同腫瘍の撮影を経時的に行った。その結果、グラジエントエコー法測定により撮像した T_2 強調画像 (図 3) が示すように、複合粒子の投与前には白色画像として撮影された腫瘍が、投与 24 時間後の撮影では腫瘍内部が全体的に陰影され、特に一部は完全な陰影効果が認められた。この結果から、複合粒子は腫瘍に集積することで、 T_2 短縮効果を発揮し信号強度を低下させることが示された。よって複合粒子は、コントラストを強調させる MRI 造影剤として実用的に機能することが確認できた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Kohji Ohno, Chizuru Mori, Tatsuki Akashi, Shinichi Yoshida, Yoshiyuki Tago, Yoshinobu Tsujii, Yasuhiko Tabata “Fabrication of Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging from Polymer-Brush-Afforded Iron Oxide Magnetic Nanoparticles Prepared by Surface-Initiated Living Radical Polymerization”, *Biomacromolecules*, **14**, 3453-3462, (2013), DOI: 10.1021/bm400770n、査読有。
- ② John Moraes, Kohji Ohno, Thomas Maschmeyer, Sébastien Perrier “Monodisperse, Charge-Stabilized, Core-Shell Particles via Silica-Supported RAFT Polymerization for Cell Imaging”, *Chemistry of Materials*, **25**, 3522-3527, (2013), DOI: 10.1021/cm401957m、査読有。
- ③ Kohji Ohno, Tatsuki Akashi, Yoshinobu Tsujii, Masaya Yamamoto, Yasuhiko Tabata “Blood Clearance and Biodistribution of Polymer Brush-Afforded Silica Particles Prepared by Surface-Initiated Living Radical Polymerization”, *Biomacromolecules*, **13**, 927-936, (2012), DOI: 10.1021/bm201855m、査読有。
- ④ Kohji Ohno, Ying Ma, Yun Huang, Chizuru Mori, Yoshikazu Yahata, Yoshinobu Tsujii, Thomas Maschmeyer, John Moraes, Sébastien Perrier “Surface-Initiated Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer (RAFT) Polymerization from Fine Particles Functionalized with Trithiocarbonates”, *Macromolecules*, **44**, 8944-8953, (2011), DOI: 10.1021/ma202105y、査読有。
- ⑤ 大野 工司, “高圧力下でのリビングラジカル重合による材料設計”, 日本高圧力学会誌「高圧力の化学と技術」、査読有、21 巻、2011、4-10, DOI: 10.4131/jshpreview.21.4.

[学会発表] (計 22 件)

- ① K. Ohno, Y. Tsujii, Y. Tabata “Physiological Properties of Polymer Brush-Afforded Nanoparticles Prepared by Surface-Initiated Living Radical Polymerization”, 87th Colloid and Surface Science Symposium, USA, 2013年6月26日.
- ② K. Ohno, C. Mori, S. Yoshida, Y. Tago “Bioimaging with Polymer Brush-Decorated Magnetic Nanoparticles Synthesized by Surface-Initiated Living Radical Polymerization”, The 11th International Conference on Ferrites, Naha, 2013年4月18日.
- ③ K. Ohno, “Polymer Brush-Afforded Fine Particles Synthesized by Surface-Initiated Living Radical Polymerization”, 2011 ASEPFPM, Hong Kong, 2011年12月12日.
- ④ 大野工司, “表面開始リビングラジカル重合によるポリマーブラシ付与複合微粒子の精密合成とその応用”, 第81回千葉地域活動高分子研究交流講演会, 千葉, 2011年11月8日.
- ⑤ 大野工司, “ポリマーブラシ付与微粒子の精密設計と機能”, 第60回高分子学会年次大会, 大阪, 2011年5月26日.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

- ① 名称：複合粒子を含むMRI造影剤
発明者：多胡 善幸、吉田 慎一、大野 工司、辻井 敬亘、田畑 泰彦
権利者：同上
番号：PCT/JP2011/072431
出願年月日：2011年9月29日
国内外の別： 国外

6. 研究組織

(1)研究代表者

大野 工司 (OHNO, Kohji)
京都大学・化学研究所・准教授
研究者番号：00335217