

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：32659

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26850056

研究課題名(和文) 微生物・電極間相互作用の解明と制御による微生物電気化学システムの高効率化

研究課題名(英文) Elucidation and control of interaction between bacterial cells and electrodes towards improvement of bioelectrochemical systems

研究代表者

高妻 篤史 (Kouzuma, Atsushi)

東京薬科大学・生命科学部・助教

研究者番号：20634471

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では環境調和型のバイオプロセスとして期待される微生物電気化学システムの高効率化に向け、モデル電流生成細菌である *Shewanella oneidensis* MR-1 株が電極と相互作用するメカニズム(電極上へのバイオフィーム形成や電流生成の制御機構)を解明することを目的とした。MR-1 株が電極上に形成するバイオフィームを電気化学フローセルを用いて観察した結果、本株が電極電位に応じて異なる構造のバイオフィームを形成することを発見した。また電極電位がMR-1 株の遺伝子発現と代謝プロファイルに与える影響を明らかにするとともに、電流生成遺伝子の発現制御機構と電極電位の認識機構を解明した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated molecular mechanisms underlying interactions between *Shewanella oneidensis* MR-1 and electrodes in bioelectrochemical systems. The observation of biofilm formation processes using a confocal laser scanning microscope and electrochemical flow cells revealed that MR-1 forms structurally different biofilms on graphite electrodes depending on the electrode potential. We also found that the electrode potential affects the gene expression and metabolic profiles of MR-1, and elucidated the molecular mechanism underlying the electrode potential sensing of this strain.

研究分野：応用微生物学

キーワード：微生物電気化学 細胞外電子伝達 微生物燃料電池 遺伝子発現 バイオフィーム

1. 研究開始当初の背景

近年、電気化学的な活性を持ち、電極との電子授受(電流)を介して増殖に必要なエネルギーを獲得する微生物(electrochemically active bacteria; EAB)が相次いで発見され、大きな注目を集めている。EABは微生物による電力生産(微生物燃料電池)や微生物への電子注入による物質生産(微生物電気合成)等、様々な有用バイオプロセスへの応用可能性を秘めており、その電流生成メカニズムや代謝機能の解明が望まれている。

我々は次世代の環境調和型エネルギー・物質変換技術としてEABを利用したバイオ電気化学システム(bioelectrochemical systems; BES)に着目し、EABの生理機能とそれを応用したバイオプロセス(微生物燃料電池・微生物電気合成等)に関する研究を行ってきた。BESは微生物・電極間の電子移動によって駆動されるEABの代謝反応を利用したシステムであり、その効率は系内を流れる電流量に依存する。しかし多くの場合においてBESの電流量は十分でなく、実用化されているシステムはほとんどない。

BESの電流密度を向上させるためには、微生物の電子伝達機構を理解し、その知見を基に微生物・電極間相互作用の最適化を図ることが有効なアプローチとなる。そこで我々はBESにおける微生物・電極間の電子伝達機構の解明、及び分子生物学的知見に基づく性能向上を目的として、*Shewanella oneidensis* MR-1株の電流生成機構に関する研究を行ってきた。MR-1株は世界的に最もよく研究されているEABのモデル菌株であり、これまでに電極への電子伝達経路(細胞外電子伝達経路)を構成する主要タンパク質がほぼ同定されている。しかし電流生成にはこれらのタンパク質以外にも、電子源となる有機物の異化代謝系や電極への付着性等、様々な要因が関与すると考えられる。そのため、MR-1株においても電流生成に関連する生物学的因子には不明な部分が多く、遺伝子工学的に電流量を向上させるための知見は極めて乏しいのが現状であった。

2. 研究の目的

一方我々は、これまでの研究において野生株よりも高い電流を生産する複数のMR-1変異株を取得、解析し、電極表層への付着性が本株の生成する電流量に大きな影響を与えることを見出した。この発見はBESの電流密度を決定する上でEABの電極表面に対するバイオフィーム形成能力が極めて重要な要因であることを示唆している。しかしEABが電極上に形成するバイオフィーム構造を観察した研究例は非常に少なく、バイオフィーム構造と電流量の関係性は未解明であった。また我々が単離した高電流生成MR-1変異株には細胞外多糖等の細胞表層構造が変異した

株に加えて、転写制御因子やシグナル伝達に関連する遺伝子の変異株も含まれており、これらの因子の機能を解明することによって電流生成や電極上へのバイオフィーム形成に關与する未知のメカニズムを明らかにすることができると考えられた。

そこで本研究ではMR-1株をEABのモデルとして用いて、電流量の向上において決定的な要因であると考えられた電極上のバイオフィーム構造とその形成過程、および電流生成に關与すると予想された未知転写因子の機能と電流生成の制御機構を解明することを目的とした。これによりEABが電極と相互作用するメカニズムを明らかにし、BESの効率を向上させるための知的基盤を確立することを目指した。

3. 研究の方法

(1) 電極バイオフィームの観察

MR-1株が電極上に形成するバイオフィームの観察は、共焦点レーザー走査型顕微鏡(CLSM)および我々が開発した電気化学フローセル(EFC; 図1)を用いて行った。電極呼吸条件下においてバイオフィームを形成するMR-1細胞をCLSMMで観察するため、MR-1株を嫌気条件下でも蛍光を発する緑色蛍光タンパク質(anaerobic green fluorescent protein; GFP)をコードしたプラスミドで形質転換し、EFCへ植菌した。電気化学フローセルは流水条件下で運転し、セル上部に設置された観察窓からCLSMM(正立型)の対物レンズを挿入し、バイオフィーム構造の変化を経時的に観察した。

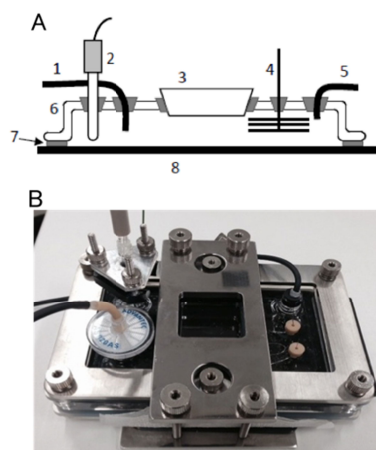


図1. 本研究で使用した電気化学フローセル(EFC). (A) EFCの模式図. 1: 流入口; 2: 参照電極; 3: 観察窓; 4: 対極; 5: 流出口; 6: セル本体; 7: プチルゴム棒; 8: グラファイト作用極. (B) EFCの写真.

(2) 電気化学セルの運転

MR-1及びその変異株が生成する電流量の測定には15 mL容の小スケール電気化学セル、RNA抽出及び代謝産物の分析には150 mL容の大スケール電気化学セルを使用した

(Nakagawa et al. 2015)。作用極にはグラファイトフェルト、対極には白金線、参照極には銀/塩化銀 (Ag/AgCl) 電極を用い、電解質には乳酸最少培地に 10 g/L の NaCl を添加したものを使用した。

(3) 遺伝子破壊株及び相補株の作製

MR-1 株の遺伝子破壊株の作製は相同性組換え (double crossover) 法により行った (Nakagawa et al. 2015)。MR-1 及びその変異株へのプラスミド導入は大腸菌 WM6026 との接合伝達、もしくはエレクトロポレーション法により行った。

(4) 代謝産物の分析

乳酸およびその代謝産物 (酢酸、ギ酸等の低分子有機酸) の定量は液体高速クロマトグラフィー (HPLC) もしくは酵素アッセイ法 (F-kit; J. K. international) により、発表論文 (Nakagawa et al. 2015) に記した方法に従って行った。

(5) RNA の抽出

MR-1 及びその変異株からの total RNA は Trizol reagent (Invitrogen) を用いて抽出し、RNeasy Mini Kit と Rnase-Free DNase Set (Qiagen) を用いて精製した。精製後の RNA の純度は Agilent 2100 Bioanalyzer と RNA 6000 Pico reagents 及び RNA Pico Chips (Agilent Technologies) を用い、添付の説明書の指示に従って確認した。

(6) 遺伝子発現解析

MR-1 及びその変異株における遺伝子発現は、定量的 RT-PCR (qRT-PCR)、DNA マイクロアレイ、及び LacZ レポーターアッセイにより行った。

qRT-PCR は LightCycler 1.5 instrument と LightCycler RNA Master SYBR Green I (Roche) を用いて、添付の説明書の指示に従って行った。検量線は PCR で増幅した DNA 断片の希釈系列を使用して作製した。定量的 PCR の特異性は融解曲線分析により確認した。

DNA マイクロアレイ解析は 60 mer の DNA プロブが配置されたカスタム DNA マイクロアレイ (8 × 15 K; Agilent Technologies) を用いて行った。cDNA の合成、ラベル化とハイブリダイゼーションは原核生物用の遺伝子発現解析プロトコル (Agilent One-Color Microarray-Based Prokaryote Analysis, version 1.4, <http://www.chem.agilent.com>) に従って行った。

LacZ レポーターアッセイはプラスミド pMElacZ を用い、発表論文 (Kasai et al. 2015) に記した方法に従って行った。

(7) 電気泳動移動度シフト解析 (EMSA)

電気泳動移動度シフト解析 (EMSA) は Cy3 でラベル化した DNA プロブと精製した転写因子タンパク質 (MetR、CRP、ArcA) を用

いて、発表論文 (Kasai et al. 2015) に記した方法に従って行った。各転写因子のタンパク質は大腸菌 BL21 (DE3) を用いて、N 末端もしくは C 末端に 6 残基のヒスチジンを付加して発現させた。タンパク質の精製は QuickPick IMAC Metal Affinity Kit for Proteins (Bio-Nobile) を用いて行った。

4. 研究成果

(1) 電極バイオフィームの形成過程の観察

電気化学フローセルに AFP を発現する MR-1 株 (MR-AFP 株) を植菌し、電極呼吸条件下で形成されるバイオフィーム構造を観察した。電極電位は標準水素電極 (SHE) に対し +0.4 V もしくは 0 V となるように印加した。比較のため、好気呼吸条件下 (電位印加なし) においてもフローセルを運転し、バイオフィーム観察を行った。

図 2 に各条件における成熟したバイオフィームの観察結果を示す。好気呼吸条件下では緑膿菌等で見られるマッシュルーム型バイオフィームに類似した構造が観察された (図 2A)。一方電極呼吸条件下 (0 V および +0.4 V) では薄く緻密なバイオフィームが観察された (図 2B と C)。電極呼吸条件下では電極への電子伝達に適した構造のバイオフィームが形成されることが示唆された。

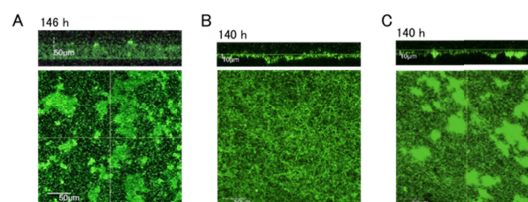


図 2. 好気呼吸条件下 (A) および +0.4 V (B) と 0 V (C) の電極呼吸条件下で観察された MR-AFP 株のバイオフィーム。

+0.4 V (図 2B) と 0 V (図 2C) におけるバイオフィーム構造を比較すると、0 V 時のバイオフィームにのみ部分的に菌体密度が高い部位が見られ、MR-1 株は電極電位に応じて異なる構造のバイオフィームを形成することが明らかとなった。細胞外多糖の染色試薬 (Concanavalin A) を用いてバイオフィームを染色すると菌体密度の高い部位が選択的に染色されたことから、0 V 条件下では細胞外多糖の合成が促進されることによりバイオフィーム構造が変化することが示唆された。細胞外多糖は菌体の保護や固体表面への接着に重要であることが知られているが、絶縁体であるため電極への電子伝達には障害となり得る。したがって MR-1 株はより高い電流が生成される +0.4 V 条件下では細胞外多糖の合成を抑制し、より電子伝達に適するようにバイオフィームの構造を変化させると考えられる (発表論文: Kitayama et al., 2017)。

(2) MR-1 株の電極電位認識機構の解明

上記の結果から、MR-1 株は電極電位の変化を認識し、遺伝子発現や代謝活性を変化させる能力を備えていることが示唆された。電極電位の変化が MR-1 株の遺伝子発現に与える影響を調べるため、本株を異なる電極電位 (+0.4 V と -0.1 V) に設定した電気化学セルを用いて培養し、DNA マイクロアレイを用いて電位によるトランスクリプトーム変化を解析した。その結果、高電位条件 (+0.4 V) では低電位条件 (-0.1 V) と比較して、NADH 脱水素酵素 (NDH) 遺伝子を含む多くの異化代謝系遺伝子の発現が上昇することが示された。

NDH 遺伝子を含む電位依存性遺伝子の上流域を探索した結果、多くの遺伝子の上流配列から ArcA の結合モチーフに類似した配列が見出された。ArcA は大腸菌において内膜キノンの酸化還元状態を認識する機構として知られる Arc system の response regulator であり、このことから MR-1 株の電極電位認識に Arc system が関与すると予想された。この仮説を検証するため、Arc system の sensor kinase である ArcS の欠損株 ($\Delta arcS$) を作成し、同様に電位変化によるトランスクリプトーム変動を解析した。その結果、 $\Delta arcS$ では野生株で変動を示した遺伝子の多くが有意な発現変動を示さないことが明らかとなり、MR-1 株において Arc system が主要な電極電位認識機構であることが示された。

Arc system は内膜キノンの酸化還元状態を認識することが知られている。そこで MR-1 株を異なる電位条件下で培養した場合に実際に内膜キノンの酸化還元状態が変化するかどうかを解析した。その結果、高電位条件下では低電位条件下と比較して、酸化型ユビキノンの存在比率が増加することが明らかとなった。MR-1 株の内膜キノンは細胞外電子伝達系を介して電極と電気的につながっているため、本株は電極電位と連動して変化する内膜キノンの酸化還元比を Arc system によって認識することで電極電位の変化に回答すると考えられる。

Arc system が電位応答性遺伝子の発現を直接的に制御するかどうかを検証するため、精製 ArcA タンパク質を用いたゲルシフトアッセイを行った。その結果、NDH 遺伝子を含む複数の電位応答性異化代謝遺伝子の上流域に ArcA が結合することが示された。以上の結果から、MR-1 株が電極電位の認識と異化代謝系の発現制御において中心的な役割を果たしていることが明らかとなった。

(3) 電流生成遺伝子の転写制御機構の解明

BES では微生物が電子源となる物質 (有機物等) を異化代謝し、その際に放出された電子が細胞外電子伝達系を介して電極へと移動することによって電流が生じる。したがって効率的な電流生成には有機物の異化代謝系と細胞外電子伝達系が協調的に制御され

る必要があると考えられる。しかし電流生成細菌がこれらの制御系をどのように制御しているのかは十分に解明されていなかった。そこで本研究では電流生成細菌と電極との相互作用の解明の一環として、MR-1 株における炭素異化代謝系と細胞外電子伝達系の制御機構に関する解析を行った。

これまでの他グループの研究において、MR-1 株の細胞外電子伝達系遺伝子の発現には cyclic AMP (cAMP) receptor protein (CRP) が必要であることが報告されていた。しかし CRP による細胞外電子伝達系遺伝子の詳細な制御機構は未解明であった。そこで我々は細胞外電子伝達系遺伝子 (*omcA* と *mtrCAB*) の発現メカニズムを分子生物学的に解析し、これらの遺伝子の転写単位とプロモーター領域を同定した。また *omcA* と *mtrC* の上流に CRP が結合し、これらの遺伝子の転写が活性化されることを明らかにした (発表論文: Kasai et al., 2015)。

また CRP が炭素異化代謝系の制御にも関与していると予想し、MR-1 が好んで利用する乳酸代謝遺伝子の発現に CRP が関与するかどうかを調べた。その結果 CRP が D-乳酸の酸化を触媒する D-乳酸脱水素酵素 (Dld) の発現を正に制御する転写活性化因子として働くことが明らかとなった (発表論文: Kasai et al., 2017)。

以上の成果は CRP が MR-1 株の電流生成遺伝子の発現を包括的に制御するグローバルレギュレーターであることを示しており、CRP 制御系の改変が本株の電流生成活性の向上に有効なアプローチであると考えられた。

(4) 電流生成を制御する新規シグナル伝達機構の発見

我々の以前の研究 (Kouzuma et al. 2014. *BMC Microbiology* 14:190) において、野生株よりも高い電流を生産する MR-1 の変異株がメチオニン合成に関与する遺伝子 (*metR* と *metE*) のプロモーター配列周辺に変異を保持していることが明らかとなっていた。そこで本研究ではメチオニン代謝と電流生成との関連を予想し、メチオニンまたはその関連物質の添加が MR-1 の電流生成量に影響を与えるかどうかを検証した。

電気化学セル (作用極電位: +0.2 V vs. Ag/AgCl) に MR-1 株を植菌し、10 mM の乳酸と 0.13 mM のメチオニン、S-アデノシルメチオニン、またはホモシステインを添加して生成される電流量を比較した結果、メチオニンまたはその細胞内代謝産物である S-アデノシルメチオニンを添加した場合に電流量が 2~3 倍に増加することが明らかとなった。一方、ホモシステインを添加した場合には電流生成が著しく抑制された。これらの結果から、メチオニン合成系の代謝産物によって MR-1 株の電流生成が大きな影響を受けることが示された。

MR-1 株を含むプロテオバクテリアにおい

て、メチオニン合成に關与する遺伝子の転写は MetR により活性化されることが知られている。また *metR* の発現量はホモシステイン存在下で活性化され、S-アデノシル存在下で抑制される。したがって MetR が電流生成関連遺伝子の発現を抑制する負の転写因子として働くことが予想された。この仮説を検証するため、MR-1 株の *metR* 恒常的発現株 (*metR*-CE 株) を作製し、電流生成とトランスクリプトームの変化を調べた。

metR-CE 株の電流生成量を測定した結果、*metR*-CE 株はほとんど電流を生成しないことが明らかとなった。また *metR*-CE 株と野生株のトランスクリプトームの違いを DNA マイクロアレイによって解析した結果、*metR*-CE 株では電流生成に關与する細胞外電子伝達系遺伝子 (*omcA*, *mtrC* 等) を含む多くの嫌気呼吸系遺伝子の発現が著しく低下していることが示された。またこれらの遺伝子の上流域と MetR の結合をゲルシフトアッセイによって調べた結果、MetR はこれらの遺伝子の上流に保存されている共通の結合モチーフに特異的に結合することが明らかとなった。細胞外電子伝達系遺伝子等の嫌気呼吸系遺伝子では CRP 結合配列の下流に MetR の結合モチーフが保存されていたことから、MetR は CRP による転写活性化を妨げる働きをされると考えられた。以上の結果から、MetR は MR-1 株において嫌気呼吸系を広く抑制するグローバルレギュレーターとして機能することが示された。このことは MR-1 株においてアミノ酸合成系と嫌気呼吸系が競合的に制御されることを示しており、本機構は同化代謝と異化代謝のバランスを調節するメカニズムとして機能していると考えられる。

(5) 総括と展望

本研究では電流生成細菌と電極との相互作用を解明するため、i) *S. oneidensis* MR-1 株が電極上に形成するバイオフィーム構造の解析、ii) MR-1 株の電極電位認識機構、iii) 電流生成遺伝子の発現制御機構に関する研究を行った。i) については、MR-1 株が流水条件下で形成する電極バイオフィームの構造を観察し、電極呼吸条件下では好気呼吸条件下とは異なる構造のバイオフィームが形成されることを明らかにした。また電極電位が細胞外多糖の合成とバイオフィームの構造に影響を与えることを見出した。ii) については MR-1 株の電極電位の認識に Arc system が中心的な役割を果たすことを示し、本株が電極電位に応じて異化代謝系の発現量を調節していることを明らかにした。iii) については MR-1 株の電流生成に關与する乳酸代謝系と細胞外電子伝達系の発現制御機構を解析し、CRP がこれらの遺伝子発現を協動的に制御する役割を果たしていることを示した。またメチオニンまたはその代謝産物 (S-アデノシルメチオニン) が電流生成や嫌気呼吸活性を制御するシグナル分子として働くことを

発見するとともに、MetR がこれらのシグナル受容と嫌気呼吸遺伝子の発現抑制を担う転写制御因子であることを明らかにした。以上の研究成果は MR-1 株が電極電位や細胞内のエネルギー状態に応じて電流生成効率を適切に制御していることを示しており、BES における電流生成細菌の挙動を示す重要な知見であると思われる。また本研究は MR-1 株の電流生成能力が CRP と MetR による制御系に大きく依存することを明らかにした。したがってこれらの制御系を応用した BES の高効率化技術の開発が期待される。

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 5 件)

1. Kasai T, Kouzuma A, Nojiri H, Watanabe K. (2015). Transcriptional mechanisms for differential expression of outer membrane cytochrome genes *omcA* and *mtrC* in *Shewanella oneidensis* MR-1. *BMC Microbiol.* 15:68. doi:10.1186/s12866-015-0406-8. 査読有.
2. Kouzuma A, Kasai T, Hirose A, Watanabe K. (2015). Catabolic and regulatory systems in *Shewanella oneidensis* MR-1 involved in electricity generation in microbial fuel cells. *Front Microbiol.* 6:609. doi: 10.3389/fmicb.2015.00609. 査読有.
3. Nakagawa G, Kouzuma A, Hirose A, Kasai T, Yoshida G, Watanabe K. (2015). Metabolic characteristics of a glucose-utilizing *Shewanella oneidensis* strain grown under electrode-respiring conditions. *PLoS One.* 10:e0138813. doi: 10.1371/journal.pone.0138813. 査読有.
4. Kasai T, Kouzuma A, Watanabe K. (2017). CRP regulates D-lactate oxidation in *Shewanella oneidensis* MR-1. *Front. Microbiol.* 8:869. doi: 10.3389/fmicb.2017.00869. 査読有.
5. Kitayama M, Koga R, Kasai T, Kouzuma A, Watanabe K. (2017). Structures, compositions and activities of live *Shewanella* biofilms formed on graphite electrodes in electrochemical flow cells. *Appl. Environ. Microbiol.* in press. 査読有.

[学会発表](計 10 件)

1. 廣瀬篤弥、高妻篤史、渡邊一哉「*Shewanella oneidensis* の電位応答のトランスクリプトーム解析」日本農芸化学会 2015 年度大会、岡山大学、2015 年 3 月
2. Kouzuma A, Nakagawa G, Watanabe K. Metabolic and transcriptional characteristics of an engineered glucose-utilizing *Shewanella*

- oneidensis strain grown under electrode-respiring conditions. The 5th International Meeting on Microbial Electrochemistry and Technologies (国際学会), アリゾナ州立大学, 2015年10月
3. Kasai T, Kouzuma A, Watanabe K. Transcriptional regulation of outer membrane cytochrome genes *omcA* and *mtrC* by two CRP-dependent promoters in *Shewanella oneidensis* MR-1. The 5th International Meeting on Microbial Electrochemistry and Technologies (国際学会), アリゾナ州立大学, 2015年10月
 4. Ueoka N, Kouzuma A, Watanabe K. Isolation and electrochemical cultivation of a novel iron-oxidizing bacterium NU-1 affiliated with the genus *Acidithiobacillus*. The 5th International Meeting on Microbial Electrochemistry and Technologies (国際学会), アリゾナ州立大学, 2015年10月
 5. 廣瀬篤弥、高妻篤史、青木元秀、梅村知也、渡邊一哉「*Shewanella oneidensis* MR-1 株のエネルギー獲得系の電極電位応答機構」環境バイオテクノロジー学会 2016年度大会、サテライトキャンパスひろしま、2016年6月
 6. 山田祥平、高妻篤史、渡邊一哉「*Acidithiobacillus ferrooxidans* の窒素固定制御系の解析」環境バイオテクノロジー学会 2016年度大会、サテライトキャンパスひろしま、2016年6月
 7. Mogi H, Kouzuma A, Watanabe K. Methionine stimulates anaerobic respiration in *Shewanella oneidensis* MR-1. 16th International Symposium on Microbial Ecology (国際学会), モントリオール, 2016年8月
 8. Hirose A, Kouzuma A, Aoki M, Umemura T, Watanabe K. Electrode potential-dependent energy conservation in *Shewanella oneidensis* MR-1. 16th International Symposium on Microbial Ecology (国際学会), モントリオール, 2016年8月
 9. 笠井拓也、高妻篤史、渡邊一哉「*Shewanella oneidensis* MR-1 株におけるCRP依存的D-乳酸代謝制御機構」日本農芸化学会 2017年度大会、京都女子大学、2017年3月
 10. 茂木久恵、高妻篤史、渡邊一哉「*Shewanella oneidensis* MR-1 株のMetRによる嫌気呼吸制御系の解明」日本農芸化学会 2017年度大会、京都女子大学、2017年3月

〔図書〕(計 1件)

1. 宮原盛雄、高妻篤史、渡邊一哉「微生物燃料電池の開発と展望」、表面・界面技術ハンドブック(エヌ・ティー・エス)、2016年

〔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://logos.ls.toyaku.ac.jp/~bioenergy1/>

6. 研究組織
(1)研究代表者
高妻 篤史 (KOUZUMA, Atsushi)
東京薬科大学生命科学部 助教
研究者番号：20634471