

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04191

研究課題名(和文) 蛍光クエンチ解消原理の天然抗体への適用による革新的免疫測定法の開発

研究課題名(英文) Development of innovative immunoassay through the application of quench-release principle to natural antibodies

研究代表者

上田 宏 (UEDA, Hiroshi)

東京工業大学・科学技術創成研究院・教授

研究者番号：60232758

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：従来の免疫測定法には、測定に多数のステップと最低数時間の時間を要する問題があった。我々は最近、組み換え抗体を用いた蛍光免疫センサータンパク質Quenchbody (Q-body)の構築原理を見いだし、サンプルと混合するだけで低分子からタンパク質まで多くの目的物質(抗原)を蛍光検出することに成功した。今回、その動作原理を精査することで、組み換え抗体のみならず天然抗体をもQ-body化しうる方法論を複数確立した。

研究成果の概要(英文)：Previous immunoassays have drawbacks of many steps and long time consideration. Recently we found a construction principle of recombinant antibody-based fluorescent biosensor Quenchbody (Q-body), and succeeded in detecting many targets from small molecules to large proteins by just mixing with sample. This time, by the close inspection of working principle, we developed several methodologies to turn not only recombinant but also natural antibodies to Q-bodies.

研究分野：蛋白質工学

キーワード：バイオセンサー バイオテクノロジー 抗体 抗原 蛍光 クエンチ ケミカルバイオロジー

1. 研究開始当初の背景

近年、研究代表者らにより、無細胞タンパク質合成系を用いて部位特異的に蛍光ラベルを施した一本鎖抗体(V_H と V_L をペプチドリンカーで結合させたもの)が、抗原添加時にその蛍光強度を顕著に強める現象が見出された。この現象は、抗原非存在時に可変領域内における V_H/V_L 相互作用部位近傍のトリプトファンに蛍光色素が近接し、その蛍光強度を低下させる(Quench状態になる)が、抗原結合時は色素がトリプトファンに近づけず、Quench状態が解消するために起こると考えられ、このような抗原依存的なQuench解消現象を起こす蛍光標識抗体断片を「Quenchbody」と呼んでいる(図1)。

すでに上記の低分子化合物やペプチド、蛋白質、あるいはそのリン酸化修飾等を認識する多くの抗体をQuenchbody化可能なことが確認されていること、Quench現象に必要なトリプトファンは、95%以上保存されていることから、汎用的な免疫測定技術となる可能性が高い。

本現象は、 V_H/V_L の部位特異的な蛍光標識を検討した際偶然見出されたものであるが、テトラメチルローダミン(TAMRA)やATTO655などの色素とトリプトファンを混合することで、光誘起電子移動PeTと蛍光クエンチが起こることはすでに報告されており、保存性の高い各Trp残基のPheへの変異により応答性が減少することからその検出原理は確かなものと言える。例えば骨代謝マーカーであるオステオカルシンペプチド(BGP-C7)の EC_{50} では、競合ELISAの IC_{50} を凌駕する値が得られている($EC_{50} = 2.5 \times 10^{-8} M < 8.8 \times 10^{-8} M$)。さらに最近、scFvでなくFabのN末端をラベルすることで、クエンチ状態が安定化し、より高い抗原応答性が得られることも分かってきた。また、特にタンパク質抗原の場合には、 V_H, V_L 両鎖のN末端をラベルすることで高い応答を示すQ-bodyが構築できる事が明らかとなった。

しかし同時に、抗原応答性は用いる抗体によって多様であること、またQ-bodyの無細胞系での合成量は限られており、今後の細胞イメージングや臨床診断などへの応用のためには、より収量の多い合成法の開発が必要な事も明らかとなってきた。

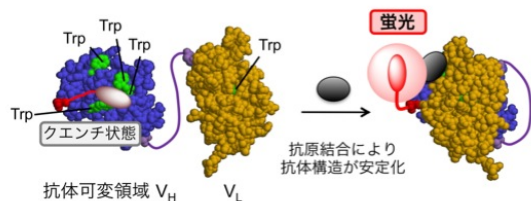


図1 Q-bodyの動作原理

2. 研究の目的

上記の問題の解決のため、

1) ケミカルバイオロジー的手法との組み合わせにより、タンパク質レベルで抗体を部位特異的に蛍光標識してQ-body化する手法の開発を行う。具体的には、i) 光化学修飾法による可変領域特異的蛍光修飾法を開発する。また、ii) 抗体N末端特異的な蛍光修飾法を開発する。さらに、iii) 抗体結合タンパク質を蛍光プローブ化し、混ぜるだけで可能な蛍光修飾法を開発する。これらにより、組み換え抗体を構築する手間なしに多数の抗体をQ-body化し、それらの応答を調べる事が可能になる。また、量産によりコストを低減できる。

2) 混合後に蛍光強度を測定するだけでその場で抗原検出が可能な本法の特長を生かした応用を試みる。具体的にはi) 診断や環境保全上重要な各種抗原を網羅的に蛍光検出できる蛍光抗体チップの作製、ならびにii) 細胞内修飾特異的抗体を用いた、細胞骨格蛋白質ならびにヒストン修飾の時空間的变化のイメージング、を目標とした。

3. 研究の方法

1-1) 光化学修飾法による可変領域特異的蛍光修飾: 多くの抗体の可変領域(抗原結合部位)内部に存在する芳香族アミノ酸からなる核酸結合部位(Nucleotide binding site, NBS)に着目し、ここに結合能を持つ8-アジドATP(K. Rajagopalan et al., *PNAS* **93**, 6019, 1996)やインドール(N.J. Alves et al., *Biomaterials* **34**, 5700, 2013)などの複素環化合物と蛍光色素をリンカーを介して結合させた分子(図2)を用意し、これと天然抗体をUVクロスリンクすることでその抗体をQ-body化できる可能性を検討する。

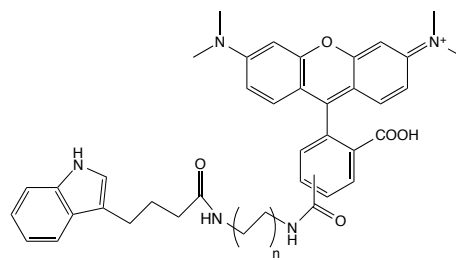


図2 IBA-TAMRAの構造

1-2) N末端ケトン化による可変領域特異的蛍光修飾: 現在Q-bodyの構築時には、基本的に抗体アミノ末端近傍に蛍光色素を導入しているが、これを化学修飾で行う場合、通常のsuccinimide等を用いたアミノ基修飾法ではN末端に加えLys残基のε-アミノ基も修飾されてしまう可能性がある。そこで、最近報告されたより特異性の高いアミノ基転移反応による抗体N末端ケトン基導入法(Witus, L.S., et al., *JACS* **135**, 172223, 2013)と、ヒドラジドあるいはアルコキシアミン修飾蛍光色素によりN末端特異的蛍光修飾を行う(図3)。この2番目の反応は、最近触媒として通常用いられているア

ニリンでなく p-phenylenediamine を用いることで、抗体活性が失われない生理的条件下で短時間に反応可能と報告された(Wendeler, M. et al., *Bioconj. Chem.* **25**, 93, 2014)。これにより、末端残基による効率の違いはあるものの原理的に従来法によるダブルラベル Fab と近い構造の蛍光標識抗体を得ることが可能と期待される。

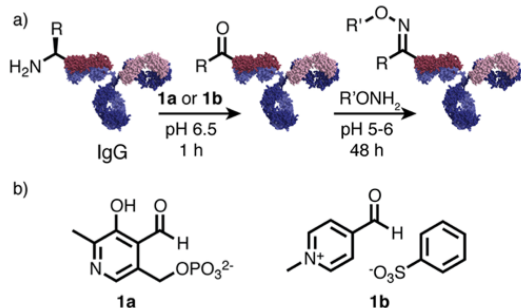


図3 抗体 N 末端特異的修飾法

1-3) 抗体結合蛍光プローブの構築: 抗体 Fab 領域に結合する 2 種類のタンパク質を用いる。具体的には H 鎖に結合する Protein A と Protein G をリンカーで結合させた融合タンパク質 PAXPG を構築し、さらにその N 末端にリンカーを付加してそこに TAMRA を修飾する。精製後、この PAXPG プローブと Fab との複合体が、Q-body としての性質を示すか検討する。また、最近発見された、L 鎖に強く結合する *Mycoplasma* 由来タンパク Protein M を用いて、その C 末端に色素を導入し、同様に Q-body としての性能を検討する。

2) 上記いずれかの方法で構築した Q-body に変性剤あるいは抗原を加え、その蛍光応答を蛍光光度計で測定する。変性剤を加える事で、初期クエンチ率が推定され、抗原添加により Q-body としての応答が測定される。この作業を、市販あるいは連携研究者由来の IgG を含めて実施する。

4. 研究成果

九州大学先導化学研究所新藤教授らとの共同研究を通じて有機合成した IBA-TAMRA (図 2) と抗 BGP-C7 一本鎖抗体 scFv を混合し、適切な条件下で UV を照射することで、両者をクロスリンクさせ、精製後に 9 倍以上の抗原依存的蛍光強度増加を示す Q-body を得る事に成功した (図 4)。これは従来法で見られた応答(6 倍以下)よりも高い。さらに、抗ヒト血清アルブミン(HSA) IgG を用いて、同様に HSA に反応する Q-body を構築できた (論文 5)。プローブをペプチド合成法で作製することで側鎖に電荷を導入して抗体との親和性を向上させ、修飾効率を向上させることにも成功している (未発表)。

また、最近報告された Rapoport 試薬 (図 3, 1b) を用いたアミノ基転移反応を利用し

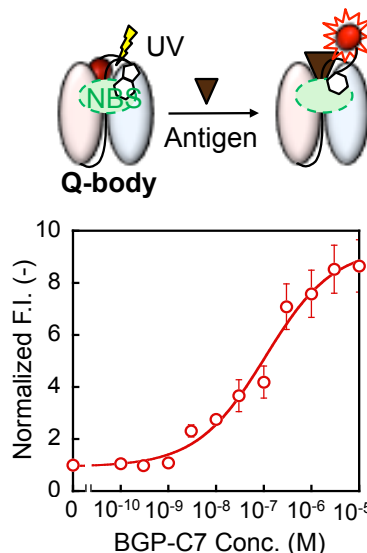


図4 NBS Q-body の模式図と抗原応答

た、N 末端ケトン化による組み換え Fab 断片の Q-body 化を試み、これに成功した。従来のような修飾用の Cys 残基を持たない Fab 蛋白質に対し、その N 末端特異的にリンカー長の異なる 2 種類の TAMRA 色素を導入したところ、その長さに応じて蛍光強度の抗原濃度依存性を観察できた。またこの際、N 末端残基の違いを利用して H 鎖選択的に色素を導入することができ、より高い応答を実現できた (論文 15, 生物学論文賞受賞)。

さらに、抗体 Fab 断片 H 鎖(Fd 鎖)結合プローブ PAXPG の構築に成功 (論文 20) し、これを抗 BGP および市販の抗ビメンチン Fab と混合し、クエンチと抗原依存的な脱クエンチの観察に成功した (論文 11)。また、抗体 L 鎖結合タンパク Protein M に基づくプローブを用いて同様の実験を行い、抗 BGP Fab で約 2 倍の抗原依存的蛍光増加を観察した (学会発表 1,2)。

市販の抗ペプチドタグ抗体 IgG 数種を PM probe で Q-body 化できるか試みた所、Target タグ抗体で抗原応答が認められた。また手持ちの抗オステオカルシン抗体 5 種から、IgG 添加で有意にクエンチする Q-body 候補が 3 種認められた。そこで新規に抗原としてインシュリンとコルチゾール-BSA をマウスに免疫し、ハイブリドーマ各数クロンの作成を行った。今後これらの Q-body 適性を判定し、その結果に基づき高性能な Q-body 構築を試みたい。

このほか、Q-body を用いて、がん細胞に過剰発現する Claudin-4 (論文 6) あるいは HER2 タンパク質(学会発表 8)を洗浄操作なしに検出することに成功した。さらに Her2 認識 Fab 型 Q-body の C 末に 9xArg 配列を付加し、これに Polo-like kinase (Plk1) に対する siRNA を作製したところ、HER2 陽性細胞のみを 30 分以内に蛍光染色し、3 日間の培養後、HER2 陽性細胞にて Plk1 タンパク質の顕著な発現抑制と 50%以上の細胞死を誘導できること、すなわちがん治療効果を持

つ Q-body を創製できた(学会発表 4)。また、円順列変異 GFP と V_H-V_L との融合タンパク質の結合を最適化することで、細胞内外で抗原結合により蛍光強度が 4 倍上昇する Flashbody の創出に成功した(論文 4)。今後、細胞内修飾認識抗体への応用を試みる。

このほか、これまで仮説の域を出なかった Q-body 中での抗原結合に伴う色素の動きを ELISA と蛍光偏光法で証明した(論文 9)。

さらにオープンサンドイッチ原理に基づく低分子の新規免疫測定系の構築(論文 1,3,7,8,13,18,19)、生物発光を用いた相互作用検出系の構築(論文 2,3,10,17,21)についても成果を得た。

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 30 件)

- 1) J. Su, J. Dong, T. Kitaguchi, Y. Ohmuro-Matsuyama, and H. Ueda "Noncompetitive homogeneous immunodetection of small molecules based on beta-glucuronidase complementation" *Analyst* (査読有) **143**, 2018, 2096-2101.
DOI:10.1039/C8AN00074C
- 2) Y. Ohmuro-Matsuyama, T. Yamashita, H. Lin, H. Yamaji, and H. Ueda "Improved sensitivity of firefly luminescent intermediate-based protein interaction assay using Ser 440 mutant with lower adenylation activity" *Luminescence* (査読有) **33**, 2018, 125-130,
DOI:10.1002/bio.3381
- 3) Y. Ohmuro-Matsuyama, and H. Ueda "Homogeneous noncompetitive luminescent immunodetection of small molecules by ternary protein fragment complementation" *Anal. Chem.* (査読有) **90**, 2018, 3001-3004,
DOI: 10.1021/acs.analchem.7b05140
- 4) D. Wongso, J. Dong, H. Ueda, and T. Kitaguchi "Flashbody: a next generation Fluobody with fluorescence intensity enhanced by antigen binding" *Anal. Chem.* (査読有) **89**, 2017, 6719-6725,
DOI: 10.1021/acs.analchem.7b00959
- 5) H.-J. Jeong, K. Matsumoto, S. Itayama, K. Kodama, R. Abe, J. Dong, M. Shindo, and H. Ueda "Construction of dye-stapled Quenchbody by photochemical crosslinking to antibody nucleotide-binding site" *Chem. Commun.* (査読有) **53**, 2017, 10200 - 10203,
DOI: 10.1039/C7CC03043F
- 6) H.-J. Jeong, T. Kawamura, M. Iida, Y. Kawahigashi, M. Takigawa, Y. Ohmuro-Matsuyama, C.-I. Chung, J. Dong, M. Kondoh, and H. Ueda "Development of a Quenchbody for the detection and imaging of the cancer-related tight-junction-associated membrane protein claudin" *Anal. Chem.* (査読有) **89**, 2017, 10783-10789,
DOI: 10.1021/acs.analchem.7b02047
- 7) J. Dong, M. Shichiri, C.-I. Chung, T. Shibata, K. Uchida, Y. Hagihara, Y. Yoshida, and H. Ueda "An Open Sandwich immunoassay for detection of 13(R,S)-Hydroxy-9(E),11(E)-octadecadienoic acid" *Analyst* (査読有) **142**, 2017, 787 - 793, DOI: 10.1039/C6AN02437H
- 8) C.-I. Chung, R. Makino, Y. Ohmuro-Matsuyama, and H. Ueda "Development of a fluorescent protein-antibody FRET probe for the detection and imaging of osteocalcin" *J. Biosci. Bioeng.* (査読有) **123**, 2017, 272-276,
DOI: 10.1016/j.jbiosc.2016.09.003
- 9) H. Ohashi, T. Matsumoto, H.-J. Jeong, J. Dong, R. Abe, and H. Ueda "Insight into the working mechanism of Quenchbody: Transition of the dye around antibody variable region that fluoresces upon antigen binding" *Bioconj. Chem.* (査読有) **27**, 2016, 2248-2253,
DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00217
- 10) M. Kurihara, Y. Ohmuro-Matsuyama, K. Ayabe, T. Yamashita, H. Yamaji, and H. Ueda "Ultra sensitive firefly luciferase-based protein-protein interaction assay (FlimPIA) attained by hinge region engineering and optimized reaction conditions" *Biotechnol. J.* (査読有) **11**, 2016, 91-99,
DOI: 10.1002/biot.201500189
- 11) H.-J. Jeong, T. Kojima, J. Dong, H. Ohashi, and H. Ueda "One-pot construction of Quenchbodies using antibody-binding proteins" *Anal. Methods* (査読有) **8**, 2016, 7774-7779,
DOI: 10.1039/C6AY02108E
- 12) H.-J. Jeong, T. Kawamura, J. Dong, and H. Ueda "Q-bodies from recombinant single-chain Fv fragment with better yield and expanded palette of fluorophores" *ACS Sens.* (査読有) **1**, 2016, 88-94,
DOI: 10.1021/acssensors.5b00089
- 13) H. Iwai, M. Kojima-Misaizu, J. Dong, and H. Ueda "Creation of a ligand-dependent enzyme by fusing circularly permuted antibody variable region domains" *Bioconj. Chem.* (査読有) **27**, 2016, 868-873,

- DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00040
- 14) J. Dong, H.-J. Jeong, and H. Ueda "Preparation of Quenchbodies by protein transamination reaction" *J. Biosci. Bioeng.* (査読有) **122**, 2016, 125-130, DOI: 10.1016/j.jbiosc.2015.12.010
 - 15) R. Dale, Y. Ohmuro-Matsuyama, H. Ueda, and N. Kato "Mathematical model of the firefly luciferase complementation assay reveals a non-linear relationship between the detected luminescence and the affinity of the protein pair being analyzed" *PLoS ONE* (査読有) **11**, 2016, e0148256, DOI: 10.1371/journal.pone.0148256
 - 16) J. Dong, T. Kojima, H. Ohashi, and H. Ueda "Optimal fusion of antibody binding domains resulted in higher affinity and wider specificity" *J. Biosci. Bioeng.* (査読有) **120**, 2015, 504-509, DOI: 10.1016/j.jbiosc.2015.03.014
 - 17) Ohmuro-Matsuyama, Y., and Ueda, H. "Ultrasensitive Firefly luminescent intermediate-based Protein-protein Interaction Assay (FlimPIA) based on the functional complementation of mutant firefly luciferases" *Methods Mol. Biol.* **1596**, 119-130 (2017). (査読有) DOI: 10.1007/978-1-4939-6940-1_8
 - 18) Iwai, H., Kojima-Misaizu, M., Dong, J., and Ueda, H. "Creation of antigen-dependent β -lactamase fusion protein tethered by circularly permuted antibody variable domains" *Methods Mol. Biol.* **1596**, 149-165 (2017). (査読有) DOI: 10.1007/978-1-4939-6940-1_10
 - 19) Dong, J., and Ueda, H. "ELISA-type assays of trace biomarkers using microfluidic methods" *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.*, e1457 (2017). (査読有) DOI: 10.1002/wnan.1457
 - 20) 上田 宏, 董 金華, 鄭 熙陳, 阿部 亮二 "ネオバイオ分子としての Q-body" *生物工程* **95**, 489-491 (2016). (査読有)
 - 21) Ohmuro-Matsuyama, Y., and Ueda, H. "A protein-protein interaction assay FlimPIA based on the functional complementation of mutant firefly luciferases" *Methods Mol. Biol.* **1461**, 131-142 (2016). (査読有) DOI: 10.1007/978-1-4939-3813-1_10

[学会発表] (計 30 件)

- 1) 上田 宏, 三宅千紬, 塚原知也, 高橋 昌樹, 児島智樹, 鄭 熙陳, 北口哲也, 董 金華, 大橋広行 "蛍光免疫センサー Q-body 迅速構築のための新しい戦略" 化学工学会第 49 回秋季大会(名古屋)(2017)
- 2) 塚原知也, 三宅千紬, 董 金華, 北口哲也,

- 上田 宏"Q-body 化に適した抗体選抜のための新規抗体結合プローブの構築"第 69 回日本生物工学会大会(東京)(2017)
- 3) H. Ueda "Development of antibody-based imaging probes utilizing fluorescence quenching phenomena", International Conference on Translational Medicine and Imaging (ICTMI) 2017, Vellore Institute of Technology, Vellore, India (2017) (招待講演)
 - 4) Hiroshi Ueda, Hee-Jin Jeong, Jinhua Dong, Yuya Oka "Detection and destruction of Her2 positive cancer cells by Quenchbody-siRNA complex" 第 17 回日本蛋白質科学会年会(仙台)(2017) (口頭)
 - 5) Devina Wongso, Jinhua Dong, Hiroshi Ueda, Tetsuya Kitaguchi "Flashbody: genetically-encoded antibody-based fluorescent probe with antigen dependent fluorescence intensity" 第 17 回日本蛋白質科学会年会(仙台)(2017)(口頭発表)
 - 6) Hiroshi Ueda, Yuya Oka, Chan-I Chung, Hee-Jin Jeong, Jinhua Dong "Antibody-based Fluorescent Probes: How Can We Convert Antigen Binding Signal to Fluorescence Signal?", Third FB3 (Fluorescent Biomolecules and their Building Blocks) Conference, Tianjin University, Tianjin, People's Republic of China (2016) (招待講演)
 - 7) Hiroshi Ueda, Hideki Yamaji, Yuki Ohmuro-Matsuyama, "Hinge region mutagenesis of beetle luciferases for the improved protein-protein interaction assay FlimPIA", International Conference on Bioluminescence and Chemiluminescence (ISBC)2016(招待講演)(国際学会)(2016)
 - 8) 岡 裕也, 鄭 熙陳, 董 金華, 上田 宏 "蛍光免疫センサー Quenchbody を用いたがん抗原蛋白質 HER2 の検出", 化学工学会第 81 年会 (関西大学) (2016)
 - 9) 上田 宏. 「組み換え抗体を用いた酸化脂質検出系の構築」, 第 11 回レドックス・ライフイノベーションシンポジウム(お茶の水女子大学) (2016) (招待講演)
 - 10) Hiroshi Ueda "Development of biosensor proteins utilizing fluorescence quenching and bioluminescent reactions", 6th International Conference on Bimolecular Engineering, Society for Biological Engineering, AIChE, Grand Hyatt Singapore, Singapore (2016) (招待講演)
 - 11) Hiroshi Ueda, Hideki Yamaji, Yuki Ohmuro-Matsuyama. "Hinge region engineering of firefly luciferases for

robust protein-protein interaction assay FlimPIA", Pacificchem 2015 (Honolulu, HI) (2015) (招待講演)

- 12) 上田 宏, 鄭 熙陳, 松本 健司, 板山 修也, 阿部亮二, 董 金華, 新藤 充. 「抗体タンパク質からの蛍光免疫センサー Quenchbody の構築」, BMB2015 (神戸ポートアイランド) (2015) (招待講演)
- 13) H. Ueda "Development of biosensor proteins utilizing fluorescence quenching and bioluminescent reactions", 42nd Annual Meeting and International Symposium of the Korean Society for Microbiology and Biotechnology (KMB2015), Gyeongju Hwabaek International Convention Center (HICO), 慶州, 大韓民国 (2015) (招待講演)

[図書] (計 1 件)

- 1) J. Dong, and H. Ueda in *Advances in Medicine and Biology*, Vol. 125. (ed. L.V. Berhardt) p. 123-159 (Nova Science Publishers Inc., New York; 2017).
https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?products_id=63337

[産業財産権]

○出願状況 (計 7 件)

- 1) 名称: 抗体のヌクレオチド結合部位(NBS)を利用して蛍光標識された抗体
発明者: 上田宏, 鄭熙陳, 董金華, 阿部亮二
権利者: 東京工業大学, ウシオ電機
種類: 特許
番号: 2015174075
出願年月日: 2015年09月03日
国内外の別: 国内
- 2) 名称: 融合タンパク質及びそれを用いた抗原の検出方法
発明者: 上田 宏, 董 金華
権利者: 東京工業大学
種類: 特許
番号: 201611475
出願年月日: 2016年01月25日
国内外の別: 国内
- 3) 名称: 融合タンパク質及びそれを用いた抗原の検出方法
発明者: 上田 宏, 董 金華
権利者: 東京工業大学
種類: 特許
番号: PCT/JP2016/88601
出願年月日: 2016年12月21日
国内外の別: 国外
- 4) 名称: 抗原検出又は測定用キット
発明者: 上田 宏, 大室 有紀, 三宅 千絢
権利者: 東京工業大学

種類: 特許

番号: 2017021164

出願年月日: 2017年02月08日

国内外の別: 国内

- 5) 名称: 融合タンパク質及びそれを用いた抗原の検出方法
発明者: 上田 宏, 董 金華
権利者: 東京工業大学
種類: 特許
番号: PCT/JP2016/88601
出願年月日: 2016年12月21日
国内外の別: 国外

- 6) 名称: mini Q-body
発明者: P. Kristensen, H. Ueda, B. Banwait
権利者: Aarhus University, 東京工業大学
種類: 特許
番号: EP17172194.7
出願年月日: 2017年05月22日
国内外の別: 国外

- 7) 名称: 抗原検出又は測定用キット
発明者: 上田 宏, 大室 有紀, 三宅 千絢, 塚原 知也
権利者: 東京工業大学
種類: 特許
番号: PCT/JP2018/1186
出願年月日: 2018年01月17日
国内外の別: 国外

[その他]

ホームページ等

上田・北口研究室 <http://www.ueda.res.titech.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上田 宏 (UEDA, Hiroshi)

東京工業大学・科学技術創成研究院・教授
研究者番号: 60232758

(2) 研究分担者

大室 有紀 (OHMURO, Yuki)

東京工業大学・科学技術創成研究院・助教
研究者番号: 30571088

董 金華 (DONG, Jinhua)

東京工業大学・科学技術創成研究院・助教
研究者番号: 80527838

鄭 熙陳 (JEONG, Hee-Jin)

東京工業大学・資源化学研究所・特任助教
研究者番号: 70737981

(3) 連携研究者

小林 典裕 (KOBAYASHI, Norihiro)

神戸薬科大学・薬学部・教授
研究者番号: 90205477