

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2006～2008
課題番号：18580124
研究課題名（和文） 遺伝子工学的手法による新規の医薬品剤としてヒトリゾチームの 抗菌ペプチドの生産開発
研究課題名（英文） A Genetic Engineering Approach to the Development of Novel Anti-microbial Peptide Drugs from Human Lysozyme
研究代表者 イブラヒム ヒッシュムラドワン（IBRAHIM HISHAM RADWAN） 鹿児島大学・農学部・准教授 研究者番号：90274836

研究成果の概要： 生体防御という観点からは、ヒトリゾチームの抗菌性ペプチドの発現ができれば、生体防御の強化が可能な食品や、消化器系などの傷害の治療に有効な医薬品の開発が可能になるものと考えられ、非常に有用である。本研究により、ヒトリゾチームに新規なペプチドが含まれることが明らかにした。*Pichia*により産生させることができ、これらの新規抗菌ペプチドを摂取したり投与したりすることによって、潜在的な微生物病原体に起因する感染症又は消化器系炎症等の予防や治療を行うことが期待される。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2004年度			
2005年度			
2006年度	2,100,000	0	2,100,000
2007年度	700,000	210,000	910,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,500,000	420,000	3,920,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：医薬品剤開発、ヒトリゾチーム、抗菌ペプチド、酵母発現、抗感染機能、蛋白質工学、機能性食品、タンパク構造と機能

1. 研究開始当初の背景

MRSAやVREなど抗生物質や消毒薬に対する耐性菌が出現し、このような薬物に対する耐性の情報がある菌種から他の菌種へと伝搬されることが明らかとなり、抗生物質に代わる抗菌物質の必要性が高まってきた。特に、抗菌性だけでなく、これまでの抗真菌剤の大きな問題点であった副作用あるいは細胞毒性というものがなるべく小さい抗菌物質が望まれるようになってきている。生物は外界の微生物に対して自らを防御するため、様々な防御機構を備えているが、その一つが抗菌性ペプチドであり、生物が本来、自ら産生しているものであるため、生体

に対しての副作用あるいは為害作用は極めて小さく、抗生物質の代わり得るものとして大きな期待を集めている。また微生物は細胞内に侵入してきた有害物質を認識して有害物質だけを選択的に破壊するプロテアーゼを産生することが知られている。しかし、抗菌ペプチドはその構造的な特徴から、それらのプロテアーゼに認識されにくく、分解されにくい。以上のことから抗菌ペプチドは細菌が抗菌ペプチドに抵抗性を示すことが難しいと考えられている。自然免疫システムの例として、鳥類の卵白、動物やヒトのミルク、涙、気道分泌物などが挙げられるが、これらに共通した成分としてリゾチーム（LZ）があるこ

とから我々はLZの生体内で消化物の抗菌機能についての研究を行ってきた。

2. 研究の目的

リゾチーム (LZ) は天然に存在する抗菌性蛋白質であり、ヒトの涙、人乳、唾液、喀痰、鼻汁などにも幅広く存在し、ムコ多糖類を加水分解する酵素である。生体内にあっては抗細菌、抗ウイルス作用、白血球の食能の増強作用、抗腫瘍作用、抗癌作用などの生体防御機構に関与する。LZは溶菌力と組織修復促進作用を有することから生体防御因子として重要な役割を果たしていることが注目され、医薬品剤として高いpotentialを持つと考えられている。細菌などに対する防御システムの役割を果たしているLZは、その存在下に同時にプロテアーゼを含んでいる。それらのプロテアーゼが殺菌作用の重要な関与因子になることがわかった。これを受けて、最近私たちは、*in vitro*において卵白LZは、胃の中でペプシンによる分解を受け、多様な強い抗菌ペプチド (cLZprmp) を生成することが明らかになった。本研究の目的は、ヒトLZをターゲットとして、遺伝子組み換え技術を用いることで、様々な新規の抗菌ペプチドモチーフ (hLZprmp) をクローニングし、ピキアで発現させて調製し、それらの抗菌活性および抗感染機能を調べる。また、優れた抗菌ペプチドを有し、抗菌機構についても解明する。これらの抗菌ペプチドをシーズとした新規の医薬品剤としての開発。

3. 研究の方法

最近、我々の研究により、新生児の胃内条件下でペプシン酵素による消化を行なったLZはさまざまな抗菌ペプチドが発生し、グラム陽性菌だけでなくグラム陰性菌にも強い抗菌活性を示した。それらの抗菌ペプチドは α -ヘリックス構造からなる (H1) と (H2)、 α -ヘリックス、ループ、ヘリックス構造からなる H1LH2 (HLH)、 α -ヘリックス構造と2つの β -ストランド構造からなる (H2S12)、 α -ヘリックス構造と3つの β -ストランド構造からなる (H2S13) の5種類の抗菌ペプチドから構成されている。H1 とH2 はヒトの自然免疫に含まれる強い抗菌活性を示す抗菌ペプチドであるLL-37のような α -ヘリックスモチーフを有しており、HLH、H2S12、H2S13 は同じくヒトの自然免疫に含まれる強い抗菌活性を示す抗菌ペプチドであるディフェンシンのようなヘリックスシートモチーフを有している。

抗菌ペプチドのcDNAのクローニング: hLZ抗菌ペプチドの抗菌機能解明のための第一歩としてhLZの抗菌ペプチドhLZprmp (H1)、(H2)、(HLH)、(H2S12) および (H2S13) のクローニングと発現機構の開発を目的とした。この目的のために、まず母乳中の乳腺細胞か

らhLZのcDNAをクローニングしてきた。次にhLZのcDNAをテンプレートとして抗菌ペプチドのcDNAのクローニングを行い、最終的には*Pichia pastoris*による抗菌ペプチドの発現と精製を行った。

5種類のhLZ新規抗菌ペプチド (hLZprmp) のcDNAの断片 (*Pst*Iと*Xba*Iで切断) をアガロースゲルから切り出し、精製した各新規抗菌ペプチドのcDNAは、付着末端法で*Pichia pastoris*の発現ベクターであるpPICZ α Bの α -ファクターシグナルペプチドの下にサブクローニングした。そして、各抗菌ペプチドのcDNAのpPICZ α Bベクターへの組み込みの確認はコロニーPCRおよびDNAシーケンシングで行なった。組み換えが成功したDNAベクターはそれぞれpPICZ α B-H1、pPICZ α B-H2、pPICZ α B-HLH、pPICZ α B-H2S12、pPICZ α B-H2S13と名付けた。これらの発現ベクターをエレクトロポレーションで、*Pichia pastoris*のX-33細胞のゲノムに挿入した。

Pichia pastorisによる発現: *Pichia pastoris*に挿入した発現ベクターはBMGY培地で増殖後、BMMY培地で48hメタノールで誘導し、遠心分離し、上澄みを凍結乾燥した。凍結乾燥したサンプルを蒸留水に希釈し、pH7.5に調整した。調整後、50m M Tris-HCl Buffer (pH7.5) で平衡したCM-Toyopearl カラムにかけた。そして、0.5M NaClでペプチドを回収した。さらにRP-HPLCによってペプチドを分離した。発現したhLZprmpの5つのペプチドはTricine SDS-PAGEで解析した。さらに、ESI-MS-MSによる測定を行い、MSスペクトルはm/zから算出された。

抗菌活性の測定: 抗菌活性の測定では、グラム陰性菌である*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* とグラム陽性菌である*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus zooepidemicus* を用いた。また真菌類として*Candida albicans*を使用した。細菌はTSB brothにhLZprmpが0-500 μ g/mlになるように調整し、37°Cで2時間培養後、nutrient agarに接種した。これを37°Cで18時間培養後、The colony forming (CFU)を測定した。全ての抗菌活性は3回行い、結果はlog CFU/mlで表した。

E. coliの外膜透過処理測定: *E. coli* K12の外膜の透過処理はreal-time kinetics fluorometer (Fluoroskan Ascent FL) でblack fluoroplatesを用いて細菌のNPN摂取量を測定することによって決定した。細菌をBHI brothで細胞増殖対数期まで培養後、10 mM HEPES buffer (pH7.2) で洗浄と懸濁を行った。この細菌懸濁液は、10 mM HEPES bufferと異なる濃度のhLZprmpもしくはcLZの入っているプレートに100 μ lずつ加えた。ポジティブコントロールとしてhLZprmpの代わりにpolymyxinを、コントロールとしてhLZprmpの代わりに10 mM HEPES bufferを加えたものを使用した。測定はNPNが外膜と作用したときの励起波長である355 nmと405 nmで濃度依

行的に行った。この結果は、3回の独立した実験結果から導き出した。

E. coliの内膜透過処理測定:内膜の透過処理の測定は、透過酵素が欠損した*E. coli* ML-35pを用いて細胞内で産生されているβ-ガラクトシダーゼがその基質であるONPGから産生されるONPの蛍光を測定することにより調べた。細菌は、BHI brothにより細胞増殖対数期まで培養後、5 mM NaPi buffer (pH7.5)で洗浄、再懸濁を行った。この細菌の懸濁液にONPGを加え、これを濃度の異なったhLZprmpもしくはcLZの入ったプレートにそれぞれ100 μl加え、ONPの吸光波長である400 nmで測定を行った。コントロールとしてhLZprmpの代わりに蒸留水を加え、ブランクとしてhLZprmpとONPGの代わりに蒸留水を使用した。

S. aureusの膜ポテンシャルに依存性呼吸測定:hLZprmpの*S. aureus*に対する膜ポテンシャルの呼吸阻害作用は、蛍光消光剤であるdiS-C₃を蛍光分光光度計を用いて測定を行った。*S. aureus*はBHI brothでOD600=0.6になるまで培養後、100 μlのBHIに再懸濁し、これをworking cellとした。diS-C₃の蛍光測定は25°C、660 nmの波長で行った。10 mM リン酸バッファー150 μlに対してworking cellを1.5 μl加え、その100 s後にdiS-C₃を0.5 μl加え、その200 s後に0.5 μlのvalinomycin、さらにその200 s後に2 μlのhLZprmpを加え、各試薬を加えたときのdiS-C₃の蛍光測定を行った。コントロールとしてdiS-C₃を細胞外へ放出する機能を持つnigericinを使用してnigericinとの比較を行った。

細菌膜との相互作用:hLZprmpと細菌膜との相互作用の構造的基盤を明らかにするために、*E. coli*膜由来の脂質から作られたリポソームを用いて円二色性(CD)スペクトルの変化を観測した。

4. 研究成果

hLZのcDNAをテンプレートとした、5種類の新規抗菌ペプチドの合成はFig. 1のクローニング設計で示した。プライマーは Forward primer (H1F, H2F) と Reverse primer (H1R, H2R, S12R, S13R) を使い、H1 は H1F と H1R プライマー、H2 は H2F と H2R プライマー、HLH は H1F と H2R プライマー、H2S12 は H2F と S12R プライマー、H2S13 は H2F と S13R プライマーをそれぞれ使用し、RT-PCRにより合成した。また、これらの各新規抗菌ペプチドの cDNA は *Pichia* の発現ベクターのα-ファクターシグナルペプチドの下に挿入する必要がある。そして、合成してきた菌ペプチドのcDNAは*Pichia*のゲノムの組み込みの確認はコロニーPCRで行ない、アガロースゲル電気泳動で分析した Fig. 1。

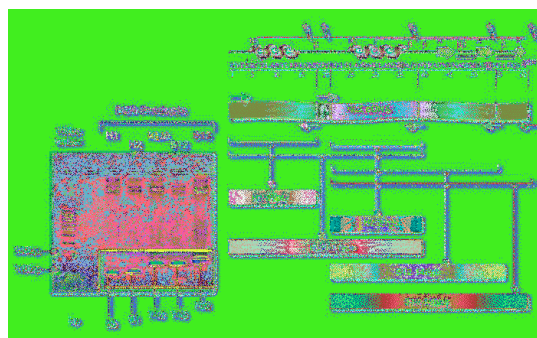


Fig. 1 Cloning Design of hLZprmp Peptides. (Right) Cloning design of of hLZprmp peptides. The matching region of forward and reverse primers are indicated by arrows. (Left) Agarose gel of Colony-PCR analysis of the *Pichia* genomic integration of LZprmp cDNAs. 100bp ladder is used as molecular size DNA markers. The expected size of each DNA fragment is shown below the gel.

*Pichia pastoris*によるhLZprmpの発現

pPICZαB-(H1)、(H2)、(HLH)、(H2S12)、と (H2S13) を組み込んだ *Pichia pastoris* のメタノールで48h 誘導による細胞外発現の確認をCM-Toyopearl column後RP-HPLCを用いて分析した結果をFig. 2で示した。Fig. 2 pPICZαB-(H1)、(H2)、(HLH)、(H2S12)、と (H2S13) を挿入した *Pichia* ではそれぞれ類似したピークを示し、hLZprmpペプチドの発現が出来ていることが確認された。以上のことから *Pichia pastoris* のメタノール誘導による hLZprmp のペプチドの細胞外発現に成功したことが確認された。

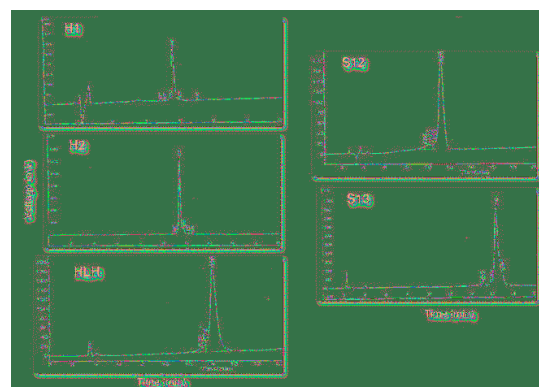


Fig. 2 RP-HPLC Pattern of of hLZprmp Peptides Purified from *Pichia pastoris*. Elution was achieved by 1-40% acetonitrile gradient.

hLZprmpの分子量測定

Tricine SDS-PAGEにより各hLZprmpの分子量の確認を行ったものがFig. 3で表している。(左)β-MEを加えたもの、(右)β-MEなしでそれぞれ電気泳動を行い、検出されたバンドを示したものである。これより(左)ではH1が2050 Da、H2が2085 Da、HLHが4453 Da、S12が4539 Da、S13が5587 Daのあたりにバンドが確認することができ、これは各hLZprmpのアミノ酸配列をもとに設計し、想定した分子量の値と一致していた。一方、(右)の方では、H1において2つのバンドを確認することがで

きた。1つのバンドは2050 bpに、もう1つのバンドは4100 bpあたりの所に確認された。

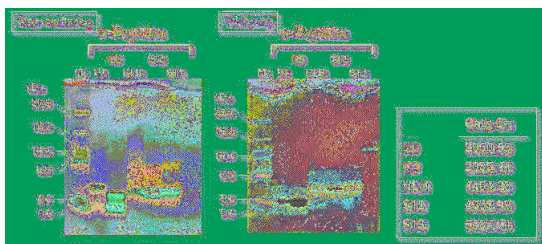


Fig. 3 Tricine SDS-PAGE of hLZprmp Peptides Purified from *Pichia pastoris* Medium.

MS-MSにより各hLZprmpの分子量の測定の結果を示したのがFig. 4である。これより、H1では2050.59 Da、H2では2085.43 Da、HLHでは4453.24 Da、S12では4538.99 Da、S13では5487.23 Daであることが示された。このことは、Tricine SDS-PAGEの結果と一致していたことから今回使用するhLZprmpは各hLZprmpのアミノ酸配列をもとに設計した通りに正しく合成されていることが示された。

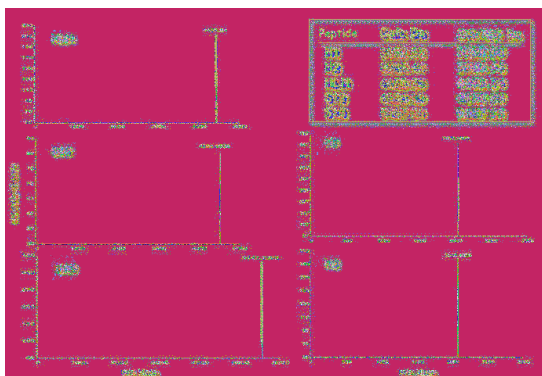


Fig. 4 MS-MS Spectra of hLZprmp Peptides Purified from *Pichia pastoris* Medium.

hLZprmpの抗菌活性；

グラム陰性菌に対する抗菌活性をCFUで示したのがFig. 5である。グラム陰性菌として *E. coli*、*P. aeruginosa*、*S. typhi*を使用した。その結果、*E. coli*と *S. typhi*でhLZprmpがcLZと比べ、強い抗菌活性を示した。その中で、HLHが最も強い抗菌活性を示し、次にH1が強い抗菌活性を示した。また *P. aeruginosa*ではcLZが最も強い抗菌活性を示した。次にFig. 6ではhLZprmpとcLZのグラム陰性菌に対する抗菌活性を示した。グラム陽性菌として

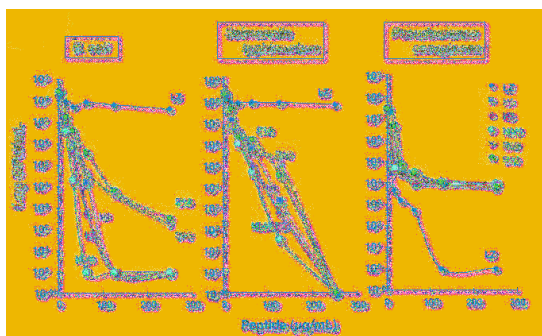


Fig. 5 Antimicrobial Activity of hLZprmp Peptides against Gram-negative Bacteria.



Fig. 6 Antimicrobial Activity of hLZprmp Peptides against Gram-positive Bacteria.

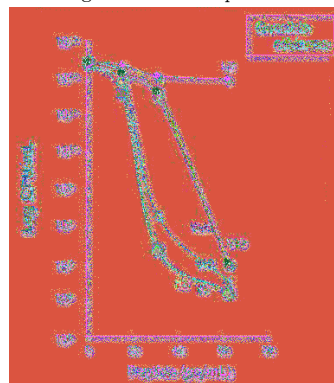


Fig. 7 Antimicrobial Activity of hLZprmp Peptides against *Candida albicans* Yeast.

S. aureus、*S. epidermidis*、*Strep. zoepi*を使用した。結果として実験で用いた全てのグラム陽性菌においてhLZprmpがcLZに比べ強い抗菌活性を示した。その中で、HLHが最も強い抗菌活性を示し、次にH1が強い抗菌活性を示した。そしてFig. 7ではhLZprmpとcLZの *C. albicans*に対する抗菌活性を示した。その結果、hLZprmpがcLZと比較して強い抗菌活性を示した。

抗菌活性の機構；

グラム陰性菌に対するの外膜透過処理；

hLZprmpが外膜に対して相互作用しているのか調べるためにNPNをプローブとして用い、ポジティブコントロールとして抗生物質であるpolymyx Bを用いてhLZprmpとの比較を行った。Fig. 8は *E. coli*を使用したときの外膜に対するNPNの取り込み量を濃度依存的に示したのである。

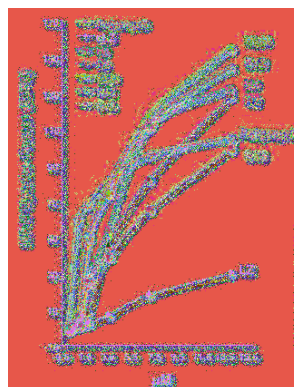


Fig. 8 Damage of *E. coli* Outer Membrane by hLZprmp Peptides.

これより全てのhLZprmpにおいてペプチドなしのものとは比べて高いNPNの取り込み量を示し、S13以外の全てのhLZprmpがポジティブコントロールとして使用されたpolymyx Bより高い値を示した。以上のことからhLZprmpは外膜に対して強い相互作用をしていることが明らかとなった。

内膜透過処理測定

hLZprmpが外膜と強い相互作用していることが示されたので、外膜から侵入したhLZprmpが内膜と相互作用しているのか調べるため、E. coliの細胞内で産生された β -galactosidaseが細胞外に放出された量をその基質であるONPGがONPになったときの変化の測定を行った。Fig. 9 (A)では時間依存的に、(B)では濃度依存にE. coliの β -galactosidaseの放出量を測定したものである。これよりcLZがある程度の β -galactosidaseを放出させたのに対してhLZprmpでは、ほとんど β -galactosidaseの放出を観測することができなかつた。以上のことからhLZprmpはタンパク質のような大きな物質は通過できないが、イオンのような比較的小さいサイズのものだけが通過できるポア形成を施すことで膜ポテンシャルだけを失わせることが考察された。

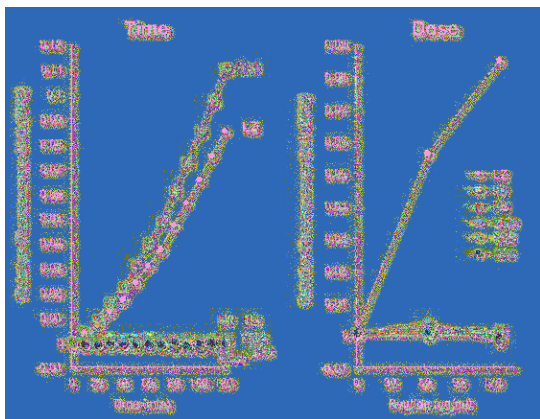


Fig. 9 Permeation of *E. coli* Inner Membrane by hLZprmp Peptides.

*S. aureus*の膜ポテンシャルに依存性呼吸

hLZprmpが*E. coli*と*S. aureus*の膜ポテンシャルを損失させていることが示されたので*S. aureus*を使用し、DiSC3 (5)を蛍光プローブで用い、膜ポテンシャルの損失させることで知られるNigericinをポジティブコントロールとして用いてhLZprmpと比較を行った。Fig. 10より、H1とHLHが加えてすぐにDiSC3の放出がピークに達し、これは、Nigericinよりも高いピークを示した。またcLZとH2は中程度のDiSC3の放出を示した。その一方でS12とS13ではほとんどDiSC3の放出を観測することができなかつた。そして、この放出量の多さと抗菌活性との間には相関関係があることが示された。以上のことからhLZprmpは細菌膜にポア形成することで細胞内のイオンを放出させることで膜ポテンシャルを損失させていることが考察された。

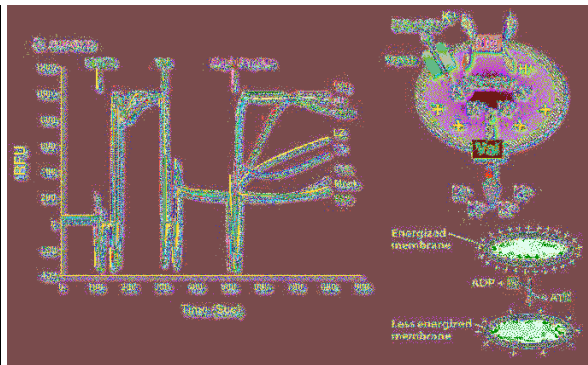


Fig. 10 Dissipation of *S. aureus* Membrane Potential (Respiration) by hLZprmp Peptides.

結論

生体防御という観点からは、ヒトリゾチームの抗菌性ペプチドの発現ができれば、生体防御の強化が可能な食品や、消化器系などの傷害の治療に有効な医薬品の開発が可能になるものと考えられ、非常に有用である。しかし、このような観点からの検討はまだ行われていないのが現状である。また、ヒトリゾチームによる免疫賦活に関しても、実用に向けた検討が十分に為されているとは言えない。本研究により、ヒトリゾチームに新規な抗菌剤として期待される抗菌ペプチドが含まれることが明らかになった。ヒトリゾチームの5つ抗菌性ペプチドの全てがグラム陽性菌、グラム陰性菌および酵母のカンヂダに対して強力な抗菌活性を示した。その中でもHLHとH1が最も強い抗菌活性を示した。さらに細菌の外膜及び内膜に対するhLZprmpの相互作用を調べた結果、これらの抗菌ペプチドは細菌膜に非常に小さいポアを形成することで耐性菌が抵抗性を示すことが難しいと考えられている。*Pichia pastoris*におけるヒトリゾチーム抗菌ペプチドの産生させることにより、ヒトリゾチームに由来する新規な実用的抗菌剤を効率よく得る方法を開発できることが期待される。特に、これらの新規抗菌ペプチドを摂取したり投与したりすることによって、潜在的な微生物病原体、例えば、カビのカンヂダ、グラム陽性細菌又はグラム陰性細菌等に起因する感染症又は消化器系炎症等の予防や治療を行うことが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

- (1) Md. Imranul Hoq; T Aoki; Ibrahim H.R., "Triclosan-Lysozyme Complex: A Promising Anti-microbial Macromolecule Stable against Photooxidative Damage" *Food Res. Intl.* 42, 298–306 (2009). 査読の有
- (2) Hayashi, Y., Nagano, S., Enomoto, H., Li, C.P., Sugimoto, Y., H., Ibrahim H.R., Hatta, H., Takeda, C., Aoki, T. "Improvement of Foaming property of Egg White Protein by Phosphorylation through Dry-heating in the Presence of Pyrophosphate" *Food Chemistry*, 74 (1), C68-C72 (2009). 査読の有
- (3) Hoq, M.I.; Mitsuno, K.; Tsujino, Y.; Aoki, T.; Ibrahim, H.R. * "Triclosan-lysozyme complex as novel antimicrobial

- macromolecule: a new potential of lysozyme as phenolic drug-targeting molecule” *Intl. J. Biol. Macromol.*, 42 (5), 468-477 (2008). 査読の有
- (4) Hayashi, Y., Li, C.P., Enomoto, H., Ibrahim H.R., Sugimoto, Y., Aoki, T. ”Improvement of Functional properties of Ovotransferrin by Phosphorylation through Dry-heating in the Presence of Pyrophosphate” *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 21 (4), 596-602 (2008). 査読の有
- (5) Ibrahim H.R. “A New Potential for Anti-Infection Therapy” *INFORM*, 19 (3), 189-192 (2008). 査読の有
- (6) イブラヒム ヒッサム “卵白オボトランスフェリンの機能性”. *FOODStyle*21,12 (9) 34-36 (2008). 査読の有
- (7) Ibrahim H.R.; Hoq, M.I.; Aoki, T. “Ovotransferrin Possesses SOD-like Superoxide Anion Scavenging Activity that is Promoted by Copper and Manganese Binding” *Intl. J. Biol. Macromol.*, 41 (5), 631-640 (2007). 査読の有
- (8) Abdou, A.M., Higashiguchi, S., Aboueleinin, A.M., Kim, M. and Ibrahim H.R. ”Antimicrobial peptides derived from hen egg lysozyme with inhibitory effect against *Bacillus* species” *Food Control*, 18, 173-178 (2007). 査読の有
- (9) El-waziry, A.M. and Ibrahim H.R. “Effect Of *Saccharomyces cerevisiae* on Cell Wall Constituents Digestion in Sheep Fed Berseem (*Trifolium alexandrinum*) Hay and Cellulase Activity” *Australian Journal of Basic and Applied Sciences.*, 1(4), 379-385 (2007). 査読の有
- (10) Ibrahim H.R.; Haraguchi, T.; Aoki, T. “Ovotransferrin is a Redox-dependent Autoprocessing Protein Incorporating Four Consensus Self-cleaving Motifs Flanking the Two Kringles” *Biochim. Biophys. Acta*, 1760 (3), 347-355 (2006). 査読の有

〔学会発表〕(計 9 件)

- (1) 第100回 AOCsのBioactive Peptides in Human Health and Diseases国際シンポジウム 2009年 5月5日 (国際、Orlando, USA). Hisham Ibrahim “Squeezing New Therapeutic Peptides Out of Egg Albumin”
- (2) 第237回 ACSのBiopeptides Disease Risk Reduction” 国際シンポジウム 2009年 3月23日 (国際、Salt Lake, USA). Hisham Ibrahim “Multiplex Biopeptides of C-type Lysozymes: Emerging Therapeutic Potential”
- (3) 日本農芸化学会—2009年度大会 (3月28日) (国内、福岡市). Hisham Ibrahim, 今里憲太 “ヒトリゾチーム由来抗菌ペプチドの発見”
- (4) 日本農芸化学会—2009年度大会 (3月28日) (国内、福岡市). Hisham Ibrahim, イムラヌル ホク “リゾチームとトリクロサンの相互作用とその抗菌活性及び抗酸化機能”
- (5) 日本農芸化学会—2009年度大会 (3月28

- 日) (国内、福岡市). Hisham Ibrahim, 中野 彰宣 “体内消化シミュレーションによる卵白の機能性ペプチドの解明”
- (6) 日本農芸化学会—2009年度大会 (3月28日) (国内、福岡市). Hisham Ibrahim, 藤岡 観 “サツマイモ発酵に共存する新規プロバイオティクスの抗菌および抗酸化機能の解明”
- (7) 第99回AOCsのAdvances and Challenges toward Health Benefits of Proteins 国際シンポジウム 2008年5月21日 (国際、Seattle, USA). Hisham Ibrahim “Discovery of Functional Secrets of Hen’s Egg Ovotransferrin: A New Potential for Human Health”
- (8) 第98回 AOCsのタンパク質およびその生成物質 国際シンポジウム 2007年5月14日 (国際、Quebec, Canada). Hisham Ibrahim “Strategy for Novel Anti-infection and Anti-oxidant Polyphenols-protein Complex: An example with Lysozyme”
- (9) 第3回食品蛋白質 シンポジウム 2006年8月19日 (国内、山口市). Hisham Ibrahim “オボトランスフェリンの機能ミステリーの解明: ヒト治療のために”

○出願状況 (計 1 件)

名称: リゾチームおよびトリクロサンの新規抗菌剤の製造方法
 発明者: ヒッサムラドワン イブラヒム
 権利者: 株式会社マンダム
 種類: 特許
 番号: 特願平2008-265089
 提出日: 平成20年9月10日
 取得年月日: 中
 国内外の別: 日本国

○取得状況 (計 1 件)

名称: 抗菌組成物、その製造方法及び該抗菌組成物を含有する抗菌剤
 発明者: ヒッサムラドワン イブラヒム
 権利者: 株式会社ファーマフーズ
 種類: 特許
 番号: JP 4221231
 取得年月日: 2008. 11. 21
 国内外の別: 日本国

〔その他〕

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
 イブラヒム ヒッサムラドワン
 (IBRAHIM HISHAM RADWAN)
 鹿児島大学・農学部・准教授
 研究者番号: 90274836
- (2) 研究分担者
- (3) 連携研究者