

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：34315

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05775

研究課題名(和文) 酵素学の観点からのケモエンザイマティック反応によるアミノ酸やペプチド合成法の開発

研究課題名(英文) Development of chemoenzymatic synthesis of amino acids and derivatives based on enzyme engineering

研究代表者

松井 大亮 (Matsui, Daisuke)

立命館大学・生命科学部・助教

研究者番号：40748513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：創薬分野において非天然アミノ酸や特殊ペプチドの合成は重要な基盤技術であり、特に多品種合成や大量生産の技術が求められている。本研究では、有機合成が困難なケト酸を、アミノ酸から酵素を用いて安価に合成し、次いでケト酸とヒドロキシルアミン誘導体を、化学反応剤非存在下で縮合させる新技術で、アミノ酸やペプチドを合成した。本技術は多品種を合成するパラレル合成や、固定化酵素を用いて大量生産に利用できるフロー合成の要素を取り入れており、様々なアミノ酸やペプチド合成の大量生産の有用な合成技術となりうる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

1. ケモエンザイマティック反応による非天然アミノ酸や特殊ペプチド合成:有機合成ではなくアミノ酸酸化酵素を用いた酵素反応で、迅速(一段階反応)・簡便(保護や脱保護が不必要)・有毒な試薬を使用せず合成するケモエンザイマティック反応自体に新規性があり、今後のペプチド医薬品開発に貢献できた。
2. 酵素学の観点からのケモエンザイマティック反応の改良:本研究では新技術を確立した後に、自然界から得た酵素や変異導入酵素をあてはめ、ケモエンザイマティック反応で新しい酵素反応を探索した。これにより従来の酵素探索から応用までの間に起こりうる問題を回避することができ、産業用酵素の開発の時間短縮につながった。

研究成果の概要(英文)：Synthesis of unnatural amino acids and peptides is an important technology in the field of drug discovery, especially for multi-product synthesis and mass production. In this study, keto acids, which are difficult to synthesize organically, were synthesized from amino acids using enzymes, followed by the condensation of keto acids with hydroxylamine derivatives in the absence of chemical reactants to produce amino acids and peptides. This technology incorporates elements of parallel synthesis for synthesizing multiple products and flow synthesis that can be used for mass production using immobilized enzymes, and could be a useful synthetic technology for mass production of various amino acid and peptide syntheses.

研究分野：応用微生物学

キーワード：アミノ酸酸化酵素 ケト酸 アミド化合物

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年抗体医薬品に代わる創薬ターゲットとしてペプチド医薬品が注目されている。そのリード化合物の探索において、非天然アミノ酸や特殊ペプチドの多品種合成や大量生産が課題となっている。これまでも様々な合成技術が確立されてきたが、反応が煩雑な点や生成物が制限されている点など改良が必要なものが多い。その技術の中で、ボーディらが開発したペプチド合成法は、いずれもケト酸から一段階で目的物質を合成できる魅力的な反応である。また極端な加熱も必要ではなく、水の混入でも影響がないといった穏やかな条件での反応であり、現行の技術革新につながると考えられる(図1)。しかし、その出発物質となるケト酸の合成手法である。現行の有機合成によるケト酸の合成は、ハロゲン化アルケンをグリニャール試薬でカルボン酸に変換し、オゾンなどで酸化する方法があるが、入手可能なアルケンでない限り合成が難しく、危険な反応も多く、また副反応の問題があるため、簡便で穏やかな新たなケト酸合成法が必要である。

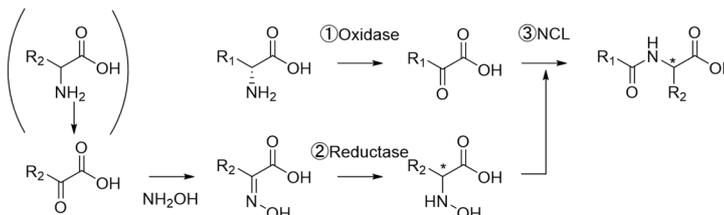


図1. 酵素反応と有機合成によるアミド化合物の合成

2. 研究の目的

本研究では、ボーディが開発したアミノ酸やペプチド合成の中間体であるケト酸を、有機合成ではなくアミノ酸化酵素及び脱水素酵素を用いた酵素反応で、迅速(一段階反応)・簡便(保護や脱保護が不必要)・有毒な試薬を使用せず合成する。申請者はこれまでに様々な関連酵素に関する研究を実施しており、見出した酵素を使用してケト酸を合成することが可能である。その酵素反応で生成したケト酸を連続的に有機合成でアミノ酸やペプチドに変換する技術を確認する(図1)。このケモエンザイマティック反応によるアミノ酸及びペプチド合成自体に新規性があり、今後のペプチド医薬品開発に貢献できる。

3. 研究の方法

【酵素反応】発現プラスミド pUC もしくは pET に挿入された *Pseudomonas* sp. TPU 7192 由来 L-アルギニン酸化酵素や *Pseudomonas* sp. AIU 813 由来 L-アミノ酸化酵素、豚腎臓由来 D-アミノ酸(低基質特異性)酸化酵素、*Nostoc punctiforme* ATCC 29133 由来 L-トリプトファン脱水素酵素、*Bacillus* 由来 L-フェニルアラニン脱水素酵素などの遺伝子を大腸菌発現株 JM109 もしくは BL21(DE3) 株に挿入し、各々の遺伝子を発現させた。精製酵素を透析後、対応する基質と反応させ酸化反応を行い、その生成物を高速液体クロマトグラフィー-質量分析機(LCMS)でケト酸の生成を確認した。酸化酵素の場合、発生する過酸化水素が問題となるため、市販のカタラーゼも混合し反応条件を検討した。

【有機合成】上記で得たケト酸(5-グアニジノ-2-オキソペンタン酸、6-アミノ-2-オキソヘキサン酸、2-オキソ-3-フェニルプロパン酸、インドールピルビン酸など)に、ブチルポロン酸やシクロヘキシルポロン酸といった入手可能なポロン酸誘導体、ベンジルアミンや 2-アダマンタンアミンをエタノール中などで混合し、各種アミノ酸の合成条件を検討した。生成物は LCMS で分析するとともに、ニンヒドリンで比色定量を行った。また、ケト酸に各種ヒドロキシルアミンをジメチルホルムアミド中などで混合し(ボーディペプチド合成)、各種ペプチドの合成条件を検討した。その際、適宜アルケニルポロン酸やアミンなどのビルディングブロック、生成物の標準品を合成し、一次元及び二次元核磁気共鳴(NMR)、旋光分散及び円二色性(CD)により構造解析を行った。水層と有機層間で低分子だけの移動ができるポリジメチルシロキサン膜を用いて反応し、フロー合成のモデルを作製した。さらに、本技術で一度に多品種を合成するパラレル合成について検討した。作製した化合物ライブラリーを用いて、ヒトがん細胞株に対する細胞増殖抑制活性試験などの生理活性試験を適宜実施した。

4. 研究成果

【酵素反応】大腸菌異種発現系の各種アミノ酸化酵素・脱水素酵素を調製し、酸化酵素活性を確認した。非天然アミノ酸である 2, 3-diaminopropanoic acid 誘導体を基質とし酵素反応を調べた結果、豚腎臓由来 D-アミノ酸化酵素(pkDAO)だけが酸化反応を触媒することを明らかにした。pkDAO よりも広い基質特異性を示す酵素を取得するために、2, 3-diamino propanoic acid 誘導体を唯一の窒素源とした培地で酵素スクリーニングを行った結果、pkDAO よりも広い基質特

異性を示す酵素活性を有する 25 株の微生物の単離に成功した。D-フェニルアラニンからケト酸生産の条件検討をした結果、最も収率の高い条件で 97%であった(図2)。

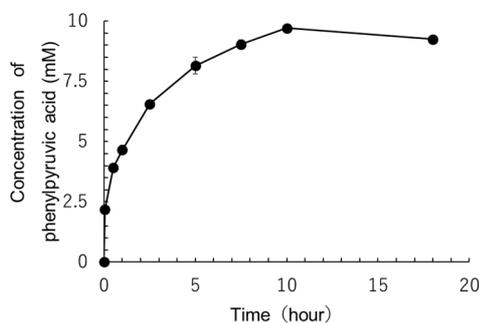


図2. pkDAOを用いたケト酸の合成

また、L-アミノ酸からケト酸を生成するために、前年度取得したL-アミノ酸酸化酵素活性を示す微生物(糸状菌)の粗酵素液を用いて、部分精製を行い、特性解明を実施した。その酵素液を用いてケト酸合成を行った結果、20%程度の収率であった。収率を高めるために、糸状菌を含む様々なL-アミノ酸酸化酵素遺伝子を合成し、それらで基質転換した大腸菌を培養したが、高いアミノ酸酸化酵素活性を見出すことが出来なかった。

Pseudomonas putida 由来低基質特異性アミノ酸ラセマーゼ遺伝子の大腸菌発現系を構築した。次いで、豚腎臓由来pkDAOをカップリングさせることで、L-アミノ酸からD-アミノ酸を介して、ケト酸を合成することに成功し、その収率は80%以上であった。イミン還元酵素活性を指標として、土壌から還元酵素活性を探索した結果、20株以上の微生物を得た。高速液体クロマトグラフィーで立体選択性を調べ、R選択的な酵素活性を示す微生物5株、S選択的な酵素活性を示す微生物5株を選抜し、いずれもアルドキシムからヒドロキシルアミンへの変換能を有することを確認した。上記1同様に、遺伝子解析の結果、いずれも放線菌であることが明らかとなった。データベースに登録されているイミン還元酵素の配列を用いて系統樹解析を行い、配列が異なる配列13種類を選抜し、それぞれの遺伝子の大腸菌発現系を構築した。その酵素を用いてアルドキシムの還元酵素活性を調べた結果、4種類から還元酵素活性を見出し、アルドキシムからヒドロキシルアミノ酸の合成に成功した(図3)。

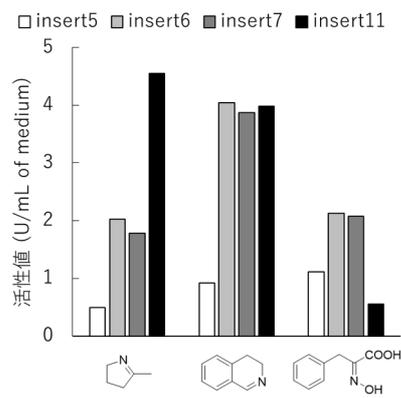


図3. 還元酵素の活性比較

【有機合成】 同一系内での連続したペプチド合成を目的に、基質として必要な2,3-diamino-propanoic acid誘導体の効率的合成を行った。基質の一つである2,3-diamino-3-phenylpropanoic acidを4段階の合成反応でラセミ体混合物としてグラムスケールで合成に成功した。ヒドロキシルアミンおよびアミノ酸は、フェニルピルビン酸、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸、3-(1H-インドール-3-イル)-2-オキソプロパン酸にヒドロキシルアミンを付加した後に、還元することで、最終的に73、52、65%の収率でヒドロキシルアミン体を得た。フェニルピルビン酸とN-ヒドロキシルフェニルアラニンとの反応条件を検討した結果、50度で24時間後に最も高い収率(82%)でN-ベンジル-2-フェニルアセトアミドを得た。また、フェニルピルビン酸と各種ヒドロキシルアミンとの縮合反応について検討した結果、ベンジルヒドロキシルアミンが最も反応性が高いことを明らかにした。また各種ヒドロキシルアミノ酸との反応においてもN-ヒドロキシルフェニルアラニンとの反応性が高いことを明らかにした。pkDAOとネイティブケミカルライゲーションによるアミド化合物の合成法を用いた多品種合成で、96穴プレート上でアミド化合物のライブラリーを確立した。得られたアミド化合物ライブラリーを用いて、ヒストン脱アセチル化酵素Iの阻害活性の迅速なスクリーニングを実施した(図4)。

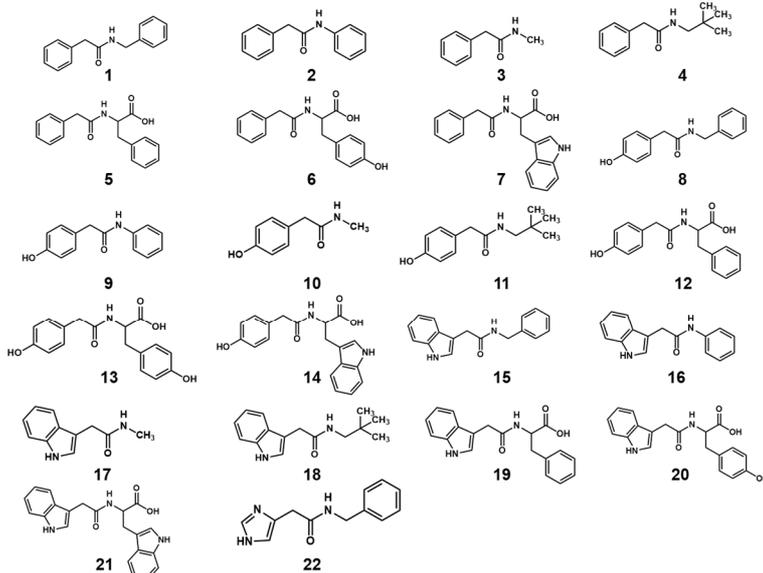


図4. ワンボット合成による様々なアミド化合物の合成

<引用文献>

Matsui D, Asano Y. Creation of thermostable L-tryptophan dehydrogenase by protein engineering and its application for L-tryptophan quantification. *Analytical*

Biochemistry, **579**, 57-63, 2019

Isobe K, Matsui D, Asano Y. Comparative review of the recent enzymatic methods used for selective assay of L-lysine. *Analytical Biochemistry*, **584**, 113335, 2019

Trisrivirat D, Lawan N, Chenprakhon P, Matsui D, Asano Y, Chaiyen P. Mechanistic insights the duo activities in a single active site of L-lysine oxidase/monooxygenase. *Journal of Biological Chemistry*, **295**(32), 11246-11261, 2020.

Itoh T, Panti N, Hayashi J, Toyotake Y, Matsui D, Yano S, Wakayama M, Hibi T. Crystal structure of the catalytic unit of thermostable GH87 -1,3-glucanase from *Streptomyces thermodiastaticus* strain HF3-3, *Biochemical and Biophysical Research*

Matsui D, Okayama Y, Yamamoto Y, Miyauchi Y, Zhai Z, Asano Y. Identification of L-histidine oxidase activity in *Achromobacter* sp. TPU 5009 for L-histidine determination. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **131**(5), 469-474, 2021

Matsui D*, Hirata Y, Iwakawa A, Toyotake Y, Wakayama M, Asano Y, Combination of enzymatic oxidation of amino acid and native chemical ligation with hydroxylamine for amide formation toward a one-pot process. *Chemistry Letters*, **50**, 1632~1634, 2021

Oike K, Sproß J, Matsui D, Asano Y, Gröger H, Protein engineering of the aldoxime dehydratase from *Bacillus* sp. OxdB-1 based on a rational sequence alignment approach. *Scientific Reports*, **11**, 14316, 2021

Sugiura S, Nakano S, Niwa M, Hasebe F, Matsui D, Ito S. Catalytic mechanism of ancestral L-lysine oxidase assigned by sequence data mining. *Journal of Biological Chemistry*, **297**, 101043-101043, 2021

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Matsui Daisuke, Hirata Yoshiyuki, Iwakawa Akihisa, Toyotake Yosuke, Wakayama Mamoru, Asano Yasuhisa	4. 巻 50
2. 論文標題 Combination of Enzymatic Oxidation of Amino Acid and Native Chemical Ligation with Hydroxylamine for Amide Formation toward a One-pot Process	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1632 ~ 1634
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.210286	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Oike Keiko, Sprob Jens, Matsui Daisuke, Asano Yasuhisa, Groeger Harald	4. 巻 11
2. 論文標題 Protein engineering of the aldoxime dehydratase from Bacillus sp. OxB-1 based on a rational sequence alignment approach	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-92749-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Sugiura Sayaka, Nakano Shogo, Niwa Masazumi, Hasebe Fumihito, Matsui Daisuke, Ito Sohei	4. 巻 297
2. 論文標題 Catalytic mechanism of ancestral L-lysine oxidase assigned by sequence data mining	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 101043 ~ 101043
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.101043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Trisrivirat Duangthip, Lawan Narin, Chenprakhon Pirom, Matsui Daisuke, Asano Yasuhisa, Chaiyen Pimchai	4. 巻 295
2. 論文標題 Mechanistic insights into the dual activities of the single active site of l-lysine oxidase/monooxygenase from Pseudomonas sp. AIU 813	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 11246 ~ 11261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA120.014055	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Itoh Takafumi, Panti Niphawan, Hayashi Junji, Toyotake Yosuke, Matsui Daisuke, Yano Shigekazu, Wakayama Mamoru, Hibi Takao	4. 巻 533
2. 論文標題 Crystal structure of the catalytic unit of thermostable GH87 α -1,3-glucanase from <i>Streptomyces thermodiastaticus</i> strain HF3-3	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1170 ~ 1176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.09.133	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsui Daisuke, Okayama Yusuke, Yamamoto Yoshiki, Miyauchi Yuna, Zhai Zhenyu, Asano Yasuhisa	4. 巻 -
2. 論文標題 Identification of l-histidine oxidase activity in <i>Achromobacter</i> sp. TPU 5009 for l-histidine determination	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2020.12.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchiyama Hiromasa, Wada Yuhei, Hatanaka Yuta, Hirata Yoshiyuki, Taniguchi Masahiko, Kadota Kazunori, Tozuka Yuichi	4. 巻 108
2. 論文標題 Solubility and Permeability Improvement of Quercetin by an Interaction Between α -Glucosyl Stevia Nanoaggregates and Hydrophilic Polymer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 2033 ~ 2040
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2019.01.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsui Daisuke, Asano Yasuhisa	4. 巻 579
2. 論文標題 Creation of thermostable l-tryptophan dehydrogenase by protein engineering and its application for l-tryptophan quantification	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 57 ~ 63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2019.05.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Isobe Kimiyasu, Matsui Daisuke, Asano Yasuhisa	4. 巻 584
2. 論文標題 Comparative review of the recent enzymatic methods used for selective assay of l-lysine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 113335 ~ 113335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2019.06.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 鈴木皓大, 榊原一紀, 中村正樹, 篠田優, 松井大亮, 浅野泰久
2. 発表標題 機械学習を用いたアミノ酸構造情報に基づくタンパク質の可溶性予測
3. 学会等名 2021年度電気・情報関係学会北陸支部連合大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩川晃久, 平田佳之, 豊竹洋佑, 若山守, 松井大亮
2. 発表標題 D-アミノ酸化酵素により調製したケト酸とヒドロキシルアミンとの縮合によるアミド化合物の合成
3. 学会等名 日本農芸化学会 2021年度 西日本・中四国・関西支部 合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小笹彰宏, 池添浩輝, 松井大亮, 豊竹洋佑, 日比隆雄, 伊藤貴文, 若山守
2. 発表標題 Pseudomonas nitroreducens 由来 -グルタミルトランスペプチダーゼの活性部位を構成する芳香族アミノ酸残基の役割解明
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平田佳之, 上里新一, 松井大亮
2. 発表標題 芳香族アミド化合物のOne-pot chemoenzymatic 合成法を利用した簡便ヒストン脱アセチル化酵素1阻害剤スクリーニング法の開発
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉浦紗也加, 中野祥吾, 丹羽正純, 長谷部文人, 松井大亮, 伊藤創平
2. 発表標題 新規L-リジン- α -オキシダーゼの同定と反応機構の解明
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松井大亮, 村木則文, Ke Chen, 森智也, Aaron Ingram, 大池敬子, Harald Groeger, 青野重利, 浅野泰久
2. 発表標題 Bacillus sp. OxB-1 由来アルドキシム脱水酵素の結晶構造解析: 結晶化に適した表面に位置するアミノ酸残基の重要性
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村木則文, 松井大亮, 浅野泰久, 青野重利
2. 発表標題 Bacillus sp. OxB-1由来アルドキシム脱水酵素の結晶構造解析
3. 学会等名 令和3年度日本結晶学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sakakibara K, Nakamura M, Matsui D, Shinoda S, Asano Y
2. 発表標題 Prediction of Solubility Mechanism of Proteins by Machine Learning Techniques
3. 学会等名 The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松井大亮, 山村義弥, 鈴木皓大, 北條佑斗, 篠田優, 中村正樹, 榎原一紀, 浅野泰久
2. 発表標題 機械学習による高度好熱菌由来タンパク質遺伝子の腸菌発現情報から得た可溶性発現予測法の開発
3. 学会等名 日本農芸化学会 2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松井大亮
2. 発表標題 L-アミノ酸代謝関連酵素の産業利用技術に関する研究
3. 学会等名 日本農芸化学会 2022年度大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松井大亮、平田佳之、岩川晃久、若林香菜子、久保梓、豊竹洋佑、若山守、浅野泰久
2. 発表標題 ケト酸を介したアミド化合物のケモエンザイマティック合成
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平田 佳之、上山 浩世、平柳 実穂、根上 朋子、磯野 悠也、佐々木 勉、上里 新一、芝野 真喜雄、谷口 雅彦
2. 発表標題 ピンロウジ (Areca catechu)アルカロイドのSIRT1阻害活性
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村 耕介、平田 佳之、光高 蓉平、佐々木 勉、長岡 康夫、上里 新一、芝野 真喜雄、谷口 雅彦
2. 発表標題 ニガキ由来アルカロイドpicrasidine L のヒト神経芽腫細胞株 SHSY5Y に対するオートファジー誘導効果
3. 学会等名 日本生薬学会第66回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平田 佳之、佐々木 勉、長岡 康夫、上里 新一、芝野 真喜雄、谷口 雅彦
2. 発表標題 ケミカルブルダウン法を用いたピンロウジアルカロイドの神経突起成長関連タンパク質の探索
3. 学会等名 第69回 日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松井 大亮、板倉 葵、浅野 泰久
2. 発表標題 ヒドロキシニトリルリアーゼによる立体選択的なアミノニトリル合成
3. 学会等名 酵素・補酵素研究会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Daisuke Matsui, Norifumi Muraki, Chen Ke, Tomoya Mori, Shigetoshi Aono, and Yasuhisa Asano
2. 発表標題 Crystal screening of aldoxime dehydratase from Bacillus sp. OxdB-1 for structural analysis
3. 学会等名 1st JGS workshop (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松井大亮、村木則文、Chen Ke、森智也、青野重利、浅野泰久
2. 発表標題 結晶化が困難なアルドキシム脱水酵素の変異導入による結晶構造解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	平田 佳之 (Hirata Yoshiyuki) (00745854)	大阪薬科大学・薬学部・助教 (34413)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------