

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22201

研究課題名(和文) 新規な銅含有酸素添加酵素の精密モデル化とそれを用いた多糖類の酸化的分解反応

研究課題名(英文) Active Site Model of Novel Copper Monooxygenase and Application to Oxidative Degradation of polysaccharides

研究代表者

伊東 忍 (Itoh, Shinobu)

大阪大学・工学研究科・教授

研究者番号：30184659

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：バイオマスの有効利用と言う観点から、新しく発見されたPolysaccharide Monooxygenase (PMO) が発見され注目されている。この酵素は活性中心に、ヒスチジン由来のイミダゾール基が二つと、ペプチドN-末端のアミノ基が配位した三配位構造(Histidine brace)を有し、分子状酸素を用いてセルロースの-1,4-グリコシド結合を酸化的に切断する。しかし反応機構の詳細は不明である。本研究では、PMO活性中心の精密なモデルを設計・合成し、Histidine brace構造の重要性や反応機構の詳細を明らかにし、それを用いた多糖類や不活性アルカンの触媒的酸化反応を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

銅錯体による分子状酸素の活性化は、錯体化学、触媒化学、生物無機化学などの分野における重要な研究課題である。これまでに、一連の二核銅-活性酸素錯体が合成され、構造、分光学的特性、反応性などが明らかにされてきたが、単核銅活性酸素錯体に関する研究は遅れている。本研究では、新しい単核銅含有モノオキシゲナーゼ活性中心の構造と機能に着目し、その精密モデル化と、それを用いた多糖類および不活性アルカンの触媒的酸化反応を開発した。本研究の成果は、単核銅中心における分子状酸素の活性化機構の解明に繋がるのみならず、新しいバイオ燃料合成のための触媒技術開発に対して重要な情報を提供するものとして、その意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Polysaccharide monooxygenase (PMO), a newly discovered copper-containing monooxygenase, has been attracting much recent attention from the viewpoint of effective biomass utilization. A characteristic structural unit found in the active sites of PMOs consists of an amino group and a side chain of the N-terminal histidine with a side chain of a second histidine to create a T-shaped N₃ geometry, so-called Histidine Brace, where oxidative cleavage of the -1,4-glycosidic bond of cellulose takes place using molecular oxygen as the oxidant. However, mechanistic details of the enzymatic reaction have yet to be clarified. In this study, we designed and synthesized model complexes of the PMO active center to clarify the importance of the Histidine Brace structural motif and the details of the reaction mechanism and developed efficient catalytic oxidation reactions of polysaccharides as well as inert alkanes.

研究分野：生物無機化学

キーワード：単核銅含有銅モノオキシゲナーゼ 多糖類の酸化的分解反応 酵素活性中心モデル錯体 分子状酸素の活性化 反応機構 不活性アルカンの酸化

1. 研究開始当初の背景

リグノセルロース (Lignocellulose) とは、植物性の乾燥物 (Biomass) を意味し、リグノセルロース系バイオマス (Lignocellulosic Biomass) と呼ばれている。これは、バイオ燃料 (バイオエタノール) の原料として地球上に最も豊富に存在する原材料であり、主に、セルロースやヘミセルロースと芳香族系の高分子 (リグニン) で構成されている。リグノセルロース系バイオマスは、再生可能エネルギーの原料としてのみならず、化学製品の材料としても大きな可能性を秘めている。例えば、米国において、現在の石油使用量の約 30% が近い将来バイオマスに置き換えられると推定されている。このような観点から、セルロースなどの多糖類の効率的な分解方法の開発が急務となっている。

最近になって、種々の多糖類を酸化的に分解する新しい銅含有モノオキシゲナーゼ (Polysaccharide Monooxygenase; **PMO**) が発見され注目されている。この酵素は、分子量が 2 万程度の小さな酵素である。酵素の表面に剥き出しになった単核の銅活性中心が存在し、ここで分子状酸素 (O_2) が活性化され、セルロースの β -1,4-グリコシド結合が酸化的に切断され、分解される (**Figure 1, Scheme 1**)。銅の配位環境は至って単純であり、ヒスチジン由来のイミダゾール基が二つと、*N*-末端のアミノ基が配位した三配位構造となっている (Histidine brace と呼ばれている)。また、その近傍にはチロシンのフェノール基やフェニルアラニンのフェニル基が存在する。さらに、*N*-末端のイミダゾール基の窒素がメチル化されているものも存在する (**Figure 1**)。

反応機構の詳細は不明であるが、単核の銅中心上で分子状酸素が還元的に活性化されて生じる銅(II)-スーパーオキシ種や銅(II)-オキシラジカル種の可能性が計算化学などの結果から示唆されている (**Scheme 1**)。このようにして生成した銅-活性酸素種が 1,4-グリコシド結合の炭素から水素を引き抜いて水酸化反応が進行すると考えられている。

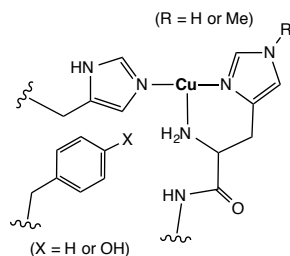
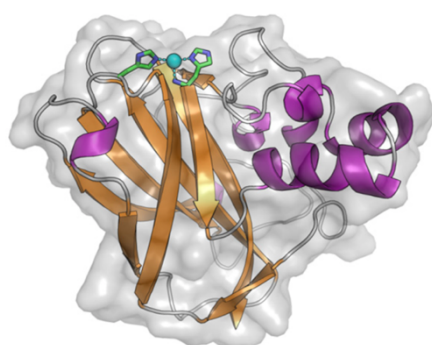
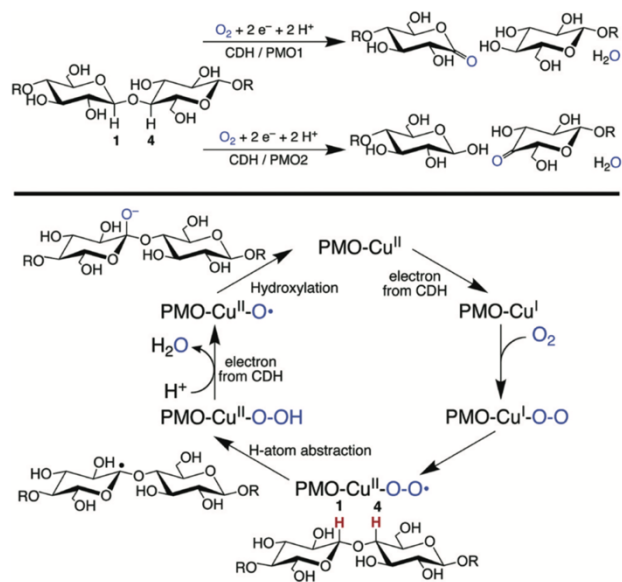


Figure 1. PMO およびその活性中心の構造



Scheme 1. 推定反応機構

2. 研究の目的

本研究では、**PMO** の反応機構解明をめざして、モデル錯体を用いた酸化活性種の創出と同定を行い、それを触媒として用いた多糖類の酸化的分解反応系の開発を目的とし、次の様な項目について検討を行った。

申請者らはこれまでに、遷移金属錯体による小分子の活性化と触媒反応への応用に関する研究を展開してきた。特に、銅錯体を用いた分子状酸素の活性化に関しては、各種活性酸素錯体の同定と反応性の解明を行い、この分野の研究を世界的にリードしてきた (*Acc. Chem. Res.*, **40** (7), 592–600 (2007); *Acc. Chem. Res.*, **48** (7), 2066–2074 (2015); *Copper-Oxygen Chemistry*, K. D. Karlin and S. Itoh, Eds. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2011)。

3. 研究の方法

研究目的を達成するために、本研究では、これまでに培ってきた有機合成化学、錯体化学、物理化学をベースとしたモデル化学的研究を推進した。

- (1) **PMO**の活性中心を正確に模倣した新規配位子(Histidine brace 配位子)および、その銅錯体の合成、ならびに構造決定。
- (2) 銅(II)錯体と過酸化物(過酸化水素など)との反応による活性酸素錯体の創成と、構造および分光学的特性の評価。特に、銅イオンの対面に位置する2つのイミダゾール基のなす二面角と活性酸素錯体の反応性との相関関係を解明。
- (3) 活性酸素錯体とモデル基質との反応挙動および反応機構の解明。
- (4) **PMO**研究の第一人者である、Paul H. Walton教授(英国、York大学)と密に連絡をとり、モデル錯体の構造と物理化学的特性の解明、および反応機構の考察。

4. 研究成果

PMOは既に様々な種類が同定されており、その幾何学的性質や物性について精力的に研究されてきた。**PMO**の活性部位に見られる特徴的な構造単位は、ペプチドN末端のヒスチジン側鎖のイミダゾール基とその末端アミノ基、およびもう一つのヒスチジン側鎖イミダゾール基からなり、銅中心はT字型の構造をとっており、これはHistidine Braceと呼ばれている(**Figure 2**)。このHistidine Braceの注目すべき特徴は、トランス位にある二つのヒスチジンイミダゾール環のねじれ角が約70°であることである。このような大きなねじれ角は、トランス位に2つの複素環ドナー基を持つ多くの類似した銅(II)錯体のねじれ角(通常30°以下)とは大きくことなっている。

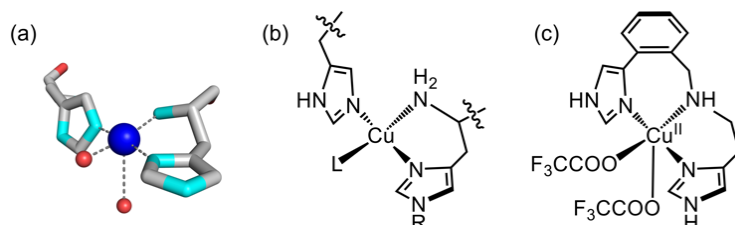


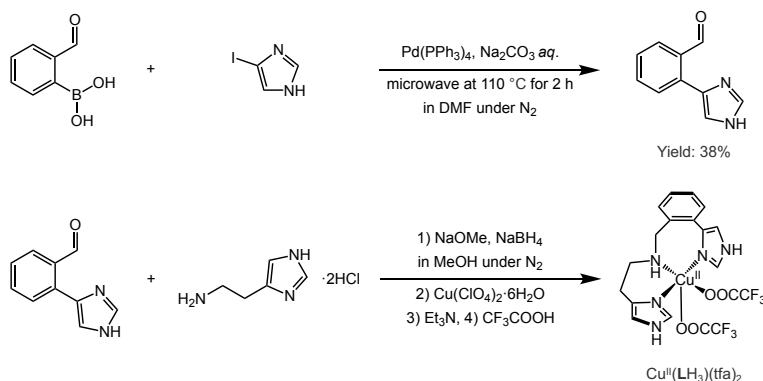
Figure 2. PMO 活性中心の構造と今回合成したモデル錯体の構造

一方、微粒子メタンモノオキシゲナーゼ(**pMMO**)は、天然ガスの主成分であるメタンからメタノールを選択的に生産する酵素として知られているが、その活性部位にも、Histidine Brace様の配位環境を持つ単核銅活性部位が存在することが明らかにされている。多糖類やメタンの不活性なC-H結合の酸化を触媒する**PMO**と**pMMO**の活性部位に、ヒスチジン Braceが共通の構造モチーフとして見出されたことは注目に値する。そこで、Histidine Braceの構造モチーフを模倣するために、以下のようなコンセプトで新しいリガンドを設計した。(1) トランス位に二つのイミダゾール基とアルキルアミン基を持つ三座配位子であること。(2) 結合した銅イオンがT型の配位構造をとること。(3) トランス位に位置する二つのイミダゾール基の間のねじれ角が酵素系のもと同様に約70°であること。これまでも類似の単核銅錯体が合成されてきたが、多くの場合、イミダゾールの代わりに、ピリジンなどの非天然系配位子が使用されてきた。また、トランス位に位置する二つの複素環配位基のねじれ角は、生体内のヒスチジンプレースのそれよりもはるかに小さいものであった(30°以下)。従って、Histidine Braceの構造を忠実に再現したモデル錯体はなかった。

このような背景のもと、本研究では、銅モノオキシゲナーゼの活性部位のより正確なモデル錯体を提供可能な新しい配位子 **LH₃** (N-(2-(1H-imidazol-4-yl)-benzyl)histamine) と、その銅(II)錯体

$\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ ($\text{tfa} = \text{trifluoroacetate}$) の設計と合成を行なった (Figure 2c)。

目的とする錯体は Scheme 2 に従って調製した。配位子の前駆体である 2-(1H-imidazol-4-yl)-benzaldehyde は、嫌気性条件下で DMF 中、 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ の存在下で 4-iodo-1H-imidazole と 2-formylphenyl boronic acid を反応させて合成した (Suzuki-Miyaura coupling)。次に、得られたベンズアルデヒド誘導体とヒスタミンの還元的アミノ化反応により、配位子 LH_3 を得た。 LH_3 は不安定であったので、単離せずに系中で $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ と錯形成させた。得られた青色粉末は通常の溶媒に溶けないが、これは中性または塩基性条件下では、イミダゾリル N-H 基が脱プロトン化し、隣接する銅 (II) 錯体の銅 (II) イオンに配位して不溶性の高分子構造を形成したためであると考えた。そこでこの高分子錯体をトリフルオロ酢酸で処理すると、錯体が可溶化でき、メタノールとジエチルエーテルから再結晶することで目的とする単核銅錯体 $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ の青い結晶が得られた。ESI-TOF-MS と元素分析のから錯体の組成を確認し、単結晶 X 線結晶構造解析で、構造を確定した (Figure 3)。銅中心は $\tau_5 = 0.06$ の四角錐形状を有し、基底面は配位子の三つの窒素原子 (N1, N2, N3) と単座 tfa 対アニオン (O1) の酸素原子一つで占められ、軸方向は別の tfa 対アニオン (O2) の酸素原子が配位している。



Scheme 2. 配位子および $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ の合成法

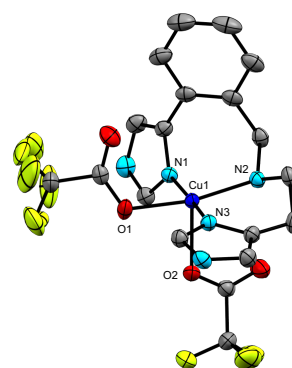


Figure 3. $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ の結晶構造

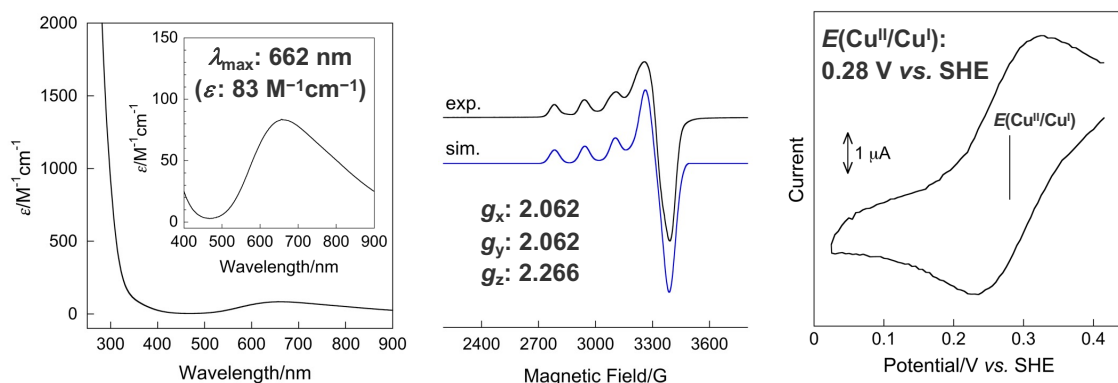


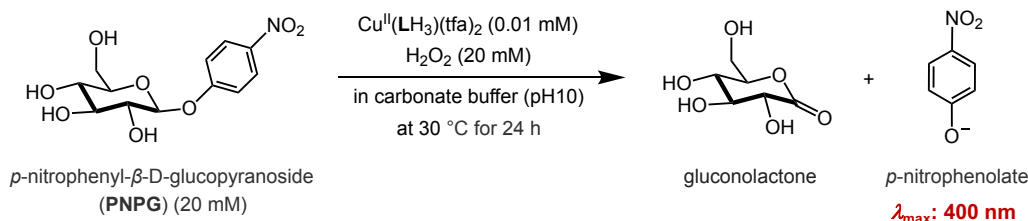
Figure 4. $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ の紫外可視吸収スペクトル、電子磁気共鳴 (EPR) スペクトル、およびサイクリックボルタモグラム

$\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ の構造を PMO の銅活性部位の構造と比較した。 $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ の二つのイミダゾール環のねじれ角が 75° であり、PMO の銅中心の平均値である 72° に非常に近いことが分かった。このことから、Histidine Brace の構造モチーフは、我々の単純なモデル系でよく再現されていることがわかる。なここの錯体は、Histidine Brace モチーフを持つ銅活性サイトの構造モデルの最初の例である。

$\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ の物理化学的特性を酵素のものと比較した (Figure 4)。 $\lambda_{\text{max}} = 662 \text{ nm}$ ($\epsilon = 83 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) の紫外可視吸収帯は、四角錐形状の銅 (II) 錯体の典型的な d-d バンドと見なせる。電子磁気共鳴 (EPR) スペクトルは正方晶銅 (II) 錯体に典型的なものであり、 $g_{\parallel} = 2.266$ と $g_{\perp} = 2.062$ は PMO の値と非常に近かった。サイクリックボルタメトリー測定では、 $\text{Cu}(\text{II})/\text{Cu}(\text{I})$ の酸化還元カップルに起因する 323 mV vs. SHE の準可逆な酸化還元波を示し、これはこれまで報告されてきた PMO の酸化還元電

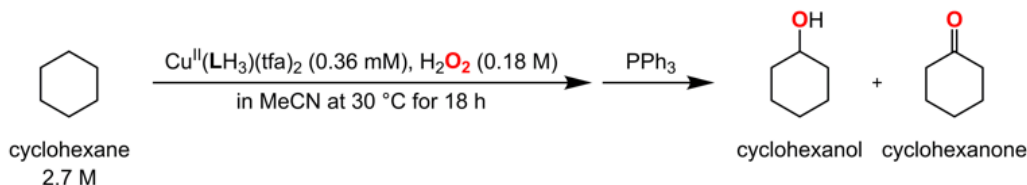
位の範囲内(155~370 mV)にあった。

多糖類のモデル基質として 4-nitrophenyl-*D*-glucopyranoside (PNPG) のグリコシド結合の酸化的開裂に対する $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ の触媒活性を、 H_2O_2 を酸化剤として用いて検討した (Scheme 3)。反応は 4-ニトロフェノレート生成物 ($\lambda_{\text{max}} = 400 \text{ nm}$) の生成を追跡することによってモニターした。生成物による 400 nm 付近の吸収帯が直線的に増加し、24 時間後には触媒の総回転数 (TON) は 58 に達し、4-ニトロフェノール酸の収率は 2.9%であった。また、HPLC と GC-MS を用いて生成物の分析を行い、それぞれ 4-nitrophenolate と *D*-allose の生成を確認した。*D*-allose は、PNPG (A) の水酸化生成物に由来する。次に、4-ニトロフェノレートの生成による 400 nm の吸収変化を追跡し、速度論的解析を行った。この結果、 $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ と H_2O_2 の反応により生成する活性種による基質の酸化反応が、触媒反応のターンオーバー律速になっていることが分かった。



Scheme 3. PMO のモデル反応

pMMO のモデル反応として、 H_2O_2 を酸化剤とするシクロヘキサン水酸化反応における $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ の触媒活性も調べた (Scheme 4)。18 時間後、触媒の TON は 26、シクロヘキサノールは酸化剤ベースで 5.2 %の収率で得られ、シクロヘキサノンに対するシクロヘキサノールの生成選択性は 96%であった。この錯体の触媒活性は他のモデル錯体と同程度であったが、錯体とアルカン基質の混和性が低いためか、それほど顕著には高くないことがわかった。



Scheme 4. $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ を触媒とするシクロヘキサンの酸化反応

以上、本研究では、Histidine Brace をモチーフにした単核銅(II)錯体を設計・合成した。合成した錯体の構造や物理化学的特性は、LPMO の活性部位のものをよく再現していた。特に、電気化学的特性は LPMO と非常によく似ており、これはトランス位にある二つのイミダゾール環の間のねじれ角が大きいことに起因していると考えられる。また、多糖類モデル化合物のグリコシド結合の酸化的開裂およびシクロヘキサンなどの不活性アルカンの選択的酸化反応において、 $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ が触媒活性を示すことを明らかにした。このように、 $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LH}_3)(\text{tfa})_2$ は、LPMO や pMMO の活性部位の構造的特徴と反応性の両方を示す精密なモデル錯体としては世界で最初の例であり注目を集めている。Histidine Brace の役割はまだ明らかにされていないが、Histidine Brace の構造モチーフを持つ我々の錯体は、酵素系と同様の特性、特に $\text{Cu}(\text{II})/\text{Cu}(\text{I})$ の比較的高い酸化還元電位を示した。銅イオンの d 軌道とイミダゾール基の p 軌道の相互作用が、このような興味深い物理化学的特性を決定するのに重要である可能性がある。現在、Histidine Brace が物理化学的性質だけでなく、モデル錯体の反応性にもどのような役割を果たすかについて、新規な配位子を設計し、その銅錯体を用いて過酸化剤と反応させ、構造-活性相関や反応機構の詳細について検討を行っている。本研究の成果は、単核銅中心における分子状酸素の活性化機構の解明に繋がるのみならず、新しいバイオ燃料合成のための触媒技術開発に対して重要な情報を提供するものとして、その意義は大きい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Nobutaka Fujieda, Kyohei Umakoshi, Yuta Ochi, Yosuke Nishikawa, Sachiko Yanagisawa, Minoru Kubo, Genji Kurisu, and Shinobu Itoh | 4. 巻 59 |
| 2. 論文標題 Copper-oxygen Dynamics in Tyrosinase Mechanism | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed. | 6. 最初と最後の頁 13385-13390 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202004733 | 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 Yuma Morimoto, Makito Kawai, Aya Nakanishi, Hideki Sugimoto, and Shinobu Itoh | 4. 巻 60 |
| 2. 論文標題 Controlling Reactivity of Copper(II) Acylperoxide Complexes | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Inorg. Chem. | 6. 最初と最後の頁 in press |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.1c00475 | 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 Arisa Fukatsu, Yuma Morimoto, Hideki Sugimoto and Shinobu Itoh* | 4. 巻 56 |
| 2. 論文標題 Modelling 'Histidine Brace' Motif in Mononuclear Copper Monooxygenases | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Chem. Commun. | 6. 最初と最後の頁 5123-5126 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0CC01392G | 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 該当する |
| 1. 著者名 Nobutaka Fujieda*, Haruna Ichihashi, Miho Yuasa, Yosuke Nishikawa, Genji Kurisu, and Shinobu Itoh* | 4. 巻 59 |
| 2. 論文標題 Cupin Variants as Macromolecular Ligand Library for Stereoselective Michael Addition of Nitroalkanes | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed. | 6. 最初と最後の頁 7717-7720 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202000129 | 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 該当する |

| | |
|--|------------------------|
| 1. 著者名 Tsukasa Abe, Yoshihito Shiota, Shinobu Itoh, and Kazunari Yoshizawa* | 4. 巻 2020 |
| 2. 論文標題 Theoretical Rationalization in the Equilibrium between (μ - 2: 2-Peroxo)CuII CuII and Bis(μ -oxido)CuIII CuIII Complexes: Effects of Distances between Nitrogen Atoms in Diamine Frameworks | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Dalton Trans. | 6. 最初と最後の頁 in press |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0DT01001D | 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 該当する |

| | |
|---|------------------------|
| 1. 著者名 Nobutaka Fujieda,* Kyohei Umakoshi, Yuta Ochi, Yosuke Nishikawa, Sachiko Yanagisawa, Minoru Kubo, Genji Kurisu, and Shinobu Itoh* | 4. 巻 59 |
| 2. 論文標題 Copper-oxygen Dynamics in Tyrosinase Mechanism | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed. | 6. 最初と最後の頁 in press |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202004733 | 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 該当する |

〔学会発表〕 計6件(うち招待講演 6件/うち国際学会 6件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shinobu Itoh |
| 2. 発表標題 Catalytic Alkane Hydroxylation by Transition-metal/Acylperoxide Systems |
| 3. 学会等名 American Chemical Society National Meeting (Spring) (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shinobu Itoh |
| 2. 発表標題 Geometric Control of Copper-Oxygen Species |
| 3. 学会等名 PacifiChem 2020 (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shinobu Itoh |
| 2. 発表標題 Oxygen Activation Mechanism by Copper Monooxygenases and Models |
| 3. 学会等名 15th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC-15) (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shinobu Itoh, Tsukasa Abe, Yuta Hori, Yoshihito Shiota, Takehiro Ohta, Yuma Morimoto, Hideki Sugimoto, Takashi Ogura, and Kazunari Yoshizawa |
| 2. 発表標題 C-C Bond Formation Reaction Catalyzed by Cupric Superoxide Complex |
| 3. 学会等名 7th Asian Conference on Coordination Chemistry (ACCC 2019) (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shinobu Itoh |
| 2. 発表標題 Phenol Oxygenation Mechanism at Dinuclear Copper Site in Tyrosinase |
| 3. 学会等名 12th China Japan Joint Symposium on Metal Cluster Compounds (CJSMCC2019) (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shinobu Itoh |
| 2. 発表標題 New Insight into The Tyrosinase Mechanism |
| 3. 学会等名 Korea-Taiwan-Japan Bioinorganic Chemistry Symposium (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計3件

| | |
|----------------------|-----------------|
| 1. 著者名 藤枝伸宇・伊東 忍 | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 エス・ティー・エヌ | 5. 総ページ数 310 |
| 3. 書名 生命金属ダイナミックス | |

| | |
|----------------------|-----------------|
| 1. 著者名 伊東 忍 | 4. 発行年 2020年 |
| 2. 出版社 化学同人 | 5. 総ページ数 200 |
| 3. 書名 CSJカレントレビュー | |

| | |
|---|------------------|
| 1. 著者名 Shinobu Itoh and Hiroshi Fujii | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 Elsevier | 5. 総ページ数 1000 |
| 3. 書名 Comprehensive Coordination Chemistry 3 | |

〔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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|