

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21310129

研究課題名（和文） プロテインキナーゼのインタラクトーム解析

研究課題名（英文） Interactome analysis of protein kinases

研究代表者

石濱 泰（ISHIHAMA YASUSHI）

京都大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：30439244

研究成果の概要（和文）：*in vivo* キナーゼ・基質ペア予測のため、HeLa 細胞抽出物を試料とした *in vitro* キナーゼ反応計測を行った。その結果、175,574 個のキナーゼ-基質ペアを同定し、303 種のキナーゼに対する、のべ 1,525 種のリン酸化モチーフを抽出することに成功した。これらの情報をもとにして、リン酸化プロテオミクス測定結果から細胞内における変動の責任キナーゼを予測するための 2 種類のツールを開発した。

研究成果の概要（英文）：We profiled recombinant human kinases by using *in vitro* kinase assay combined with quantitative phosphoproteomics approaches. As a result, 175,574 kinase-substrate relationships were obtained from the *in vitro* assay using HeLa cell lysate as the substrate source. Based on the kinase-substrate combination data, we successfully extracted a total of 1,525 phosphorylation motifs targeted by 303 kinases and classified the kinases to generate a novel phylogenetic ‘kinome’ tree based on *in vitro* substrates instead of the traditional tree based on the sequence homology of kinase domain. Finally, two approaches based on *in vitro* substrates and phosphorylation motifs were developed to predict kinases which are activated or inactivated by particular stimuli.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2010 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2011 年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	13,000,000	3,900,000	16,900,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・応用ゲノム科学

キーワード：翻訳後修飾・リン酸化プロテオーム

1. 研究開始当初の背景

タンパク質の可逆的リン酸化反応は細胞機能調節に不可欠であり、細胞内シグナル伝達ネットワークを形成する主要な因子である。プロテインキナーゼはヒトでは約 500 種が知られ、ファミリーごとに分類されている。

疾病との関わりは深く、癌治療における分子標的薬のほとんどはキナーゼを標的とした阻害剤であり、抗癌剤を用いた治療法に大きな変化をもたらしている。一方で、これらの薬剤の標的が単一であることはまれで、その作用機序は完全には明らかにされていない。

これは、細胞内シグナル伝達ネットワークが非常に複雑であるからであり、このシステムを理解するには、個々の構成分子を一つひとつ調べていくのではなく、ネットワーク全体を一度に俯瞰できる方法が必須で、リン酸化プロテオミクスはまさにこれに適した方法である。しかし、このような HAMMOC 法を用いても、キナーゼとその基質の対応付け(ペアリング)をすることは困難であり、既知のシグナルパスウェイ以外のネットワーク解析を行う上で障害となっていた。爆発的に増えていくキナーゼ基質に対して、キナーゼに対応付けするための情報が圧倒的に不足していた。

2. 研究の目的

本研究ではタンパク質のリン酸化部位に対応するキナーゼを予測するツールを開発することを最終目的とし、リン酸化プロテオミクスプラットフォームの高性能化、細胞内リン酸化情報の徹底収集および大規模 *in vitro* キナーゼ反応解析によるモチーフおよび *in vitro* 基質情報の収集を行うことを目標とした。

3. 研究の方法

本研究は、(1) リン酸化プロテオミクスプラットフォームの高性能化、(2) 細胞内リン酸化情報の収集、(3) *in vitro* キナーゼ反応による基質情報の収集とモチーフ抽出、および(4) キナーゼ-基質ペアリング予測ツールの開発で構成される。

(1)においては、独自に開発した HAMMOC 法を中心にしてリン酸化プロテオミクス解析技術を高性能化する。具体的には、超高分離能を有するメートル長のシリカモノリスカラムを用いて、LC-MS におけるピーク分離を最大化した。また微量試料に対応するため、試料調製ステップを見直し、プロトコルを最適化した。さらに、定量のための安定同位体タグ導入ステップをプロトコルに採用し、定量的リン酸化プロテオミクスの確立を行った。

(2)においては、上記のリン酸化プロテオミクス計測プラットフォームを用いて、HeLa 細胞や様々なヒト細胞株を中心にして、分子標的薬を中心とした様々な摂動をあたえ、その細胞内におけるリン酸化情報を収集した。

(3)においてはリコンビナントキナーゼと細胞抽出タンパク質試料を *in vitro* で反応させるためのワークフローの確立を行い、反応生成物のリン酸化プロテオミクスによる定量を行った。

(4)については、まず、上記(1)–(3)で得られた情報に加え、文献や公共 URL から入手可能な情報を集積した。次に既知刺激に対するリン酸化変動データを参照データとして取得した。最後に様々な計算科学的手法を用いて、*in vivo* キナーゼ-基質ペアを予測し、参照変動データから既知キナーゼの活性化が予測できるかどうかを検証した。

4. 研究成果

(1) リン酸化プロテオミクスプラットフォームの高性能化

LC-MS 測定系にメートル長シリカモノリスカラムを用い、前分画なしで高効率にリン酸化ペプチドを同定・定量できる系を確立した。0.125 mg の HeLa 細胞抽出タンパク質試料から従来法では 3,231 リン酸化ペプチドが同定されたのに対し、モノリスカラムを用いた系では約 3 倍の 9,601 ペプチドが一回の測定で同定できた。次に、高感度化システムを開発すべくプロトコルを最適化した結果、0.001 mg の HeLa 細胞抽出タンパク質(10,000 個の細胞に相当)から 1,000 リン酸化ペプチドを同定できるシステムの確立に成功した。さらに、アミノ基のジメチル化反応を利用し、リジンおよび N 末端アミノ基に安定同位体を導入するプロトコルを確立し、チタニア HAMMOC を用いたリン酸化ペプチド濃縮に適用可能であることを確認した。

(2) 細胞内リン酸化情報の収集

上記測定プラットフォームの高性能化と並行して、様々な条件下で HeLa 細胞を中心に細胞内リン酸化情報を収集した。研究開始時には、8,131 ヒトリン酸化タンパク質上に 33,335 リン酸化部位を確認していたが、上記測定プラットフォームの高性能化により効率的な測定が可能となり、最終的に 14,271 リン酸化タンパク質上の 90,596 リン酸化部位を同定するにいたった。本同定数は現在様々なウェブサイトで公開されているリン酸化情報と比較しても世界最大であり、本法の有用性を改めて示すものとなった。最新の UniProt に収載されている情報との比較を図 1 に示す。タンパク質レベルで UniProt との重複は約 50%であり、約 8,000 リン酸化タンパク質は HAMMOC 法のみで同定されたものであった。また、これらの結果より、ヒトタンパク質の 7 割以上がリン酸化修飾を受けていることが判明した。リン酸化部位数は 10 万種を超えており、1 つのキナーゼあたり平均 200 以上のリン酸化部位を修飾していることがわかった。

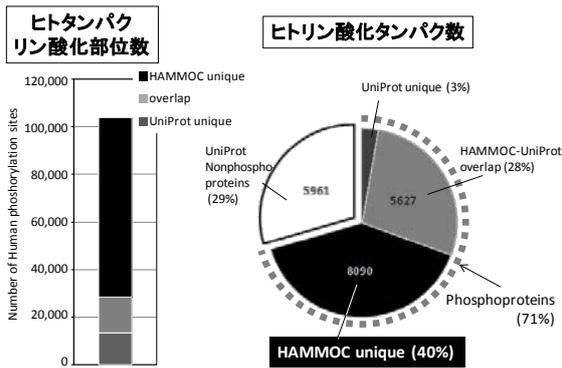


図1 HAMMOC法によるヒトリン酸化プロテオーム解析

(3) *in vitro* キナーゼ反応による基質情報の収集とモチーフ抽出

385 種のリコンビナントキナーゼを用い、HeLa 細胞抽出物を試料としてキナーゼ反応を行い、キナーゼ反応を行わなかった試料を参照にした定量的リン酸化プロテオーム解析により基質となったリン酸化ペプチドを同定・定量した。その結果、175,574 個のキナーゼ-基質ペアが観測され、一義的に決定できたリン酸化部位は 29,837 個であった(図 2)。細胞内リン酸化情報との重複を調べた結果、9,732 個(33%)のリン酸化部位が細胞内でも観測されていることがわかった。

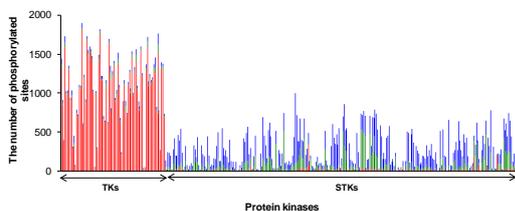


図2 *in vitro*キナーゼ反応による各キナーゼの基質数分布

基質ペプチドを用いて各キナーゼに対しモチーフ抽出を行った結果、303 種のキナーゼに対する、のべ 1,525 種のリン酸化モチーフを抽出することに成功した。これは既知モチーフ数の約 10 倍に相当するものであり、世界最大規模の情報を獲得できた。さらに基質ペプチドを元にキナーゼをクラスター解析したところ、キナーゼドメイン配列に基づくグルーピングと相同性の高いクラスターが形成されることを見出した。

(4) キナーゼ-基質ペアリング予測ツールの開発

今回得られた 3 つの情報(細胞内リン酸化情報、*in vitro* 基質情報、キナーゼのリン酸化モチーフ情報)に基づき、*in vivo* キナーゼ-基質ペアを予測し、リン酸化プロテオームによる細胞内のリン酸化変動データを用いて、その責任キナーゼおよび変動パスウェイを予測するツールの開発を試みた。

EGF 刺激した Panc-1 細胞におけるリン酸化変動を定量的リン酸化プロテオームを用いて測定し、EGFR パスウェイを構成するキナーゼが変動の責任キナーゼとして同定できるかどうかを検証した。方法としては、①リン酸化モチーフ、細胞内リン酸化情報およびタンパク質相互作用マップを用いる方法、および②それぞれの *in vitro* 基質のキナーゼ選択性に基づいた重み付けを行い、責任キナーゼを推定する方法を検討した。前者の方法による結果の一部を図 3 に示す。その結果、2 つの方法いずれについても EGFR パスウェイの活性化および EGFR パスウェイキナーゼの活性化を予測することに成功した。

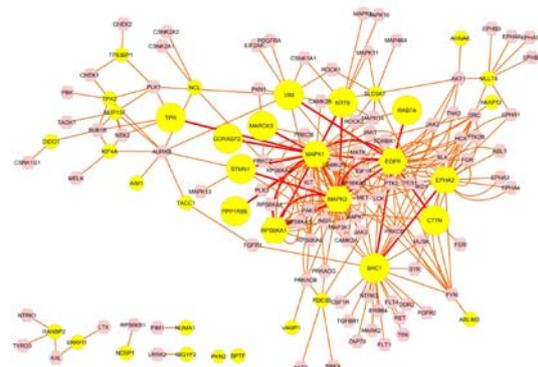


図3 リン酸化プロテオームデータによる変動キナーゼの予測

以上、「*in vivo* キナーゼ・基質ペア予測」を目標として、*in vitro* キナーゼ反応を中心とした様々な検討を行った。その結果、高性能リン酸化プロテオームプラットフォームの確立、世界最大規模の細胞内リン酸化情報の収集および世界最大規模のキナーゼリン酸化モチーフの同定等に成功した。これらの成果に基づき、キナーゼ基質の変動情報からその責任キナーゼを予測するツールを開発することに成功し、研究目標を達成することができた。本法はシグナル伝達研究における有用な研究ツールとなることが期待される。

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 27 件)

- ① K. Horie, Y. Sato, T. Kimura, T. Nakamura, Y. Ishihama, Y. Oda, T. Ikegami, and N. Tanaka, Estimation and optimization of the peak capacity of one-dimensional gradient high performance liquid chromatography using a long monolithic silica capillary column. J Chromatogr A 1228 283-91 (2012) doi:

- 10.1016/j.chroma.2011.12.088. 査読有
- ② M. Iwasaki, N. Sugiyama, N. Tanaka, and Y. Ishihama, Human proteome analysis by using reversed phase monolithic silica capillary columns with enhanced sensitivity. *J Chromatogr A* 1228 292-7 (2012) doi: 10.1016/j.chroma.2011.10.059. 査読有
- ③ M. Jishage, S. Malik, U. Wagner, B. Uberheide, Y. Ishihama, X. Hu, B. T. Chait, A. Gnatt, B. Ren, and R. G. Roeder, Transcriptional Regulation by Pol II(G) Involving Mediator and Competitive Interactions of Gdown1 and TFIIF with Pol II. *Mol Cell* 45 51-63 (2012) doi: 10.1016/j.molcel.2011.12.014. 査読有
- ④ H. Nakagami, N. Sugiyama, Y. Ishihama, and K. Shirasu, Shotguns in the Front Line: Phosphoproteomics in Plants. *Plant Cell Physiol* 53 118-24 (2012) doi: 10.1093/pcp/pcr148. 査読有
- ⑤ K. Kulkeaw, T. Inoue, C. Mizuochi, Y. Horio, Y. Ishihama, and D. Sugiyama, Ectopic expression of Hmgn2 antagonizes mouse erythroid differentiation *in vitro*. *Cell Biol Int* 36 195-202 (2012) doi: 10.1042/CBI20110169. 査読有
- ⑥ D. Kitagawa, M. Gouda, Y. Kirii, N. Sugiyama, Y. Ishihama, I. Fujii, Y. Narumi, K. Akita, and K. Yokota, Characterization of kinase inhibitors using different phosphorylation states of colony stimulating factor-1 receptor tyrosine kinase. *J Biochem* 151 47-55 (2012) doi: 10.1093/jb/mvr112. 査読有
- ⑦ T. Masuda, N. Sugiyama, M. Tomita, and Y. Ishihama, Micro-scale phosphoproteome analysis of 10,000 cells from human cancer cell lines. *Anal Chem* 83 7698-703 (2011) doi: 10.1021/ac201093g. 査読有
- ⑧ M. Helmy, M. Tomita, and Y. Ishihama, OryzaPG-DB: Rice Proteome Database based on Shotgun Proteogenomics. *BMC Plant Biol* 11 63 (2011) doi: 10.1186/1471-2229-11-63. 査読有
- ⑨ H. Murakami, M. Koguchi, Y. Esaka, B. Uno, and Y. Ishihama, Functional preconcentration tip of total volume injection for ESI/MS analysis of DNA adducts. *Anal Sci* 27 217-20 (2011) doi: 10.2116/analsci.27.217. 査読有
- ⑩ N. Yachie, R. Saito, N. Sugiyama, M. Tomita, and Y. Ishihama, Integrative features of the yeast phosphoproteome and protein-protein interaction map. *PLoS Comput Biol* 7 e1001064 (2011) doi: 10.1371/journal.pcbi.1001064. 査読有
- ⑪ T. Geiger, J.R. Wisniewski, J. Cox, S. Zanivan, M. Kruger, Y. Ishihama, and M. Mann, Use of stable isotope labeling by amino acids in cell culture as a spike-in standard in quantitative proteomics. *Nat Protoc* 6 147-57 (2011) doi: 10.1038/nprot.2010.192. 査読有
- ⑫ S. Ujihara, T. Oishi, R. Mouri, R. Tamate, K. Konoki, N. Matsumori, M. Murata, Y. Oshima, N. Sugiyama, M. Tomita, and Y. Ishihama, Detection of Rap1A as a yeast toxin binding protein from blood cell membranes. *Bioorg Med Chem Lett* 20 6443-6 (2010) doi: 10.1016/j.bmcl.2010.09.080. 査読有
- ⑬ K. Fujiwara, Y. Ishihama, K. Nakahigashi, T. Soga, and H. Taguchi, A systematic survey of *in vivo* obligate chaperonin-dependent substrates. *EMBO J* 29 1552-64 (2010) doi: 10.1038/emboj.2010.52. 査読有
- ⑭ M. Iwasaki, S. Miwa, T. Ikegami, M. Tomita, N. Tanaka, and Y. Ishihama, One-Dimensional Capillary Liquid Chromatographic Separation Coupled with Tandem Mass Spectrometry Unveils the Escherichia coli Proteome on a Microarray Scale. *Anal Chem* 82 2616-20 (2010) doi: 10.1021/ac100343q. 査読有
- ⑮ K. Imami, N. Sugiyama, M. Tomita, and Y. Ishihama, Quantitative proteome and phosphoproteome analyses of cultured cells based on SILAC labeling without requirement of serum dialysis. *Mol Biosyst* 6 594-602 (2010) doi: 10.1039/b921379a. 査読有
- ⑯ H. Nakagami, N. Sugiyama, K. Mochida, A. Daudi, Y. Yoshida, T. Toyoda, M. Tomita, Y. Ishihama, and K. Shirasu, Large-scale comparative phosphoproteomics identifies conserved phosphorylation sites in plants. *Plant Physiol* 153 1161-74 (2010) doi: 10.1104/pp.110.157347. 査読有
- ⑰ K. Shinoda, M. Tomita, and Y. Ishihama, emPAI Calc--for the estimation of protein abundance from large-scale

identification data by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Bioinformatics* 26 576-7 (2010) doi:

10.1093/bioinformatics/btp700. 査読有

- ⑱ Y. Kyono, N. Sugiyama, M. Tomita, and Y. Ishihama, Chemical dephosphorylation for identification of multiply phosphorylated peptides and phosphorylation site determination. *Rapid Commun Mass Spectrom* 24 2277-82 (2010) doi: 10.1002/rcm.4627. 査読有
- ⑲ Y. Kyono, N. Sugiyama, K. Imami, K. Miyazaki, M. Ohira, M. Tomita, and Y. Ishihama, 質量分析を用いたリン酸化プロテオミクスにおけるリン酸化ペプチド濃縮用チタニア担体の開発. *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.* 58 129-138 (2010) doi: 10.5702/massspec.58.129. 査読有
- ⑳ K. Imami, M. Tomita, and Y. Ishihama, 2種類の安定同位体を用いたアミノ酸培養標識法の開発と定量的プロテオミクスへの応用. *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.* 58 81-87 (2010) doi: 10.5702/massspec.58.81. 査読有
- ㉑ H. Imamura, N. Yachie, R. Saito, Y. Ishihama, and M. Tomita, Towards the systematic discovery of signal transduction networks using phosphorylation dynamics data. *BMC Bioinformatics* 11 232 (2010) doi: 10.1186/1471-2105-11-232. 査読有
- ㉒ T. Umezawa, N. Sugiyama, M. Mizoguchi, S. Hayashi, F. Myouga, K. Yamaguchi-Shinozaki, Y. Ishihama, T. Hirayama, and K. Shinozaki, Type 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106 17588-93 (2009) doi: 10.1073/pnas.0907095106. 査読有
- ㉓ Ravichandran, N. Sugiyama, M. Tomita, S. Swarup, and Y. Ishihama, Ser/Thr/Tyr phosphoproteome analysis of pathogenic and non-pathogenic *Pseudomonas* species. *Proteomics* 9 2764-75 (2009) doi: 10.1002/pmic.200800655. 査読有
- ㉔ M. Iwasaki, T. Masuda, M. Tomita, and Y. Ishihama, Chemical Cleavage-Assisted Tryptic Digestion for Membrane Proteome Analysis. *J Proteome Res* 8 3169-3175 (2009) doi: 10.1021/pr900074n. 査読有

- ㉕ Nock, J.M. Ascano, T. Jones, M.J. Barrero, N. Sugiyama, M. Tomita, Y. Ishihama, and S. Malik, Identification of DNA-dependent Protein Kinase as a Cofactor for the Forkhead Transcription Factor FoxA2. *J Biol Chem* 284 19915-26 (2009) doi: 10.1074/jbc.M109.016295. 査読有
- ㉖ T. Masuda, N. Saito, M. Tomita, and Y. Ishihama, Unbiased quantitation of *Escherichia coli* membrane proteome using phase transfer surfactants. *Mol Cell Proteomics* 8 2770-7 (2009) doi: 10.1074/mcp.M900240-MCP200. 査読有
- ㉗ T. Masuda, and Y. Ishihama, ショットガンプロテオミクスによる膜タンパク質の網羅的解析のための試料調製法 *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.* 57 145-151 (2009) doi: 10.5702/massspec.57.145. 査読有

[学会発表] (計 116 件)

- ① Y. Ishihama, One-Shot Proteomics and Phosphoproteomics with Wider Dynamic Range by Meter-long Capillary Monolithic Columns, The 37th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (HPLC 2011 Dalian), 2011/10/9, Dalian (China).
- ② 石濱泰, リン酸化プロテオーム変動解析とがん分子標的治療, 日本分析化学会第60年会, 2011/09/16, 名古屋大学 (名古屋).
- ③ 石濱泰, 質量分析を用いたプロテオームおよびリン酸化プロテオーム解析システムの開発, 第59回質量分析総合討論会, 2011/09/14, ホテル阪急エキスポパーク (大阪).
- ④ Y. Ishihama ら, In-Depth Phosphoproteome Analysis for Evaluating Molecular-Targeting Drugs in High Throughput, HUP0 10th Annual World Congress 2011/09/06, Geneva (Switzerland).
- ⑤ 石濱泰, リン酸化タンパク質の質量分析と創薬研究への応用の可能性, 第15回薬物動態談話会セミナー, 2011/08/25, ホテルコスモスクエア国際交流センター (大阪).
- ⑥ Y. Ishihama, One-Shot Phosphoproteome Analysis by Unidimensional NanoLC-MS/MS with Highly Efficient Phosphopeptide Enrichment, The 2nd Asian & Oceanian Mass Spectrometry Conference, 2011/08/18, Pusan

- (Korea).
- ⑦ 石濱泰, 高性能 LC を用いたショットガンプロテオミクス, 第9回北里疾患プロテオーム研究会, 2011/07/27, 北里大学(東京).
- ⑧ 石濱泰, プロテオミクス LC-MS の新潮流ーヒトプロテオームー斉測定を目指してー, 第18回クロマトグラフィーションポジウム, 2011/06/04, 福岡大学(福岡).
- ⑨ Y. Ishihama, Unidimensional LC Separation in Shotgun Proteomic LC-MS for Unveiling Human Phosphoproteome, IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011 (ICAS2011), 2011/05/24, Kyoto (Japan).
- ⑩ Y. Ishihama, Unidimensional LC Separation in Shotgun LC-MS for Unveiling Proteome and Phosphoproteome, Translational Medicine Conference and Taiwan Proteomics Society Annual Symposium 2011, 2011/04/27, Taipei (Taiwan).
- ⑪ Y. Ishihama, Exploiting Signaling Proteome by Phosphoproteomics, The 13th US-Japan Cellular and Gene Therapy conference on Systems Biology in Cell Cycle Regulation, 2011/2/25, NIH, Bethesda, Maryland (USA).
- ⑫ Y. Ishihama, One-shot proteomics to unveil the expressed proteome and phosphoproteome on a microarray scale, 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2010), 2010/12/17, Honolulu, Hawaii (USA).
- ⑬ Y. Ishihama, Exploring Signaling Proteome by High Performance Phosphoproteomics, 2009 TPS International Proteomics Conference and 5th AOHUPO MPI Workshop, 2009/6/19, Taipei (Taiwan).
- ⑭ 石濱泰, ショットガンプロテオミクスを用いた膜タンパク質の大規模解析, 第37回BMSコンファレンス, 2010/7/7, 沖縄残波岬ロイヤルホテル(沖縄).
- ⑮ 石濱泰, One-shot proteomics への挑戦, 平成22年度日本分析化学会東北支部若手交流会, 2010/7/2, 秋田大学(秋田).
- ⑯ 石濱泰, プロテオームー斉測定に向けたプロテオミクス LC-MS の新展開, 第58回質量分析総合討論会, 2010/6/16, つくば国際会議場(茨城).
- ⑰ 石濱泰, リン酸化プロテオミクスを用いたシグナル伝達研究の最前線, 第87回日本生理学会大会, 2010/5/19, 盛岡市盛岡市民文化ホール(岩手).

- ⑱ Y. Ishihama ら, Phosphoproteome Analysis of Pathogenic and Non-Pathogenic Pseudomonas Species, 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry & Allied Topics 2009/5/31, Philadelphia, PA (USA).
他、98件

[図書] (計7件)

- ① 中神弘史, 杉山直幸, 石濱泰, 共立出版, 植物のシグナル伝達ー分子と応答, 2010, 228-236.
- ② 今見考志, 石濱泰, 羊土社, 実験医学別冊「創薬・タンパク質研究のためのプロテオミクス解析」, 2010, 23-30.
- ③ 吉原宏樹, 石濱泰, 文光堂, 病理と臨床 特集「プロテオミクスー病理との関わりー」, 2010, 512-517.
- ④ 杉山直幸, 石濱泰, 羊土社, 実験医学「プロテオミクスが解き明かす情報伝達ネットワーク」, 2009, 2552-2557.
- ⑤ 京野完, 杉山直幸, 石濱泰, 学研メディカル秀潤社, 細胞工学別冊「明日を拓く新次元プロテオミクス」, 2009, 41-50.
- ⑥ 石濱泰, 丸善, 分析化学便覧「プロテオミクス」, 2011, 498-504.
- ⑦ 若林真樹, 杉山直幸, 石濱泰, メディカルドゥ, ナノバイオ技術と最新創薬応用研究「リン酸化プロテオミクスを用いた分子標的薬プロファイリング」, 2012, 102-108.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石濱 泰 (ISHIHAMA YASUSHI)
京都大学・大学院薬学研究科・教授
研究者番号：30439244

(2) 研究協力者

杉山 直幸 (SUGIYAMA NAUYUKI)
慶應義塾大学・政策メディア研究科・特任講師
研究者番号：50545704

吉原 宏樹 (YOSHIHARA HIROKI)
慶應義塾大学・政策メディア研究科・助教
研究者番号：90348706

増田 豪 (MASUDA TAKESHI)
慶應義塾大学・政策メディア研究科・研究員
研究者番号：70383940