

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：82505

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590163

研究課題名(和文) 酵素を利用したサリン等の神経剤分解法の開発と汚染除去法に関する研究

研究課題名(英文) Investigation of decontamination of nerve agents using organophosphorus hydrolase

研究代表者

大森 毅 (Ohmori, Takeshi)

科学警察研究所・法科学第三部・室長

研究者番号：70356195

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：化学テロ現場において、原因物質のみを特異的に除染できる方法の開発を目指して、有機リン系化合物分解酵素であるorganophosphorus hydrolase(OPH)の遺伝子に変異を導入し、サリンやVX等を効率的に分解する酵素の開発に取り組んだ。136Leu、254Tyrおよび257Hisの3箇所のアミノ酸を置換した5種類の変異酵素を作成し、有機リン系化合物分解反応を調べた結果、Tyr254Hisの変異を導入した酵素が最も高い分解能力を示した。さらにこの酵素を担体に固定して作成したバイオリアクターは活性を維持し化学剤を分解したことから、酵素によるテロ現場除染技術への発展が可能と考えられた。

研究成果の概要(英文)：To improve the decontamination method at chemical terrorism, we attempted to apply organophosphorus hydrolase(OPH) for degrading the nerve agent, such as sarin or VX. We attempted to introduce point mutation in OPH gene in order to construct the OPH enzyme that can hydrolyze nerve agents efficiently. Five types of mutant OPH enzymes were constructed, and studied for the higher degradation activity for the nerve agents. The activity assay proved that the substitution of Tyr at 254 to His lead to the remarkable improvement of the activity toward VX that could not be decomposed by the wild-type OPH. We also tried to develop an OPH-immobilized column for efficient nerve agent decontamination and the immobilized OPH was able to degrade nerve agents. Our results suggest the possibility for developing a powerful and ecological nerve agent detoxication system using OPH.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・環境系薬学

キーワード：有機リン系化合物 神経剤 有機リン分解酵素 固定化酵素 Spingobium

1. 研究開始当初の背景

我が国でこれまでに長野県松本市および東京都心部において、化学剤であるサリンを用いたテロが発生したことにより、生物・化学テロの脅威が現実のものとなり、現在でもその懸念は去ってはいない。このような危険物質を用いたテロや、あるいは危険物質の漏洩等に起因する災害に対処するための危機管理上の取り組みとして、危険物質の検知・モニタリング、適切な治療・解毒が重要であるが、併せて被害を最小限に食い止めるための危険物質からの防護・汚染除去も重要である。

これまで、化学剤あるいは生物剤を用いたテロに対する事後措置として、次亜塩素酸塩やアルデヒド、酸化剤、界面活性剤などによる化学的な分解を利用する手法が用いられてきた。しかしこれらの薬品は毒性が強い、環境負荷が大きい、効果の持続性に乏しいなどの欠点があることも知られている。すなわち、これらの汚染除去剤は反応が非特異的で、テロとは無関係である他の無害な一般の物質や生命にまで作用し、除去効率は低いものと言わざるを得ないものであったことから、特異性が高く、テロの原因物質のみを無害化し、周辺環境に影響を及ぼさない除染剤が求められていたという背景があった。

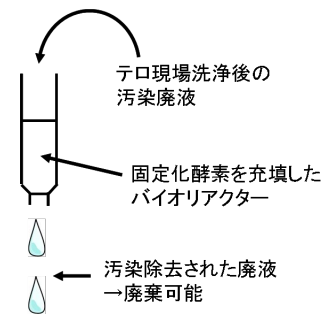
2. 研究の目的

代表的化学剤であるサリン、ソマン、タブン、VXは有機リン系化合物に分類され、コリン作動性神経系の後シナプス膜に存在する酵素であるアセチルコリンエステラーゼを阻害することにより神経症状を引き起こすことから、神経剤とも呼ばれている。これら神経剤は、他の化学剤である糜爛剤、くしゃみ剤等と比較して毒性が高いため危険度もはるかに大きく、また実際にテロに使用された実例もあることから今後もテロに使用される可能性が高い化学剤であると判断し、神経剤の除染方法の開発に取り組むこととした。

有機リン系化合物を特異的に分解し、かつ周辺に害を及ぼさず、環境負荷も低い汚染除去方法に適した手法としては、酵素を活用することが適切であると考えた。有機リン系化合物を特異的に分解する酵素として、土中に生存する微生物である *Flavobacterium sp.* や *Pseudomonas diminuta* などが産生する Organophosphorus hydrolase (OPH) の存在が知られている。OPH は二価の金属イオンの存在下で有機リン系化合物の構造中、P - O、P - S、P - F あるいは P - CN 結合を切断することが可能な酵素で、サリン、ソマン、タブンなど神経剤も分解可能であるという報告があることから、この OPH を活用した神経剤の分解および汚染除去方法の開発を目指した。

酵素である OPH を汚染除去工程においてどのような形で取り扱うかという点は、実務

への応用を考えた場合非常に大きな問題である。すなわち酵素液を散布することにより神経剤を分解しようとした場合、菌体を残したままの液体、あるいは細菌からの酵素の粗



(図1) 除染のイメージ図

抽出物を散布することは、混在する培養液成分等による周辺環境の汚染の原因となる。また精製酵素を用いると精製のコストが膨大なものになる。そこで、酵素を固定化したバイリアクターを作製し、テロ現場を洗浄した汚染廃液をバイリアクターに通すことによって汚染を除去する方法が適当であると考えた。この目的で我々は本研究開始以前に OPH 産生菌である *Sphingobium fuliginis* から OPH 遺伝子をクローニングし、酵素タンパクを発現させ、得られた酵素タンパクの活性を確認した(科学技術振興調整費 重要課題解決型研究「生物化学テロにおける効果的な除染法の開発」代表 警察庁科学警察研究所 瀬戸康雄 平成 18 年~20 年)。この研究において得られた酵素は、サリンおよびタブンは極めて効率的に分解し、シクロヘキシルサリンやソマンも分解したという結果が得られた。しかしながら VX の分解効率が極めて低いことが問題点として残された。そこで、今回我々は、OPH 遺伝子に変異を導入し、VX を高い効率で分解する能力を持つ酵素を作製し、神経剤を完全に分解することが可能なバイリアクターを完成させ、神経剤を散布するテロの汚染除去方法の確立を試みた。これまでに OPH へのアミノ酸置換の導入と VX 分解活性との関連を調べた報告は存在しているが、我々が追試した結果 VX 分解活性の上昇は確認出来なかった。そこで本研究において、他の部位における変異の導入等、アミノ酸置換と分解活性への影響を幅広く探り、十分な VX 分解活性を有する酵素の作出を試み、さらに種々の神経剤を効率よく分解する OPH の精製と固定化を目指すものである。

3. 研究の方法

(1) OPH 遺伝子のクローニングと遺伝子変異ア. 使用菌株

土壌細菌である *Sphingobium fuliginis* 菌株として、ATCC 27551 を使用した。培養には SP medium (Glucose 1%, Yeast Extract 0.5%, Casamino acid 0.5%, (NH₄)₂SO₄ 0.2%, K₂HPO₄ 0.2%, MgSO₄·7H₂O 0.01%) を使用し、30℃ で振とう培養を行った。

イ. OPH 遺伝子のクローニング

ATCC 27551 菌体からテンプレートとなるゲノム DNA を抽出し、OPH 遺伝子を PCR により増幅し、増幅産物をベクタープラスミドに組み込み、*E. coli* 宿主株に導入し発現させた。

ベクタープラスミドとしては、pUC118 および pTV118N を使用した。クローニングの宿主としては、*Escherichia coli* DH5 α 株を用い、37 °C において LB 液体培地で振とう培養、あるいは LB 寒天培地で静置培養した。

ウ．遺伝子変異の導入

OPH の一次構造の三か所、¹³⁶Leu、²⁵⁴Tyr および ²⁵⁷His のアミノ酸を置換した酵素を作成するため、PCR in vitro mutagenesis kit (タカラバイオ) の方法を用い、以下のプライマーを使用した。

プライマーセット 1 :

Forward プライマー :

5'-CATGTTCTTTCCTGCGTTA-3'

Reverse プライマー :

各変異に対応する配列を次に示す。なお下線部は変異箇所である。

Leu¹³⁶Tyr 変異の導入

5'-AATCGCATCGAATATGGCGGGTCGAA-3'

Leu¹³⁶Asp 変異の導入

5'-AATCGCATCGAATCTGGCGGGTCGAA-3'

His²⁵⁷Leu 変異の導入

5'-ACCAATCGCACTGAGCGGGATGTAGTCTAGACCGAT-3'

Tyr²⁵⁴His 変異の導入

5'-CAATCGCACTGTGCGGGATGTGGTCTAGACCG-3'

Tyr²⁵⁴Arg、His²⁵⁷Leu 変異の導入

5'-CAATCGCACTAAGCGGGATACCGGCTAGACCG-3'

プライマーセット 2 :

Forward プライマー :

5'-CATGATTACGAGTTCGGCGAT-3'

Reverse プライマー :

5'-GTTTCCAGTCACGAC-3'

これらのプラスミドに挿入されたフラグメントについて OPH 遺伝子を含む DNA 領域がクローニングされているかどうかを確認するため塩基配列の決定を行った。

エ．粗酵素液の調製

一晚振とう培養した菌液 2 ml を 200 ml のアンピシリン含有 LB 液体培地に植菌し、16 時間振とう培養した。培地には必要に応じて Isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside (IPTG) を 1 mM 添加した。菌を遠心分離で回収した後、50 mM リン酸バッファーあるいは Tris-HCl バッファー (pH7.2) で一度洗浄し、再度バッファーに懸濁して、音波処理により破碎した。破碎液を遠心分離し、40,000 x g 上清画分を粗酵素液として使用した。

なお、発現した酵素タンパクの確認には SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) を用いた。

(2) OPH 活性の測定

ア．酵素の活性化

OPH は活性発現のために二価の陽イオンを必要とすることから、コバルトイオンあるいは亜鉛イオンで活性化を行った。粗酵素溶液に、塩化コバルトあるいは硫酸亜鉛水溶液を添加し、4 °C で 4 時間静置した。活性化に最適なイオンの種類および濃度は酵素変異株によって異なるので、最適な条件を検索して使用した。

イ．パラオキシノン分解活性の測定

酵素溶液を 4 mM パラオキシノンを含む 50 mM Tris-HCl バッファー (pH9.0) 2.4 mL に添加し、測定温度は 25 °C においてパラオキシノンの分解物である *p*-ニトロフェノールの極大吸収波長である 410 nm の吸光度をモニターして活性を測定した。活性は 1 分あたりのパラオキシノン分解量として求め、計算には *p*-ニトロフェノールの吸光係数 (410 = 16,600 M⁻¹cm⁻¹) を用いた。

ウ．神経剤の分解活性測定

酵素溶液 0.3 mL に対して 200 mM Tris-HCl バッファー (pH8.5) 0.1 mL を添加し、さらに神経剤 (サリン、ソマン、タブン、シクロヘキシルサリン、VX) を最終濃度 50 ppm となるように添加して 37 °C で 20 分間反応させた。反応終了後、1 mL のジクロロメタン (内部標準物質として 10 ppm のノナデカンを含む) で抽出し、有機溶媒層の 1 μ L をガスクロマトグラフ質量分析装置で分析した。分析条件は以下のとおりである。

装置 : Agilent 6890/5973

カラム : DB5-ms (30m x 0.25 mm i.d., 0.25 μ m)

イオン化法 : 電子イオン化法

キャリアガス : ヘリウム 1.0ml/min

注入口温度 : 250

カラム温度 : 40 (1min) 20 /min 290

スキャン範囲 : m/z40 - 500

定量は、各成分のベースイオンのマスクロマトグラム上のピーク面積に基づいて行った。

実験に用いた神経剤は科学警察研究所において合成した。合成は経済産業省の承認のもと行った。

(3) 酵素の固定化

ア．ヒスチジンタグ (His-Tag) の導入

OPH 遺伝子を、末端に *Bam*HI 切断配列をもつプライマーで増幅し、タンパク質発現用プラスミドベクター pET15b (Novagen 社製 : クローニング部位の上流に His-Tag が組み込まれている) の *Bam*HI 部位に OPH 遺

伝子を組み込んだ。この際にベクターの *Bam*HI 部位上流から発現されるペプチドと OPH のペプチドのフレームが一致するようにプライマーを設計した。

さらに OPH タンパク質発現用プラスミドから His-Tag 部分を含んだ領域を pTV118N にサブクローニングするために、pET15b の T7 promoter 領域の配列と同一のプライマー、および OPH 遺伝子の 3'末端側のプライマー (*Hind*III 切断配列付加)を設計した。これらのプライマーを用いて OPH 遺伝子領域を増幅し、*Nco*I と *Hind*III で切断処理をして、同様の酵素で処理をした pTV118N に連結し、プラスミド pTV118N-His-OPH を作製した。

クローニングの宿主としては、*Escherichia coli* DH5 α 株を用い、37 において LB 液体培地で振とう培養、あるいは LB 寒天培地で静置培養した。酵素の精製には His-Bind Purification Kit (Novagen 社)を用いた。1 回の精製には約 1.25 ml の充填剤をポリスチレンの小カラムに充填して使用した。菌をキットに付属している Binding buffer 10 ml に懸濁し、音波処理により破碎した後に、常法に従って粗酵素液を調製した。この粗酵素液を His-Bind Purification Kit カラム(以下ニッケルカラム)に添加し、キットの説明書に従って吸着と溶出を行い、充填剤に特異的に吸着するタンパク質画分を溶出して、精製 OPH とした。

イ. 担体への固定化

(ア) ニッケルカラムへの固定化

ニッケルカラムに金属イオンで活性化した His-Tag OPH 粗酵素を吸着させた。その後 Binding buffer 12 ml で洗浄し、固定化 OPH とした。

(イ) CNBr 活性化 Sepharose 4B への固定化

CNBr-活性化 d Sepharose 4B をカラムに充填し、ニッケルカラムで精製し、金属イオンで活性化した His-Tag OPH (1 ml) をカラム内で一晩、反応させた。その後、ブロッキングと洗浄を行い固定化 OPH とした。

(ウ) 多孔質シリカへの固定化

多孔質シリカに、金属イオンで活性化した精製 His-Tag OPH (1 ml) を添加し、一晩吸着させた。その後、カラムに充填したものを固定化 OPH とした。

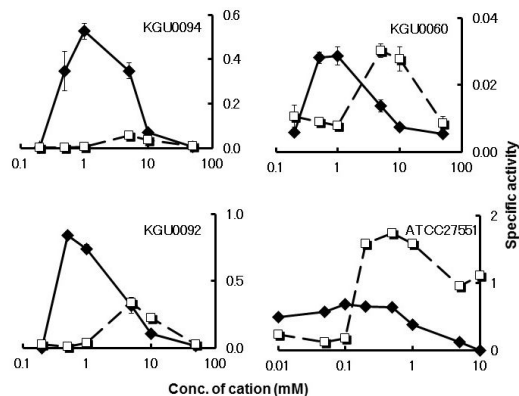
4. 研究成果

(1) 発現した OPH タンパクと活性

シグナルペプチド部位を保持した酵素 (KGU0060) とシグナルペプチドを除去した酵素 2 種類 (KGU0092 および KGU0094) を作成した。

これらの発現酵素の活性化に必要な二価陽イオンの種類と濃度を調べたところ、シグナルペプチドを除去した酵素である KGU0092 および KGU0094 はいずれもコバル

トイオンより亜鉛イオンで効果的に活性化されていた。一方でシグナルペプチドを保持した構造の酵素 KGU0060 は亜鉛イオンおよびコバルトイオンのいずれのイオンでも活性化された。しかし活性化後のパラオキソン分解活性は、シグナルペプチドを除去した KGU0092 および KGU0094 がタンパク質あたりの比活性が 0.84 および 0.53 であったのに対し、KGU0060 は 0.03 程度とかなり低いものであった。また比較のためもとの菌株である ATCC27551 を破碎し、二価イオンを添加して活性の上昇を測定したところ、コバルトイオンによって、より活性化された。



(図 2) OPH の二価イオン要求性

亜鉛イオン、コバルトイオン

OPH は本来 *Sphingobium fuliginis* において産生されるが、クローニングされた遺伝子の発現系は大腸菌であることから本来受けるべきシグナルペプチド除去などの修飾が受けられていない可能性がある。これらのことからクローニングの際にシグナルペプチドを除去した KGU0092 および KGU0094 が、シグナルペプチド領域が残存している酵素である KGU0060 よりも酵素活性が高かったのではないかと考えられた。また KGU0092 および KGU0094 と KGU0060 では活性化に必要なとされる二価イオンの種類が異なっていたことも、N 末端側の構造の違いと関係があるのではないかと考えられたがこの点に関しての詳細な検討は行っていない。

(2) 遺伝子変異を導入した OPH

野生株 OPH および 5 種類の変異株 OPH を作成した。作成した OPH を以下に示す。

KGU0094 (¹³⁶Leu、²⁵⁴Tyr、²⁵⁷His、野生株)
 KGU0146 (Leu¹³⁶Tyr)
 KGU0211 (Leu¹³⁶Asp)
 KGU0225 (His²⁵⁷Leu)
 KGU0227 (Tyr²⁵⁴His)
 KGU0245 (Tyr²⁵⁴Arg、His²⁵⁷Leu)

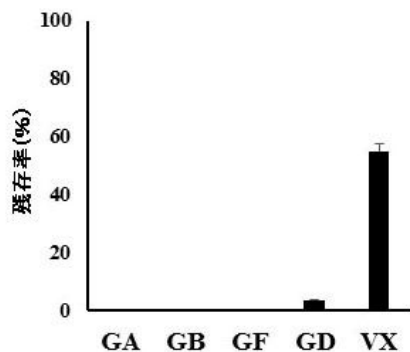
(3) 変異 OPH の酵素活性

ア. パラオキソン分解活性

遺伝子変異を導入した OPH では、KGU0211、KGU0146 および KGU0225 でパラオキソン分解活性はほとんど確認できなかった。活性が確認できた酵素では、KGU0227 は Co^{2+} が活性化に有効であり、10 mM Co^{2+} が活性化に最も有効であった。一方で Zn^{2+} 添加の場合の活性は Co^{2+} の 1/20 程度であった。KGU0094 は Zn^{2+} が有効であった。KGU0245 では両イオンの差は認められなかった。なお、最も高い活性を示した酵素は KGU0227 であった。

イ．神経剤分解活性

サリン (GB)、ソマン (GD)、タブン (GA)、シクロヘキシルサリン (GF) および VX の分解活性を調べた。その結果 KGU0227 が GB、GD、GA および GF をほぼ完全に分解し、VX の分解能力は 6 種の酵素中では最も高く、45% を分解した。KGU0227 は 10 mM の Co^{2+} を添加した場合に最も効率よく神経剤を分解した。 Zn^{2+} 添加の場合は分解活性がやや低下し、GD は 90%、VX は 25% 程度の分解率であった。



(図 3) KGU0227 による神経剤分解

KGU0245 はこれに次いで神経剤分解の効率が高く、二価イオンの違いによる活性の差は認められなかった。

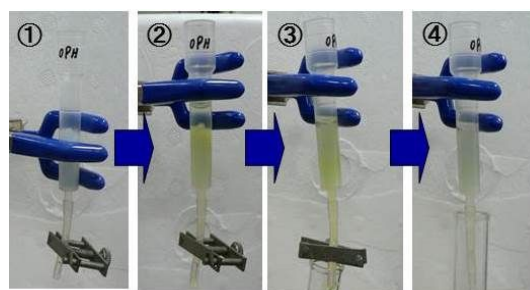
KGU0211 および KGU0225 は GA、GB、GD および GD は効率よく分解したが VX の分解効率が悪かった。また KGU0146 は野生株である KGU0094 よりも神経剤分解活性は低下した。

(4) 固定化酵素によるパラオキソン分解

酵素の固定化を検討するため、野生型酵素遺伝子に His-Tag 配列を付加した酵素を作成し、これを KGU0160 とした。この酵素を用いて固定化酵素を作成した。

まずニッケルカラムへ固定化した OPH によるパラオキシソンの分解を確認するため、4 mM パラオキソンを含む 50 mM Tris-HCl バッファー (pH9.0) をカラムに添加した(図 4)。

添加前のカラムの様子がであり、がパラオキソン溶液を添加したところである。パラオキシソンの分解物である p-ニトロフェノールに由来する黄色の着色が確認できる。は 10 分経過後のカラムの様子であり、洗浄後のカラムの様子がである。



(図 4) OPH 固定化カラムでのパラオキソン分解

(5) 固定化酵素による神経剤分解

続いて、ニッケルカラムに固定した KGU0160 を用いて神経剤の分解活性を測定した。担体への神経剤の非特異的吸着が考えられることから、対照カラムとしてタンパクを固定していないニッケルカラムを用いた。

対照カラムを通した場合であっても、非酵素的分解あるいは担体への吸着によると考えられる神経剤の減少が観察されたが、固定化酵素は神経剤を分解できることが明らかとなった。固定化酵素を通した場合の神経剤の消失量は 100% (GA)、100% (GB)、84% (GF)、62% (GD) および 31% (VX) であった。なお、非酵素的分解あるいは担体への吸着による非特異性の消失の量は、65% (GA)、51% (GB)、57% (GF)、45% (GD) および 36% (VX) であった。したがって OPH の寄与は、35% (GA)、49% (GB)、27% (GF) および 17% (GD)、0% (VX) とそれぞれ見積もることができた。

さらに GB を固定化酵素に通し、溶出液をキャピラリー電気泳動で分析したところ、GB の分解物であるメチルホスホン酸イソプロピル (IMPA) が検出された。検出された IMPA の量は添加した GB の約 90% に相当したことから、吸着による GB の消失は約 10% であり、ほとんどが酵素的に分解されていることが確認された。

なお、最初の実験を行った約 2 ヶ月後に再度活性を確認したところ、ほとんど失活は認められなかった。従って、固定化された OPH は 4 において、2 ヶ月程度安定に保存することが可能であることがわかった。

(6) CNBr 活性化 Sepharose4B 固定化酵素

VX 分解活性が最も高かった KGU0227 の末端に His-Tag を付加した酵素 KGU0255 について、ニッケルカラムで精製し、固定化に用いた。固定化酵素を通した場合の神経剤の消失量は 100% (GA)、55% (GB)、52% (GF)、35% (GD) および 20% (VX) であった。なお、非酵素的分解あるいは担体への吸着による非特異性の消失の量は、42% (GA)、31% (GB)、35% (GF)、32% (GD) および 38% (VX) であった。したがって OPH の寄与は、58% (GA)、24% (GB)、17% (GF) および 3% (GD)、0% (VX) とそれぞれ見積もることができた。ニッケルカラムに固定化した場合に比べて酵素による寄与が低下しているが、これは CNBr によ

り反応性に富んだ官能基ができるため、酵素活性に影響を与えた可能性と、N 末側が固定される His-Tag 酵素のニッケルカラムへの固定化とは異なり、CNBr 活性化 Sepharose4B への固定化の場合にはタンパク質の配向性がランダムになり、効果的な配向性を持つ酵素が少なくなるためなどの理由が考えられる。この結果により、本法による固定化は有効性が低いという結論に至った。

(7) 多孔質シリカ固定化酵素

この固定化でも KGU0255 の精製酵素が用いられた。多孔質シリカに OPH を固定した固定化酵素は、強いパラオキシソンの分解活性を示したことから酵素活性を十分維持できていることが分かった。従って、本固定化法が実用的バイオリアクター作製への有力候補であると考えられた。神経剤を固定化カラムに通した場合には、素材であるシリカに神経剤が吸着されると思われる現象が見られ、酵素の寄与率が把握できなかった。寄与率の測定には吸着防止のため実験に使用するバッファに吸着を防止する成分を添加することが必要であると考えられた。

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 2 件)

- (1) Decontamination of nerve agents by immobilized organophosphorus hydrolase
Ohmori T, Kawahara K, Nakayama K, Shioda A, Ishikawa S, Kanamori-Kataoka M, Kishi S, Komano A, Seto Y
Forensic Toxicology 31, 37-43 (2013)

- (2) Improvement of organophosphorus hydrolase activity toward nerve agents by amino acid substitutions
Nakayama K, Ishikawa S, Kawahara K, Ohmori T, Seto Y
Forensic Toxicology (2014) (in press)

[学会発表](計 8 件)

- (1) 変異導入した Organophosphorus hydrolase の神経剤分解活性
大森 毅、川原 一芳、石川 暁志、中山 公介、金森 美江子、瀬戸 康雄
第 84 回日本生化学会 演題番号 2p-0207 (2011 京都)
- (2) Organophosphorus hydrolase のアミノ酸置換による改良と精製法の検討
中山 公介、大森 毅、瀬戸 康雄、有路 沙織、石川 暁志、川原 一芳
2012 年度日本農芸化学会 演題番号 2C09p19(2012 京都)
- (3) Decomposition of nerve agents by organophosphorus hydrolase

Ohmori T, Kawahara K, Ishikawa S, Nakayama K, Kanamori-Kataoka M, Seto Y
The Meeting of the International Association of Forensic Toxicologist 2012 #P-159 (50th annual meeting abstract p108, 2012)

- (4) 変異導入した Organophosphorus hydrolase の神経剤分解活性(第二報)
大森 毅、川原 一芳、石川 暁志、中山 公介、瀬戸 康雄
第 85 回日本生化学会 演題番号 3P-304 (2012 年)

- (5) 神経剤高分解能を有する変異 Organophosphorus hydrolase の性状と迅速精製法の検討
中山 公介、大森 毅、瀬戸 康雄、有路 沙織、石川 暁志、川原 一芳
日本農芸化学会 2013 年度大会
講演番号 3C12p08(2013 仙台)

- (6) Organophosphorus hydrolase による神経剤分解
大森 毅、川原 一芳、石川 暁志、中山 公介、瀬戸 康雄
日本薬学会第 134 年会
発表番号 28amL-039 (2014)

- (7) 有機リン系神経剤を分解する Organophosphorus hydrolase の固定化
中山 公介、大森 毅、瀬戸 康雄、有路 沙織、石川 暁志、川原 一芳
日本農芸化学会 2014 年度大会
講演番号 4DO2a10(2014 川崎)

- (8) Improvement of activity and immobilization of organophosphorus hydrolase for the decontamination of nerve agents
Nakayama K, Ishikawa S, Ohmori T, Seto Y, Kawahara K
International Union of Microbiological Societies Congress (2014)

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
大森 毅 (OHMORI, Takeshi)
警察庁科学警察研究所・法科学第三部・室長
研究者番号：70356195

- (2) 研究分担者
川原 一芳 (KAWAHARA, Kazuyoshi)
関東学院大学・理工学部・教授
研究者番号：20195126