

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590071

研究課題名(和文)新規ヒアルロニダーゼの医療応用を指向した構造・機能研究

研究課題名(英文)Structural and functional studies on the novel hyaluronidase trying for its clinical application

研究代表者

山田 修平 (Yamada, Shuhei)

名城大学・薬学部・教授

研究者番号：70240017

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：コンドロイチン硫酸に特異的な加水分解酵素であるヒアルロニダーゼ4(HYAL4)について、基質特異性決定のための詳細な性質、生体内における機能の解明を目的に研究を行った。HYAL4と他の酵素との様々なキメラ酵素や点変異を導入した酵素を作製し、その基質特異性を調べ、どのアミノ酸残基がHYAL4の基質特異性の決定に関与しているのかを検討した。さらに、HYAL4の詳細な発現部位や発現時期を解析し、疾患に伴うHYAL4の発現の変化を調べ、疾病とHYAL4との相関を解析した。いくつかの癌における高発現が見いだされた。Hyal4ノックアウトマウスの作成のためのターゲティングベクターの構築に成功した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to characterize the amino acid residues responsible for the substrate specificity as well as to elucidate the biological functions of hyaluronidase 4 (HYAL4), which is a chondroitin sulfate-specific hydrolase. A series of HYAL4/other hyaluronidases-chimeric proteins and HYAL4 point mutants have been generated, and their preference for substrates has been investigated. The amino acid residues required for the substrate specificity of HYAL4 have been identified. The expression patterns as well as periods of HYAL4 mRNA have also been analyzed in detail. The relation between some diseases and HYAL4 has been investigated, and high expression of HYAL4 in some metastatic cancer cell lines has been demonstrated. We have also succeeded in the preparation of the targeting vector for generation of Hyal4-deficient mice.

研究分野：糖鎖生物学

キーワード：コンドロイチン硫酸 ヒアルロニダーゼ 加水分解酵素 ヒアルロン酸 グリコサミノグリカン 基質特異性

1. 研究開始当初の背景

コンドロイチン硫酸 (CS) は、軟骨組織において衝撃を吸収する緩衝材としての機能がよく知られているが、実際には動物細胞の表面に普遍的に存在し、細胞の増殖、分化、移動などに深く関わっていることが知られている。CS の持つ多様な機能は、制御された硫酸化修飾によって形成された特定の糖鎖配列が、様々な生理活性タンパク質と特異的に相互作用することによると考えられている。

多様な生理機能をもち、かつ医薬品としても利用されている CS 多糖鎖の代謝分解は、十分には解明されていない。特に初期段階で作用するエンド型の酵素については、CS 特異的な酵素は同定されておらず、CS とよく似た構造を持つヒアルロン酸 (HA) の分解酵素であるヒアルロニダーゼ (HYAL) が、副次的にこの反応を触媒していると考えられてきた。しかし、申請者らは、ゲノム中に HYAL のホモログ遺伝子をもつ線虫などのモデル生物のグリコサミノグリカン (GAG) の解析を行い、これらの生物は CS を産生するが HA は産生しないことを明らかにした (Yamada *et al.* **FEBS Lett.**, 1999; Yamada *et al.* **J. Biol. Chem.**, 2002; Yamada *et al.* **Glycobiology**, 2007)。そこで、線虫におけるヒト HYAL のホモログの遺伝子産物を解析し、コンドロイチンに特異的な加水分解酵素を世界で初めて見いだした (Kaneiwa, Yamada *et al.* **J. Biol. Chem.**, 2008)。さらに、ヒトの HYAL ファミリーメンバー (HYAL1、HYAL2、HYAL3、HYAL4、PH-20) の中で、それまで活性の報告のなかった HYAL4 について、CS に特異的な加水分解酵素であることを初めて見いだした (Kaneiwa, Yamada *et al.* **Glycobiology**, 2010)。さらに、HYAL4 による CS の分解産物の詳細な構造を決定し、その基質特異性を解明した。

2. 研究の目的

以下の4項目を目的とした。

(1) HYAL4 が持つ特定の CS 糖鎖配列のみを切断する性質の解析をより詳細に進める。具体的には、HYAL4 中の基質認識に必須のアミノ酸をキメラ酵素の作成によって同定する。これらの結果をもとに、本来の HYAL4 が認識する配列とは異なる CS 糖鎖配列を特異的に認識する人工的な酵素を作製することを目指す。

(2) HYAL4 の生体内における発現は、幾つかの臓器に限局されており、単純に CS の代謝分解の機能を担っているわけではなさそ

うである。そこで、HYAL4 の生体内での本来の機能を解明するため、ノックアウトマウスを作成する。

(3) 脊髄損傷部位において、CS が神経再生を阻害することが知られている。細菌由来の CS 分解酵素を投与すると神経の再生が促進されることが報告された (Bradbury *et al.* **Nature**, 2002; Alilain *et al.* **Nature**, 2011)。しかし、細菌由来の酵素では消化物に強い抗原性が生じるなど、様々な問題がある。そこで、それに代わる安全な酵素を開発するため、活性をもった HYAL4 を大量に産生する系を確立し、脊髄損傷モデルラットに投与し、その治癒効果を調べる。

(4) 癌が転移する際には、細胞外マトリックスの主要な構成成分であるヘパラン硫酸を分解するため、ヘパラーゼが高発現することは広く知られ、癌転移抑制薬のターゲットとしてヘパラーゼの研究が盛んに行われている。CS も細胞外マトリックスの主要な構成成分の1つであることから、癌や炎症時において HYAL4 が高発現する可能性がある。よって、疾患にともなう HYAL4 の発現の変化を調べる。

3. 研究の方法

【実験項目1】HYAL4 の基質認識機構の解析：

1. マウス Hyal4 とヒト HYAL4 のアミノ酸配列の相同性は 80% である。これまでにマウス Hyal4 とヒト HYAL4 は、基質として認識する CS の硫酸化構造が異なることを解明していた。そこで、マウス Hyal4 とヒト HYAL4 の様々なキメラ酵素を作製し、以下の3で示した方法で酵素反応を定量的に解析し、各キメラ酵素の基質特異性を調べた。

2. 点変異を導入した酵素も作製し、変異体酵素についても基質特異性を調べ、どのアミノ酸残基が基質特異性の決定に最も重要であるのかを調べた。

3. 酵素活性の測定法：蛍光標識した様々な CS を基質として消化反応を行う。あるいは標識していない基質に酵素を作用させた後に、切断によって新たに生じた還元末端を蛍光試薬で標識する。これら消化物を HPLC で解析することによって、酵素活性の定量と基質特異性の解明を行った。

4. ヒト HYAL1 と HYAL4 のキメラ酵素を作製した。ヒト HYAL1 は、HA と CS の両方に対して作用するが、HA を好んで加水分解する傾向があり、HYAL4 とは基質特異性が異なる。各キメラ酵素の基質特異性を調べた。

【実験項目2】Hyal4 ノックアウトマウスの作製：

1. Hyal4 を欠損したマウスを作製するため、標的ベクターの構築を行った。Hyal4 遺伝子

を含む BAC プラスミドを購入し、ポジティブセレクションマーカーとしてネオマイシン耐性遺伝子、ネガティブセレクションマーカーとしてジフテリア毒素フラグメント A 遺伝子とともに Bluescript に導入したベクターを作製した。

【実験項目 3】HYAL4 の大量発現に関する実験：

1 活性をもった大量の HYAL4 を得るため、酵母での発現系を構築した。プラスミドに HYAL4 遺伝子を導入し、エレクトロポレーションによって、メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* に安定導入した。高発現しているクローンを用いて、酵素の精製、酵素活性の測定を行った。活性が検出できたので、大量発現の条件を検討した。

【実験項目 4】HYAL4 の発現解析実験：

1. HYAL4 を発現する細胞株について、抗 HYAL4 抗体を用いて、免疫染色を行った。蛍光顕微鏡で細胞を観察し、細胞内小器官のマーカーを対比染色して HYAL4 の詳細な細胞内局在部位を解析した。

2. HYAL4 は精巣などでの発現が知られているが、それらの器官での機能をより詳細に推定するため、*in situ* hybridization 解析を行う。マウス精巣の凍結切片を作製し、アンチセンスプローブと反応させ、ジゴキシゲニンを利用して精巣のどの部分でどの時期に発現しているのかを調べた。

3. HYAL4 は通常の組織ではあまり発現していないと予想されるので、癌を初めとする各種疾患での HYAL4 の発現が亢進していないかを調べた。多数の培養癌細胞から mRNA を精製し、リアルタイム RT-PCR によって、G3PDH 遺伝子を対照として用いて、HYAL4 の発現量の変化を調べた。また、市販の疾病プロファイリングアレイを利用して、様々な疾患における HYAL4 の発現亢進を検証した。

4. 研究成果

平成 24 年度は、HYAL4 の基質認識機構の解析を中心に行った。マウス Hyal4 とヒト HYAL4 の様々なキメラ酵素を作製し、新規に開発した方法で酵素反応を定量的に解析し、各キメラ酵素の基質特異性を調べた。また、点変異を導入した酵素も作製し、変異体酵素についても基質特異性を調べ、どのアミノ酸残基が基質特異性の決定に最も重要であるのかを同定することに成功した。本成果は、国際学術雑誌 *Journal of Biological Chemistry* に掲載された。

また、HA に対する作用が CS に対する作用よりも強いと考えられていた二種類の HYAL (HYAL1 と PH-20) について、新規に開発した方法で酵素活性を定量的に解析し、実は同程度に CS にも作用することを初めて明らかにした。生物の進化と CS と HA の分布を考え、HYAL は本来 CS 加水分解酵素としての働きが主要であった、という新しい仮説を提唱した。この成果は国際学術雑誌

Biomolecules に掲載された。

平成 25 年度は、HYAL4 の発現解析、基質認識機構の解析を行うとともに、HYAL4 の基質認識機構の解明に必要なオリゴ糖基質を効果的に作製する方法を開発した。

亜臨海水を用いた加水分解法をはじめ CS に適用し、大量のオリゴ糖が効率的に得られる条件を検討、決定した。この方法は、近年様々な分野で利用されつつある CS オリゴ糖を、大量かつ安価に提供できる画期的なものであり、本法の有効利用が期待できる。本成果は、国際学術雑誌 *Carbohydrate Research* に掲載された。

また、マウス Hyal4 とヒト HYAL4、あるいはヒト HYAL1 との様々なキメラ酵素や点変異を導入した酵素も作製し、変異体酵素についても基質特異性を調べ、どのアミノ酸残基が HYAL4 や HYAL1 の基質特異性の決定に関与しているのかを検討した。さらに、HYAL4 の詳細な発現部位や発現時期を解析し、疾患に伴う HYAL4 の発現の変化を調べ、疾患と HYAL4 との相関を解析した。いくつかの癌における高発現が見いだされた。

平成 26 年度は、HYAL4 の発現解析、基質認識機構の解析、Hyal4 ノックアウトマウス作成のためのターゲティングベクターの構築、酵母を用いた活性のある HYAL4 の大量調製に成功した。HYAL4 の発現解析に関して、発生段階の異なるマウス脳における Hyal4 の発現について、他の HYAL とともに調べた。残念ながら、脳内で HYAL4 は殆ど発現していなかった。また、細胞内における発現部位を、免疫組織染色を用いて調べ、初期エンドソーム内に存在することを示唆する結果を得た。HYAL4 と HYAL1 のキメラ酵素を複数作成し、その基質特異性を調べて、GalNAc と GlcNAc の基質認識の違いに関わるアミノ酸配列の絞り込みに成功した。これらの成果については、複数の国内および国際学会において発表した。Hyal4 ノックアウトマウスの作成に関しては、様々な事由により遅れていたが、ようやくターゲティングベクターの構築に成功し、現在 ES 細胞への導入を試みている。酵母を用いた HYAL4 の大量調製も行い、その酵素活性を測定したところ、十分な活性が得られた。本成果については、現在論文作成中である。大量に得られた酵素を用いて、脊髄損傷治療等へ応用できないか、現在研究を進展させている。また、上記の各成果の一部は、国際学術雑誌 *Cellular and Molecular Biology Letters* に総説として報告した。

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 6 件)

1. Shuhei Yamada, *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 2015, 20, 196-212. “Catabolism of chondroitin sulfate” (査読有) DOI:

10.1515/cmb1e-2015-0011

2. Shuji Mizumoto, Shuhei Yamada, and Kazuyuki Sugahara, **BioMed Res. Int.**, 2014, 2014, Article ID 495764, 24 pages. "Human genetic disorders and knockout mice deficient in glycosaminoglycan" (査読有) DOI: 10.1155/2014/495764
3. Shuhei Yamada, Keiichiro Matsushima, Haruo Ura, Nobuyuki Miyamoto, Kazuyuki Sugahara, **Carbohydr. Res.**, 2013, 371, 16-21. "Mass preparation of oligosaccharides by hydrolysis of chondroitin sulfate polysaccharides with subcritical water microreaction system" (査読有) DOI: 10.1016/j.carres.2013.01.024.
4. 山田修平, 応用糖質科学, 2012, 2 (2),104-110, "新規のコンドロイチン硫酸に特異的な加水分解酵素" (査読有) URL: http://jsag.jp/jp/htmls/pub/bag_jtop.html
5. Tomoyuki Kaneiwa, Anzu Miyazaki, Ryo Kogawa, Shuji Mizumoto, Kazuyuki Sugahara, and Shuhei Yamada[#], **J. Biol. Chem.**, 2012, 287 (50), 42119-42128. "Identification of amino acid residues required for the substrate specificity of human and mouse chondroitin sulfate hydrolase (conventional hyaluronidase-4)" (査読有) [#]Corresponding author. DOI: 10.1074/jbc.M112.60693
6. Tomoko Honda, Tomoyuki Kaneiwa, Shuji Mizumoto, Kazuyuki Sugahara, and Shuhei Yamada[#], **Biomolecules**, 2012, 2, 549-563. "Hyaluronidases have strong hydrolytic activity toward chondroitin 4-sulfate comparable to that for hyaluronan" (査読有) [#]Corresponding author. DOI: 10.3390/biom2040549

[学会発表](計 29 件)

1. 横井友哉、松崎南美、榎谷晃明、坪井誠、菅原一幸、山田修平
日本薬学会第 135 年会 2015.3.28 デザイン・クリエイティブセンター神戸 (神戸)
「サケ鼻軟骨由来のコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの構造解析」
2. Yuka Oiwa, Shuji Mizumoto, Ryoji Kojima, Tadashi Nagamatsu, Shuhei Yamada, Expression Analysis of Hyaluronidases in the Mouse Brain during Development, **Joint Meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research "Integrating Glycoscience from Biology and Chemistry to Medicine"**, 2014.11.16, Honolulu, Hawaii, USA.
3. Yuka Oiwa, Shuji Mizumoto, Ryoji Kojima, Tadashi Nagamatsu, Shuhei Yamada, Expression Analysis of Hyaluronidases in the Mouse Brain during Development, **Joint Meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research "Glycans in Neuroscience"**, 2014.11.16, Honolulu, Hawaii, USA.

4. 山田修平

- 第 8 回東北糖鎖研究会 2014.10.10 岩手医科大学 (矢巾町、岩手) (招待講演)
「グリコサミノグリカンの代謝」
5. Kazuyuki Sugahara, Shuji Mizumoto, Yusuke Yoshikawa, Shuhei Yamada, and Kosei Takeuchi, Novel CS-E-Binding Proteins in Mouse Brain That May Be Involved in the Neurite Outgrowth Promoting Mechanism through Chondroitin Sulfate E-Type, **Gordon Research Conference on Proteoglycans 2014**, 2014.7.7-10 Andover, USA.
6. 岩月遥奈、水本秀二、金岩知之、菅原一幸、山田修平
第 60 回日本薬学会東海支部総会 2014.7.5 鈴鹿医療科学大学 (鈴鹿)
「ヒトヒアルロニダーゼの基質認識に必要なアミノ酸残基の解析」
7. 森本千夏、野村優美子、水本秀二、山田修平
第 60 回日本薬学会東海支部総会 2014.7.5 鈴鹿医療科学大学 (鈴鹿)
「コンドロイチン硫酸特異的な加水分解酵素ヒアルロニダーゼ-4 の細胞内局在の解析」
8. 大岩友香、水本秀二、小島良二、永松正、山田修平
第 60 回日本薬学会東海支部総会 2014.7.5 鈴鹿医療科学大学 (鈴鹿)
「発生段階の異なるマウス脳におけるヒアルロニダーゼファミリーメンバーの発現解析」
9. 山田修平、本田智子、金岩知之、水本秀二、菅原一幸
第 46 回日本結合組織学会学術大会第 61 回マトリックス研究会大会合同学術集会 2014.6.6 ウィンク愛知 (名古屋)
「コンドロイチン硫酸代謝におけるヒアルロニダーゼの役割」
10. 松崎南美、西田祐美、高橋巖、那谷耕司、山田修平
日本薬学会第 134 年会 2014.3.28 熊本市総合体育館 (熊本)
「妊娠マウスにおける腓臓ランゲルハンス島のヘパラン硫酸の構造変化」
11. Shuhei Yamada, Role of Hyaluronidases in the Catabolism of Chondroitin Sulfate, **10th International Symposium on Biochemical Roles of Eukaryotic Cell Surface Macromolecules**, 2014.1.23, Kolkata, India. (招待講演)
12. Kazuyuki Sugahara, Shuji Mizumoto, Yusuke Yoshikawa, Shuhei Yamada, Kosei Takeuchi, Yoshiaki Nakayama, Akira Kurosaka, Keiichiro Matsushima, Nobuyuki Miyamoto, Wataru Takada, Hirofumi Kodera, Naomichi Matsumoto, Hirofumi Saitsu, Gunnar Dick, James W. Fawcett, Jessica C. F. Kwok, Integrated neuroglycobiology for proteoglycans and chondroitin sulfate-binding proteins, **International Symposium on**

Glyco-Neuroscience, 2014.1.11, 淡路夢舞台国際会議場(淡路)

13. 山田修平、金岩知之、宮崎杏、古川諒、水本秀二、菅原一幸
第 86 回日本生化学会大会 2013.9.11 パシフィック横浜(横浜)
「ヒトとマウスにおけるコンドロイチン硫酸加水分解酵素の基質特異性の違いに関わるアミノ酸残基の同定」

14. 山田修平
糖鎖化学中部拠点 第 11 回「若手の力」フォーラム 2013.9.9 名古屋市立大学(名古屋)
「グリコサミノグリカンの生合成・代謝・機能の研究」(招待講演)

15. Shuhei Yamada, Studies on the role of hyaluronidases in the catabolism of chondroitin sulfate, **8th International Conference on Proteoglycans**, 2013.8.26, Frankfurt, Germany. (招待講演)

16. Kazuyuki Sugahara, Shuji Mizumoto, Kittivan Kalayanamitra, Shuhei Yamada, and Prachya Kongtawelert, Novel highly sulfated hexasaccharide sequences isolated from chondroitin sulfate of shark fin cartilage: Insights into the sugar sequences involved in brain development, **8th International Conference on Proteoglycans**, 2013.8.25-29, Frankfurt, Germany.

17. 山田修平、松嶋景一郎、浦晴雄、宮本宣之、菅原一幸
第 32 回日本糖質学会年会 2013.8.7 大阪国際交流センター(大阪)
「マイクロ化学プロセスを利用したコンドロイチン硫酸オリゴ糖の大量調製方法の確立」

18. 山田修平、松嶋景一郎、浦晴雄、宮本宣之、菅原一幸
第 59 回日本薬学会東海支部総会 2013.7.6 名城大学(名古屋)
「亜臨界水を利用したコンドロイチン硫酸オリゴ糖の大量調製」

19. 松嶋景一郎、浦晴雄、宮本宣之、菅原一幸、山田修平、水本秀二
北海道立総合研究機構 技術移転フォーラム 2013 2013.5.17 札幌ガーデンパレス(札幌)
「マイクロ化学プロセスによる新規糖鎖食品の開発」

20. Kazuyuki Sugahara, Shuhei Yamada, Shuji Mizumoto, Keiichiro Matsushima, Haruo Ura, and Nobuyuki Miyamoto, Mass Preparation of Oligosaccharides with Intestinal Absorption Capacity by Hydrolysis of Chondroitin Sulfate Polysaccharides with Subcritical Water Microreaction System, **13th International Conference of FFC and 1st International Symposium of Academic Society for Functional Foods and Bioactive Compounds**, 2013.5.11-12, 京都府立医大(京都)

21. 山田修平、本田智子、金岩知之、水本秀二、菅原一幸
日本薬学会第 133 年会 2013.3.29 パシフィック横浜(横浜)
「ヒアルロニダーゼはコンドロイチン 4-硫酸に対しヒアルロン酸と同程度の強い加水分解活性をもつ」

22. 山田修平、本田智子、金岩知之、水本秀二、菅原一幸
第 85 回日本生化学会大会 2012.12.15 マリンメッセ福岡(福岡)
「ヒアルロニダーゼの本来の基質はヒアルロン酸ではなくコンドロイチン硫酸」

23. 山田修平、金岩知之、宮崎杏、古川諒、水本秀二、菅原一幸
第 31 回日本糖質学会年会 2012.9.20 鹿児島市民文化ホール(鹿児島)
「コンドロイチン硫酸に特異的な加水分解酵素に関する研究」

24. 本田智子、金岩知之、水本秀二、菅原一幸、山田修平
第 31 回日本糖質学会年会 2012.9.20 鹿児島市民文化ホール(鹿児島)
「ヒトヒアルロニダーゼのコンドロイチン 4 硫酸に対する高い加水分解活性」

25. 金岩知之、宮崎杏、水本秀二、菅原一幸、山田修平
第 49 回日本生化学会北海道支部例会 2012.7.20 北海道大学(札幌)
「コンドロイチン硫酸特異的加水分解酵素ヒアルロニダーゼ-4 の酵素活性に必要なアミノ酸残基の同定」

26. 古川諒、金岩知之、宮崎杏、菅原一幸、山田修平
第 49 回日本生化学会北海道支部例会 2012.7.20 北海道大学(札幌)
「コンドロイチン硫酸特異的加水分解酵素の発現組織の解析およびその機能の研究」

27. 本田智子、金岩知之、水本秀二、菅原一幸、山田修平
第 49 回日本生化学会北海道支部例会 2012.7.20 北海道大学(札幌)
「ヒトヒアルロニダーゼはコンドロイチン硫酸 A をヒアルロン酸と同程度の速度で加水分解する」

28. 山田修平、金岩知之、宮崎杏、水本秀二、菅原一幸
第 58 回日本薬学会東海支部 総会・大会 2012.7.7 静岡県立大学(静岡)
コンドロイチン硫酸特異的加水分解酵素ヒアルロニダーゼ-4 の酵素活性に必要なアミノ酸残基の同定

29. 古川諒、金岩知之、宮崎杏、菅原一幸、山田修平
日本薬学会北海道支部 138 例会 2012.6.16 札幌コンベンションセンター(札幌)
「コンドロイチン硫酸特異的加水分解酵素の発現組織の解析および精製における機能の研究」

〔図書〕(計3件)

1. Kazuyuki Sugahara, Shuji Mizumoto, and Shuhei Yamada, In **Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials** (Kobashi, S. and Muellen, K., eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, in press, 2015, "Chondroitin sulfate" (査読有)
2. Shuhei Yamada, In **Adv. Exp. Med. Biol. Vol 842, Biochemical Roles of Eukaryotic Cell Surface Macromolecules** (Chakrabarti, A. and Surolia, A., eds.), Springer, 185-197, 2015, "Role of hyaluronidases in the catabolism of chondroitin sulfate" (査読有)
3. Shuhei Yamada, In **Adv. Exp. Med. Biol. Vol 749, Biochemical Roles of Eukaryotic Cell Surface Macromolecules** (Sudhakaran, P. and Surolia, A., eds.), Springer, 47-56, 2012, "Chondroitin sulfate-specific novel hydrolase in human" (査読有)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称:コンドロイチン硫酸オリゴ糖を製造する方法

発明者:松嶋景一郎, 浦晴雄, 鎌田樹志, 宮本宜之, 菅原一幸, 山田修平

権利者:北海道立総合研究機構、丸共水産株式会社、北海道大学

種類:特願

番号:2013-032525

出願年月日:2013年3月21日

国内外の別:国内

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://www-yaku.meijo-u.ac.jp/Research/Laboratory/pathobio/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

山田 修平 (YAMADA, Shuhei)

名城大学・薬学部・教授

研究者番号:70240017

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

菅原 一幸 (SUGAHARA, Kazuyuki)

北海道大学・先端生命科学研究院・名誉教授

研究者番号:60154449

山下 匡 (YAMASHITA, Tadashi)

麻布大学・獣医学部・教授

研究者番号:30220338

水本 秀二 (MIZUMOTO, Shuji)

名城大学・薬学部・助教

研究者番号:40443973