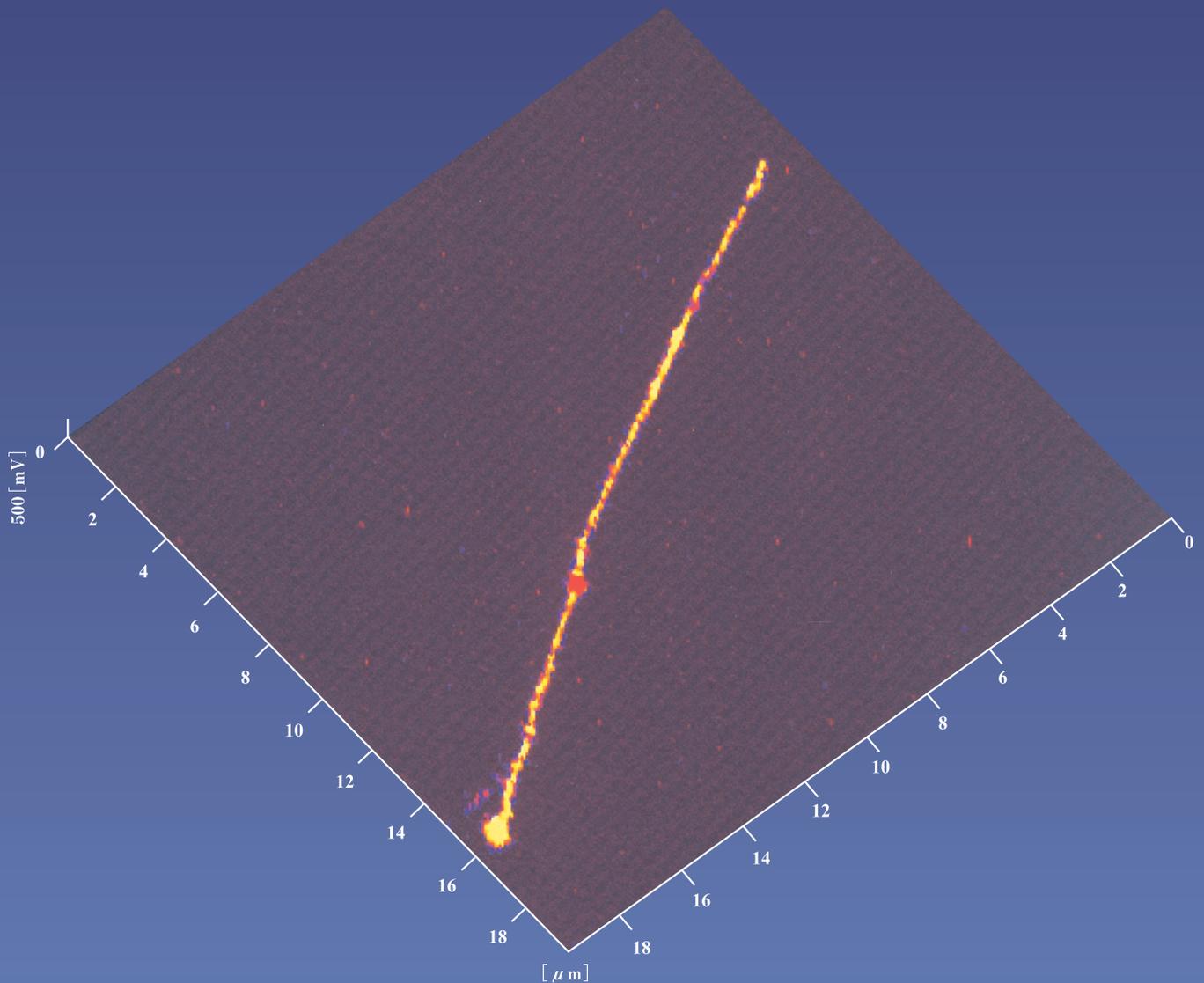


生研機構 基礎研究推進事業

成果発表会

(2002年度終了課題)



Bio-oriented Technology Research Advancement Institution
生物系特定産業技術研究推進機構

表紙の説明

表紙は、 λ ファージ DNA 上の 15 塩基の配列を検出し、その位置をナノレベルで計測した画像です。本研究事業で、DNA 解析用に開発した走査型光プローブ原子間力顕微鏡 (SNOM/AFM) を使って、世界で初めてナノレベルでの可視化に成功しました。ここでは見やすくするため、DNA (黄色の線) とその上の塩基配列 (赤色の点) を、それぞれ疑似カラーで立体的に表示しています。

本研究により、従来、蛍光顕微鏡で観察されていた FISH (蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション) 法の分解能を光学限界を超えてナノメートルレベルにまで高め、DNA 上の遺伝子領域を高感度かつ直接的に同定する新たなナノ FISH 法を実現できることが明らかになりました。

(この研究成果の発表課題名: 「ナノ FISH 法の開発」(食品総合研究所 大谷 敏郎))

ご挨拶

生物系特定産業技術研究推進機構

理事長 堤 英 隆



生研機構の業務の推進につきまして、日頃より格別のご理解、ご支援をいただいておりますことに、深く感謝申し上げます。

平成8年度から提案公募方式で実施しております「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」につきましては、昨年度に引き続き3期目の卒業生を送り出すことになりました。昨年度までに終了した課題においては、我が国のライフサイエンスの発展に寄与するような優れた成果が多々生み出され、これを基礎として、新たな実用化段階の成果を目指した研究も推進されております。

幸いなことに、平成14年度に終了する10課題においても、①光学的な限界を超えて遺伝子位置を計測するためのナノFISH法の開発、②相同組換えによる標的遺伝子の破壊技術の開発、③受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発など、将来的に我が国のライフサイエンスの発展を支えていくような素晴らしい成果をあげることができました。

今回の成果発表会は、これらの成果をあらためて、関係する研究者をはじめ、世の皆様方に披露することによって、当該研究分野の発展に寄与するのみならず、応用・実用研究の段階を経て、我が国の生物系特定産業の更なる発展に寄与することを狙いとしております。

なお、生研機構は、政府の特殊法人改革の一環として平成15年10月より独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構として新たなスタートを切ることを予定しております。新たな組織においても、産学官連携のコアとして、引き続き我が国のライフサイエンスを支えてまいります。皆様方の暖かいご支援とご指導をいただければ幸いです。

平成15年3月

3月6日(木曜日)

酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出 (岡山大学 松本 英明)	1
作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発 (国際農林水産業研究センター 江川 宜伸)	3
植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発 (農業生物資源研究所 高辻 博志)	5
ホモログス・リコンビネーションによる標的遺伝子の破壊技術の開発と応用 (東京都立大学 和田 正三)	7

3月7日(金曜日)

受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発 (東北大学 佐藤 英明)	9
バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究 (農業生物資源研究所 橋爪 一善)	11
高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究 (京都大学 松野 隆一)	13
細胞に作らせる糖鎖ライブラリーと機能性糖鎖高分子 (慶應義塾大学 佐藤 智典)	15
病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療 (農業環境技術研究所 松本 直幸)	17
ナノFISH法の開発 (食品総合研究所 大谷 敏郎)	19

研究課題名

酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出

研究項目及び実施体制

酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出
(松本英明/岡山大学資源生物科学研究所)



松本英明

研究の目的

酸性土壌は世界の農耕地の30～40%を占め、約4億ヘクタール存在すると言われ、世界中に広く分布し、日本を含む東南アジア地域にも多い。酸性土壌は農耕地としていわゆる問題土壌の一つであるが、その原因は酸性下で溶解するアルミニウムイオン(Al^{3+})による根の伸長阻害である。本課題ではAl毒性を解明するとともに耐性機構を解明し、Al耐性遺伝子を発見し、形質転換植物の作出に利用することを目的とした。

研究の内容

- I. Al毒性機構について以下の点を研究した。①Al障害の指標となるカロスと原形質連絡の阻害、②Alによる酸素ストレス、③Alによる細胞壁、原形質膜機能障害、④Alによる細胞分裂阻害。
- II. Al耐性機構に関して、有機酸分泌を中心に以下の点を研究した。①Alによるリンゴ酸分泌とシグナル伝達、②原形質膜上のリンゴ酸トランスポーターの実体を遺伝子の面から初めて解明し、その機構をアフリカツメガエルの卵母細胞を用いて電気生理学的に解明、③新たに発見したコムギリリンゴ酸トランスポーター遺伝子をイネに導入した。

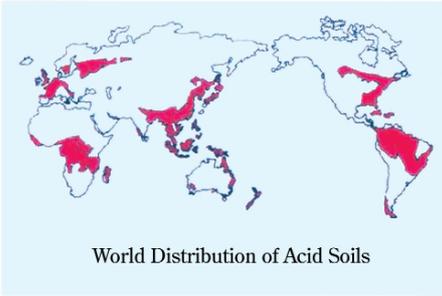
主要な成果

- I. Al毒性について
 - ①原形質連絡を介した細胞間物質輸送がAlにより阻害された。
 - ②Alによりミトコンドリアの機能が低下し、活性酸素が誘発され、脂質過酸化が引き起こされた。
 - ③Alにより細胞壁の伸展性が阻害され、原形質膜の表面荷電が脱分極した。
 - ④Alにより細胞分裂に関わる紡錘体(チューブリン)が消滅した。
- II. Al耐性機構について
 - ①準同質遺伝子系統のAl耐性(ET8)と感受性(ES8)コムギを用い、ET8のリンゴ酸分泌はAl処理後数分以内に起こり、その過程に48KDのタンパクリン酸化酵素の一過的活性化が起こった。
 - ②ET8根端でより高い発現を示すcDNAを見つけた。この遺伝子の構造を解析するとともに、機能解析によりリンゴ酸トランスポーターであり、植物由来のAl耐性遺伝子であることを初めて明らかにし、*ALMT-1*と名付けた。
 - ③*ALMT-1*をリンゴ酸を分泌しないイネに導入すると、Alによってリンゴ酸を分泌した。
 - ④Al耐性を示す真菌を土壌から分離し、その耐性遺伝子を解析した。

主な発表論文

- Sivaguru M., *et al.* : Aluminum-induced $1 \rightarrow 3\text{-}\beta\text{-D-glucan}$ inhibits cell-to-cell trafficking of molecules through plasmodesmata : A new mechanism of aluminum toxicity in plants : *Plant Physiol.*, 124 : 991-1005 (2000)
- Ahn S. J., *et al.* : Aluminum inhibits the H^+ -ATPase activity by permanently altering the plasma membrane surface potentials in squash roots : *Plant Physiol.*, 126 : 1381-1390 (2001)
- Ezaki B., *et al.* : Different mechanisms of four aluminum (Al)-resistant transgenes for Al toxicity in Arabidopsis : *Plant Physiol.*, 127 : 918-927 (2001)
- Osawa H. and Matsumoto, H. : Possible involvement of protein phosphorylation in aluminum-responsive malate efflux from wheat root apex : *Plant Physiol.*, 126 : 411-420 (2001)
- Yamamoto Y., *et al.* : Aluminum toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and the production of reactive oxygen species in plant cells : *Plant Physiol.*, 128 : 63-72 (2002)

研究のイメージ



World Distribution of Acid Soils

世界における分布



強い赤色を示す

世界中に広く分布する酸性土壌は問題（不良）土壌の主要なものであり、根の伸長を強く抑制する。その原因は酸性で溶解するアルミニウムイオン（Al）と考えられている。

↓ 準同質遺伝子系統の Al 耐性コムギ (ET8) と感受性コムギ (ES8) の Al に対する応答反応



Al 障害の一例

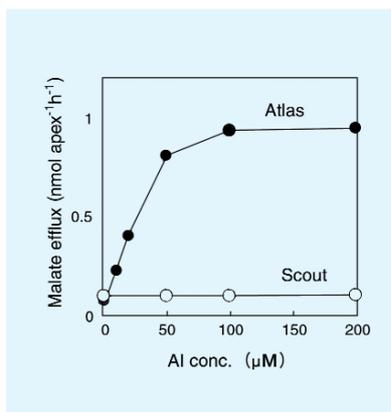


Al の集積

Al による活性酸素の発生

Al 障害は多岐に及ぶが、その一つは根端に特異的に集積した Al が活性酸素を発生する。

↓ Al 排除機構に基づく Al 耐性植物の作出

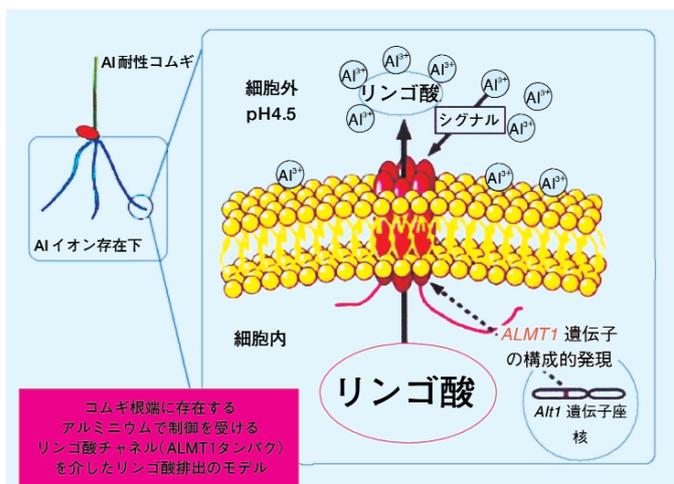


Al 耐性コムギ (Atlas) は根から大量のリンゴ酸を分泌して根圏の毒性 Al とキレート結合を形成し無毒化する

Al 耐性コムギ ET8 の根端で発現する



リンゴ酸トランスポーター遺伝子を発見した (ALMT1)



Al³⁺ 特異的にリンゴ酸を分泌するチャネルは酸性土壌における Al 耐性植物の作出に大いに期待される

研究課題名

作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発

研究項目及び実施体制(◎は総括研究代表者)

- ①作物の生殖成長期における耐暑性の生理学および遺伝学的解明
(◎江川宜伸/独立行政法人国際農林水産業研究センター沖縄支所)
- ②耐暑性に関与する遺伝子の夏作物への導入とその組換え体の解析
(高倍鉄子/名古屋大学大学院生命農学研究科)
- ③アセチルコリンエステラーゼの機能解析とその遺伝子導入による作物耐暑性の向上
(桃木芳枝/東京農業大学生物産学部)



江川宜伸



高倍鉄子



桃木芳枝

研究の目的

地球温暖化は現在徐々に進行しており、今後ますます高温のため作物の低生産を余儀なくされると考えられる。夏場に頻発する異常高温の問題もあり、作物を安定的に生産するために、耐暑性作物の開発が望まれている。本研究では、植物が高温にどのように反応するか明らかにし、遺伝・育種的手法やバイオテクノロジーの手法を通じて作物の耐暑性を向上させることを目的としている。

研究の内容

- ①耐暑性サイインゲン品種の生理学的特徴を明らかにする。
- ②耐暑性に関与すると考えられるヒートショックプロテイン(HSP)の遺伝子とペルオキシソーム膜結合型活性酸素消去遺伝子(pAPX)を用いて、モデル植物とイネ、アズキ等作物の耐暑性が向上するかどうかを検討する。
- ③耐暑性インゲンマメ品種の根において、顕著な活性を示すアセチルコリンエステラーゼ(AChE)の細胞圧ポテンシャルに対する影響を調べ、水吸収能との関係を検討する。さらに、トウモロコシ幼苗からのAChE精製法を確立し、アミノ酸配列を基にAChE遺伝子の全塩基配列を決定する。
- ④既存の遺伝資源として、熱帯地域に自生するアズキ野生種の耐暑性関連遺伝子領域を特定し、アズキへの導入を試みる。

主要な成果

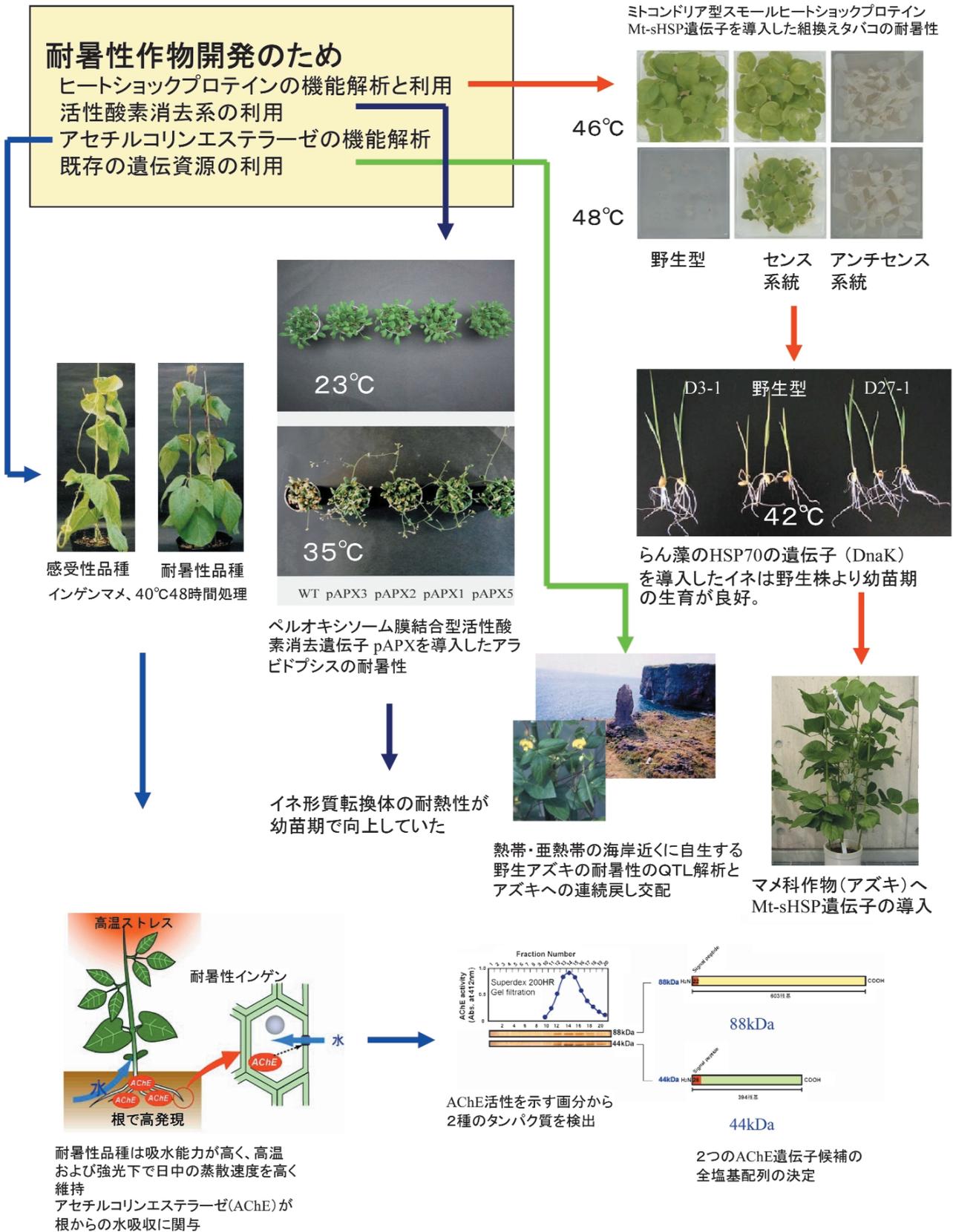
- ①サイインゲンを用いて、耐暑性品種は高温による花蕾の浸透ポテンシャル低下の程度が緩やかであること、吸水能力が高く、高温および強光下で日中の蒸散速度を高く維持できること、水吸収の制御が一部AChEによって行われていることを明らかにした。
- ②トマトのミトコンドリア型スモールヒートショックプロテイン(Mt-sHSP)が分子シャペロン機能を有し、本遺伝子を導入したタバコは耐暑性を示した。また、本遺伝子を導入したアズキの作出にも成功した。らん藻のHSP70の遺伝子(DnaK)を導入したタバコとイネは高温ストレス下で良く成長し、種子の収量が約2倍に増大した。
- ③pAPX遺伝子を導入したアラビドプシスは栄養成長期の耐熱性が向上し、生殖期での種子の収量が増大した。
- ④トウモロコシ幼苗からAChEを精製し、活性を示す精製画分に88および44kDaの2種のタンパク質を確認した。これら2つのAChE候補タンパク質のN末端および内部アミノ酸配列を分析し、遺伝子の全塩基配列を決定した。
- ⑤アズキのDNAマーカー地図を作製し、熱帯地域に自生するアズキ野生種に耐暑性(高温下で花粉稔性を高く維持する性質)に関連する2種類のQTLが存在することを明らかにし、アズキへの導入を試みている。

主な発表論文

- Liu J. & M. Shono: Characterization of mitochondria-located small heat shock protein from tomato (*Lycopersicon esculentum*): *Plant Cell Physiol.* 40:1297-1304 (1999)
- Shi W. M., *et al.*: Cloning of peroxisomal ascorbate peroxidase gene from barley and enhanced thermotolerance by overexpressing in *Arabidopsis thaliana*: *Gene* 234: 315-321 (2001)
- Ono K., *et al.*: Overexpression of DnaK from a halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* enhances the high-temperature tolerance of tobacco during germination and early growth: *Plant Sci.*, 160: 455-461 (2001)
- Suzuki K., *et al.*: Decrease of pollen stainability of green bean at high temperatures and relationship to heat tolerance: *J. Ame.Soc. Hort. Sci.*, 126 (5):571-574 (2001)
- Tsukaguchi T., *et al.*: Water status of flower buds and leaves as affected by high temperature in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars contrasting heat tolerance: *Plant Prod. Sci.*, in press.
- Momonoki Y. S., *et al.*: Acetylcholine as a signaling system to environmental stimuli in plants III. Asymmetric solute distribution

controlled by ACh in gravistimulated maize seedlings : *Plant Prod. Sci.*, 1 : 83-88 (1998)

研究のイメージ



研究課題名

植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発

研究項目及び実施体制(◎は総括研究代表者)

- ①植物形態形成を制御するジンクフィンガー型転写因子の機能解析
(◎高辻博志／独立行政法人農業生物資源研究所)
- ②植物形態形成の可変性を支配するホメオドメイン型蛋白質の機能解析
(青山卓史／京都大学化学研究所)



高辻博志

青山卓史

研究の目的

植物の形態形成や細胞分化の制御は作物の生産性や園芸植物の観賞性などと深く関わっており、その制御には転写因子が重要な役割を果たしていると考えられる。本研究では、ジンクフィンガー型とホメオドメイン型の転写因子に着目し、枝分かれや shade avoidance 反応などの形態形成や稔性に関わる花粉細胞の分化・発達の制御に関わる転写因子を見出し、その作用の分子機構を解明することを目的とした。

研究の内容

ペチュニアのジンクフィンガー(ZF)型転写因子およびアラビドプシスのホメオドメイン(HD)型転写因子について、突然変異体や形質転換体を用いる逆遺伝学的手法によって形態形成、細胞分化における機能を見出し、細胞形態や植物ホルモンの内性量と応答性の解析、標的遺伝子の探索、標的遺伝子の認識機構などを通じてそれぞれの転写因子の作用の分子機構の解明を図った。

主要な成果

- ①休眠中の腋芽基部に発現し、枝分かれの制御に関わる ZF 型転写因子 LIF を見出し、その作用は内性サイトカイニン量の変化を介して表れることを見出した。
- ②葯のタペート層の発達制御に関与する ZF 転写因子 TAZ1 および花粉の減数分裂に関与する ZF 型転写因子 MEZ1 を見出し、これらの遺伝子をそれぞれ用いて雄性不稔形質を導入できることを示した。また、PhSUP1 は葯の形態形成にも関与していることを見出した。
- ③植物の ZF 型転写因子に特徴的な標的 DNA 認識機構を見出した。
- ④花のホメオティック遺伝子 *pMADS3* が雄ずいと雌ずいの特異性を決定する機能および花序分裂組織への回帰を抑制する機能をもつことを明らかにした。
- ⑤ HD 型転写因子 ATHB2 が shade avoidance 反応に関与していることを明らかにし、標的遺伝子の探索から、その過程には HD 型転写因子相互の遺伝子発現制御が介在していることを見出した。
- ⑥ HD 型転写因子 ATHB10/GL2 がトライコムおよび根毛のパターン形成と細胞形態形成の両方を制御しており、ATHB10/GL2 の標的遺伝子として見出されたフォスホリパーゼ D 遺伝子はその制御過程に関与していることを見出した。

主な発表論文

- Kapoor S., *et al.* : Silencing of the tapetum-specific zinc finger gene *TAZ1* causes premature degeneration of tapetum and pollen abortion in petunia : *Plant Cell*, 14 : 2353-2367 (2002)
- Kapoor M., *et al.* : Role of petunia *pMADS3* in determination of floral organ and meristem identity, as revealed by its loss of function : *Plant J.* 32 : 115-127 (2002)
- Yoshioka K., *et al.* : The plant zinc-finger protein ZPT2-2 has a unique mode of DNA interaction : *J. Biol. Chem.* 276 : 35802-35807 (2001)
- Ohgishi M., *et al.* : Negative autoregulation of the Arabidopsis homeobox gene *ATHB-2*. *Plant J.*, 25 : 389-398 (2001)
- Ohashi Y., *et al.* : Entopically additive expression of *GLABRA2* alters the frequency and spacing of trichome initiation : *Plant J.*, 29 : 359-369 (2002)

研究のイメージ

明らかになった転写因子機能



研究課題名

ホモログス・リコンビネーションによる標的遺伝子の破壊技術の開発と応用

研究項目及び実施体制(◎は総括研究代表者)

- ①半数世代の植物体を利用した相同組み換えによる遺伝子破壊技術の推進
(◎和田正三／東京都立大学大学院理学研究科)
- ②高等植物における相同組み換え系の解析と遺伝子ターゲティング技術の開発
(市川裕章／独立行政法人農業生物資源研究所)



和田正三



市川裕章

研究の目的

機能未知の遺伝子機能の解析には相同組み換えによる遺伝子破壊が有効であるが、一般に植物では導入遺伝子がゲノム上にランダムに挿入され、意図的に遺伝子を特定領域に組み込むことは極めて難しい。本研究では、塩基配列が既知の標的遺伝子を、DNA 相同組み換えを介して破壊あるいは改変する手法、および標的遺伝子の機能発現を抑制する遺伝子サイレンシング技術の開発を目的とした。

研究の内容

半数世代が長い生活史をもつ生物では相同組み換えの頻度が高いものが多いことに着目し、シダ配偶体やイネ葯培養カルスを用いて、標的遺伝子を破壊する技術を開発する。またシダにおける遺伝子サイレンシングに関する研究を行う。

高等植物における相同組み換え能力を向上させるため、相同組み換えやDNA修復に関与する遺伝子を単離し、解析する。また改変した標的遺伝子を二倍体植物に導入し、相同組み換えが起こった個体を効率よく選抜し、解析する。

主要な成果

- ①シダ配偶体世代において、標的遺伝子の遺伝子断片、またはそのcDNA断片をパーティクルボンバートメントにより細胞内に導入すると、エクソンであれば500bpの短い断片でも効率的に遺伝子サイレンシングを誘導できることを発見し、DNAi法と命名した。
- ②DNAi法では、PCR法で増幅したDNA断片で十分効果があること、同時に複数の遺伝子を導入しても有効であることなど、機能未知遺伝子の機能解析には簡便かつ有効な方法であることを明らかにした。この方法により phytochrome3 遺伝子の機能を解明した。
- ③副次的な結果として、解析のために用いた葉緑体光定位運動現象の光受容体の同定とその機能を明らかにした。
- ④Rad51様遺伝子など植物の相同組み換え関連遺伝子をアラビドプシスとイネより11種クローン化した。Rad52経路遺伝子の発現は、DNA損傷を誘発する γ 線照射により上昇することを見出した。またRad52経路タンパク質間の相互作用を解析し、高等植物のRad52経路タンパク質は高等動物と同様な複合体を形成することを明らかにした。
- ⑤シロイヌナズナやイネにおいて、Rad52経路遺伝子の過剰発現、CAF(chromatin assembly factor)遺伝子のノックアウト、一本鎖DNA切断酵素遺伝子の導入等により、相同組み換え頻度が向上することを見出した。
- ⑥除草剤耐性型の改変 Acetolactate synthase(ALS) 遺伝子を導入したシロイヌナズナ後代から除草剤耐性個体が選抜され、解析の結果、相同組み換え個体を得ることに成功した。イネの葯培養カルスの系においても Waxy 遺伝子の相同組み換えに成功した。

主な発表論文

- Kagawa T., *et al.* : *Arabidopsis* NPL1 : A phototropin homologue controlling the chloroplast high-light avoidance response : *Science*, 291 : 2138-2141 (2001)
- Kinoshita T., *et al.* : phot1 and phot2 mediate blue light regulation of stomatal opening : *Nature*, 414 : 656-660 (2001)
- Kasahara M., *et al.* : Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants : *Nature*, 420 : 829-832 (2002)
- Osakabe K., *et al.* : Molecular cloning and characterization of RAD51-like genes from *Arabidopsis thaliana* : *Plant Mol. Biol.*, 50 : 71-81 (2002)
- Kawai H., *et al.* : Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor : *Nature*, 421:287-290 (2003)

研究のイメージ

突然変異体の利用

遺伝子の塩基配列が既知の場合

遺伝子 → 変異体

遺伝子の塩基配列が未知の場合

- 変異体とその原因遺伝子から遺伝子の機能を解析する
- 目的遺伝子の不特定の塩基配列に変異・挿入を生じた系統を選抜・利用

標的遺伝子の特定塩基の改変には適さない

遺伝子ターゲティング

ATG ALS 遺伝子(標的配列)

AGT (Ser) 点突然変異導入
AAC (Asn) N末端欠失

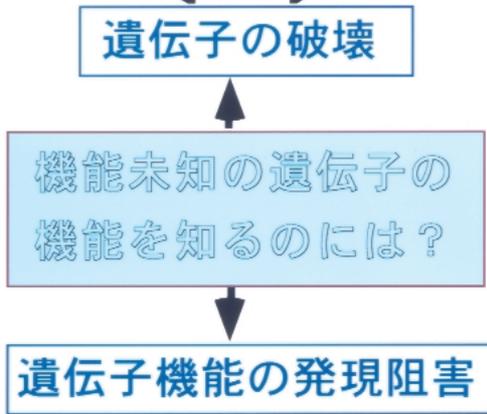
LB ALS 遺伝子ターゲティングベクター RB

遺伝子導入

除草剤耐性個体の選抜

相同組換えにより特定の配列を置換できる

T G A T C C C G A R Y G
10
(Ser) A G T
(Asn) A A C



標的遺伝子の塩基配列が既知の場合

RNAi

- 1 遺伝子断片のクローニング
- 2 RNA二重鎖用コンストラクト作製
- 3 形質転換体の選抜
- 4 遺伝子サイレンシング観察

DNAiに比べて多くの操作が必要であり、時間と労力がかかる

標的遺伝子の塩基配列が既知の場合

DNAi

- 1 ゲノムDNA(cDNA)断片をPCRで増幅
- 2 パーティクルポンプ法で導入
- 3 遺伝子サイレンシング観察

FtsZ1 targeted

Hyg^r

葉緑体の分裂阻害の例 50 μm

研究課題名

受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発

研究項目及び実施体制(◎は総括研究代表者)

- ① 卵子の死滅予防法と新しい排卵誘発法の開発
(◎佐藤英明／東北大学大学院農学研究科)
- ② 超未成熟卵子の凍結保存法と体外培養胚の作出法の開発
(星 宏良／(株)機能性ペプチド研究所)



佐藤英明



星 宏良

研究の目的

雌家畜は卵巣に多くの卵子(超未成熟卵子を含む)をもつが、大多数は死滅する。現行の排卵誘発法や卵子の体外成熟・体外受精技術では、卵子の死滅は予防できず、また、きわめて少数の受精可能卵子しか作れない。優良雌家畜を使って家畜の改良を図るには、卵巣にある多くの卵子を受精可能にする技術の開発が必要である。本研究では、新しい発想に基づき、血管系を調節する排卵誘発法や超未成熟卵子の体外培養法を開発する。

研究の内容

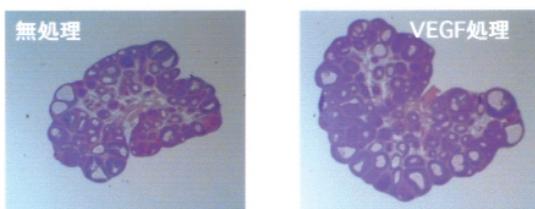
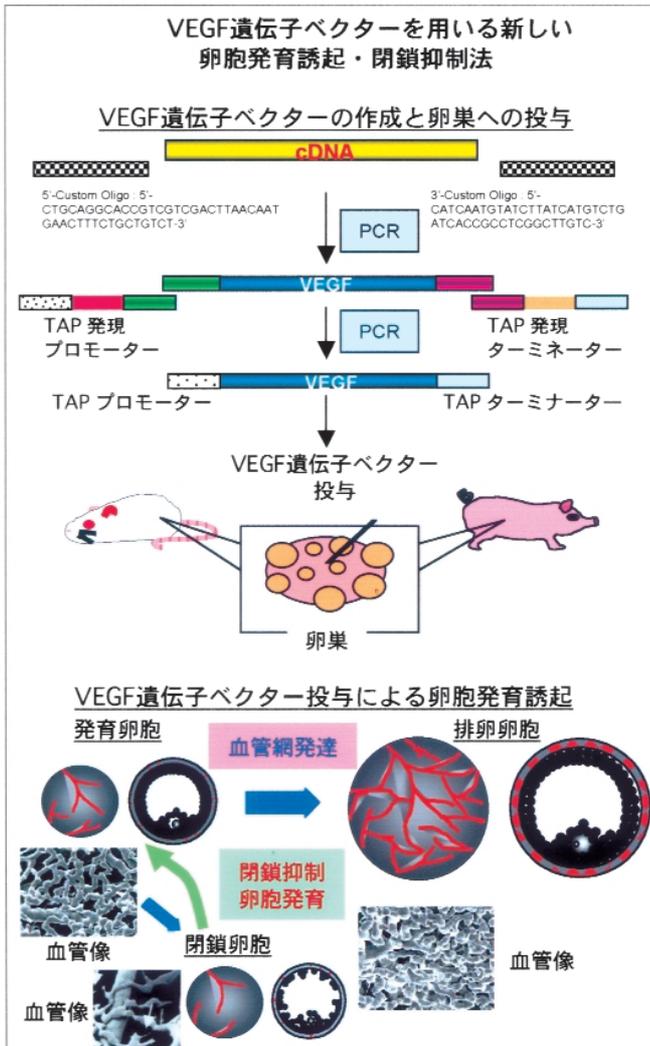
- ① 卵子は発育・成熟卵胞の中で受精可能となるが、卵胞の発育・成熟を促進する性腺刺激ホルモンは卵巣の血管網を通じて卵胞に到達し、その効果を発揮する。血管網が退行すると卵胞は閉鎖し、卵子は死滅する。そこで、卵胞血管網の増殖促進因子、卵母細胞の生存促進因子およびこれらの遺伝子を同定し、同定した因子や遺伝子を用いる卵胞発育促進・閉鎖抑制法を開発する。
- ② 超未成熟卵子の発育と成熟のメカニズムを明らかにするとともに、発育促進因子の検索・同定を行い、超未成熟卵子の完全発育を可能とする体外培養システムを確立する。また、超未成熟卵子における低温や凍結時における損傷やその防御のメカニズムを解明し、凍結融解後に高い生存性を示す超未成熟卵子の凍結保存法を開発する。

主要な成果

- ① 甲状腺ホルモンがラット卵巣の血管新生を促進し、死滅へ至る卵子を救助することを明らかにした。また、甲状腺ホルモンが卵巣の血管内皮細胞増殖因子(特に VEGF)の発現を促進することを明らかにし、さらに TAP 発現ベクターに組み込んだ VEGF 遺伝子を卵巣に注射することによって、卵胞発育促進・閉鎖抑制に成功した。このようにして救助した卵子由来の新生子の誕生に成功した。
- ② ブタ及びミニブタ卵巣の卵胞発育・閉鎖と血管網の相関を明らかにするとともに、卵巣血管網の増殖に係わる因子とその遺伝子を同定した。
- ③ ブタ及びミニブタ卵巣皮質にブタ VEGF 遺伝子を直接注射し、卵胞発育促進・閉鎖抑制に成功した。
- ④ 超未成熟卵子を含むウシ前胞状卵胞の発育に必須の生理活性因子を同定し、また、長期間(一ヶ月以上)、卵胞の体外発育培養を可能とする卵胞-間質細胞共培養法を開発した。
- ⑤ 超未成熟卵子を完全発育させる体外培養法の開発に成功し、体外成熟・体外受精・体外胚培養で移植可能胚(胚盤胞)を作出した。この胚を仮腹牛に移植したところ、受胎を確認し、現在妊娠継続中である。
- ⑥ 前胞状卵胞の凍結保存形態の工夫、及びガラス化凍結保存法の改良により卵胞の凍結保存を可能にした(特許申請中)。
- ⑦ 培養下での卵成熟開始に伴う MAP キナーゼの活性化にヒアルロン酸・CD44 系のシグナルが係わることを明らかにした。

主な発表論文

- Jiang J.Y., *et al.* : Follicular microvasculature in the porcine ovary : *Cell Tissue Res.*, 310 : 93-101 (2002)
- Jiang J.Y., *et al.* : Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles : *Reproduction* : in press.
- Shimizu T., *et al.* : Changes of messenger RNA expression of angiogenic factors and related receptors during follicular development in gilts : *Biol.Reprod.*, 67 : 1846-1852 (2002)
- Itoh T., *et al.* : Growth, antrum formation, and estradiol production of bovine preantral follicles cultured in a serum-free medium : *Biol.Reprod.*, 67 : 1099-1105 (2002)
- Itoh T., Hoshi H. : Efficient isolation and long-term viability of bovine small preantral follicles in vitro : *In Vitro Cell Dev. Biol.*, 36 : 235-240 (2000)



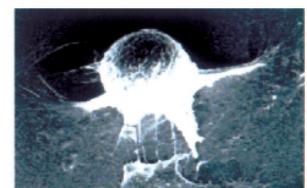
VEGF遺伝子ベクター投与後のラット卵巣



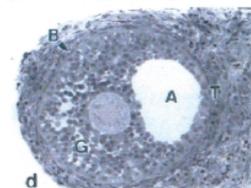
VEGF遺伝子ベクター投与後のブタ卵巣



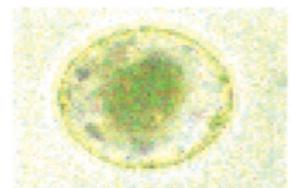
ガラス化凍結保存初期前胞状卵胞を体外培養した後のDNA合成細胞



体外培養した初期前胞状卵胞の3次元形態



インスリン, FSH, LH存在下で13日間培養した中期前胞状卵胞の卵胞腔形成



体外成長した後期前胞状卵胞の卵子由来胚盤胞

受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発

研究課題名

バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究

研究項目及び実施体制(◎は総括研究代表者)

- ①胎盤オルガノイド構築技術の開発
(◎橋爪一善／独立行政法人農業生物資源研究所)
- ②受胎・妊娠維持機構の解明
(岡野 彰／独立行政法人農業技術研究機構畜産草地研究所)
- ③子宮・胎盤機能の分子機構の解明
(伊東 晃／東京薬科大学薬学部)
- ④胎盤再構築技術開発のための基礎的研究
(大濱紘三／広島大学医学部)



橋爪一善



岡野 彰



伊東 晃



大濱紘三

研究の目的

牛の流産や早産の多くは、胎盤の発育・機能不全に起因し、受精卵移植などによる優良形質牛の大量生産を企図しても、産子生産率が30%に満たないのが実状である。このため、その原因の究明と対応技術の開発による優良牛の安定増産技術の確立が緊急の課題となっている。本研究では、着床・受胎に必要な子宮内膜情報を明らかにするとともに、牛の子宮および胎盤様構造体を培養細胞から組織工学的的手法により再構築する手法を開発し、機能を持つ構築体の生体への適用を通して受胎率改善技術の開発に資する。

研究の内容

本研究では、ウシの子宮内膜機能を解析するとともに、ウシ子宮、胎盤および受精胚由来の細胞系を組織工学的に再構築し、生体外で着床、妊娠機構を解明するモデルの開発を試みた。また、子宮・胎盤様細胞構造体(スフェロイド)を生体へ移植することによりウシの子宮および卵巣機能の制御を試みた。

主要な成果

- ①子宮内膜細胞外マトリックス改変はMMPが主体であり、その活性発現に新しい物質EMMPRINが関与することを明らかにした。
- ②継代可能な子宮、胎盤および栄養膜細胞系を確立した。
- ③アスコルビン酸を用いた子宮内膜様構造体の作製方法を確立した。
- ④受精胚と共培養可能な細胞を含む培養担体を作製し、着床様現象を再現した。
- ⑤栄養膜細胞の機能を解析するインターフェロン・タウの放射免疫測定法を確立した。
- ⑥子宮胎盤由来細胞と栄養膜細胞系からなる細胞構築体によるウシの発情周期調節が可能となった。

主な発表論文

- Sato T., *et al.* : Furin-independent pathway of membrane type 1-matrix metalloproteinase activation in rabbit dermal fibroblasts : *J. Biol. Chem.*, 274 : 37280-37284 (1999)
- Shimada A., *et al.* : Isolation and characterization of bovine blastocyst-derived trophoblastic cell line, BT-1 : development of feeder cell-free culture system : *Placenta*, 22 : 652-662 (2001)
- Yamada O., *et al.* : Expression of prolactin-related protein I at the fetomaternal interface during the implantation period in cows : *Reproduction*, 124 : 427-437 (2002)
- Yamauchi N., *et al.* : A three-dimensional cell culture model for bovine endometrium : regeneration of a multicellular spheroid using ascorbate : *Placenta* : in press.
- Kizaki K., *et al.* : Cloning and Localization of Heparanase in Bovine Placenta : *Placenta* : in press.
- Hirata M., *et al.* : Differential regulation of the expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases by cytokines and growth factors in bovine endometrial stromal cells and trophoblast cell line BT-1 in vitro : *Biol. Reprod.* : in press.

研究のイメージ

胎盤様構造体作製技術の開発

継代細胞系の確立

上皮細胞系 間質細胞系 栄養膜細胞系

再構築法の検討

スフェロイドドプレート アスコルビン酸法 温感ポリマー法 クロットゲル担体

子宮上皮細胞 collagen gel 間質細胞

再構築構造体

子宮内膜様構造体 栄養膜三次元細胞塊

細胞含有培養担体 移植用細胞集合体

子宮内膜機能の解明

子宮内膜組織改変

黄体退行阻止

免疫担当細胞による着床調節

IL-1 α , TNF- α , TGF- β , IGF-1

胚子栄養膜細胞塊の接着と伸展・増殖

二核栄養膜細胞

PRP-1 ↑

IGFBP ↑

Inhibin/Activin ↑

EMMPRIN

EMMPRIN + MMP-1 の局在

MMPs

Heparanase

TIMP α

マトリックス改変調節

EMMPRIN結合MMP-1によるマトリックス分解

妊娠維持調節

PGF2 α

PGE2

MMPs

p-Akt ↓

機能評価系

Microarray

IFN τ RIA

胚発育

妊娠認識

IFN τ 産生

妊娠維持

IFN τ の放射免疫測定法(RIA)

結合率 (%)

濃度 (ng/ml) あるいは濃度率

● IFN τ +

○ IFN τ -

2.5 5 10 20

生体外解析モデル

共培養担体上の受精胚の発育

組織切片像 拡大図

着床様現象の再現

生体移植系

細胞体移植による黄体及び胚の活性化

研究課題名

高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究

研究項目及び実施体制(◎は総括研究代表者)

- ①熱力学的障壁を克服した機能性食品素材物質の酵素合成
(中西一弘／岡山大学工学部)
- ②新たな脂質粉末化技術の開発と高機能性食品への適用
(◎松野隆一／京都大学大学院農学研究科)
- ③エマルション系、濃厚系、極低水分系における相互作用の
解析と応用
(森 友彦／京都大学大学院農学研究科)



松野隆一



中西一弘



森 友彦

研究の目的

脂質は栄養学的・生理学的に欠くことのできない成分であるばかりでなく、食品に美味しさを与えるなど、現代の食生活において重要な役割を果たす。本研究は、このような脂質をベースとした高機能性食品素材を創出するための生体触媒工学、食品製造工学に関する技術的基盤を確立し、その分子論(食品化学)的背景を解明する。とくに、健康の維持にとって重要な抗酸化機能を具備した食品素材の開発を目指す。

研究の内容

酵素反応を用いて脂質を他の食品成分、とくに親水性成分に付加して、抗酸化性や乳化性を備えた新たな食品素材を合成する。これらの新素材と食品高分子を用いて、脂質の酸化抑制能や生理機能物質の腸管吸収能に優れた粉末化脂質を創製するための工学的基盤を確立する。さらに、食品成分間の相互作用を解明し、得られる知見を酵素合成や粉末化プロセスに還元することにより、高機能性を備えた脂質食品素材を合理的にデザインする指針を得る。

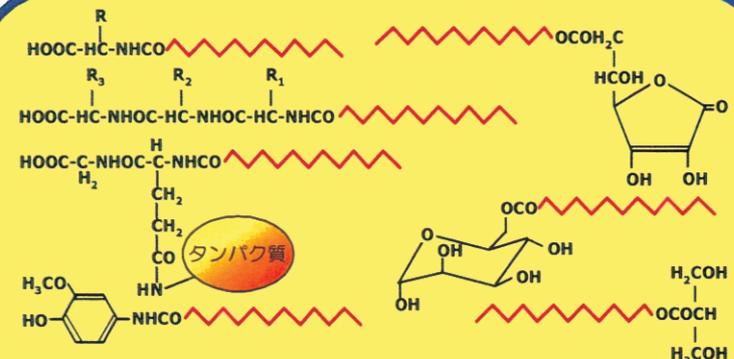
主要な成果

- ①主要な食品素材物質であるアミノ酸、ペプチド、タンパク質、アスコルビン酸、糖類およびバニルアミンに脂肪酸を酵素的に付加する方法を確立した。
- ②N-アシルアミノ酸、N-アシルペプチド、カプサイシンなど多様な物質のアミド結合の選択的かつ効率的な加水分解反応を触媒する新規な酵素を発見し、その特性を明らかにした。
- ③食品高分子のガラス転移や高次構造の解析を通して、高分子マトリックスと脂質の相互作用が脂質の酸化安定性に及ぼす影響を明らかにした。
- ④乳化系における食品多糖類と脂質の相互作用の様式を解明し、脂質酸化抑制効果の要因を決定した。また、ペプチド結合多糖類の優れた抗酸化能を見出し、酵素合成や粉末化技術開発の指針を得た。
- ⑤親水性生理活性物質を封入したW/O/W型エマルションの粉末化という新たな概念を提出し、それを実現する技術を確認した。

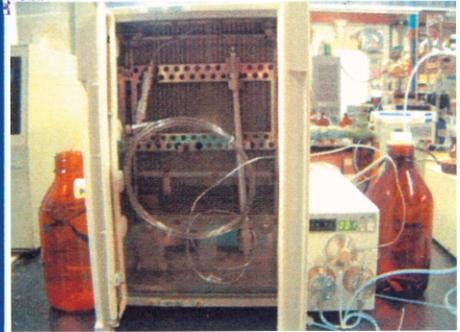
主な発表論文

- E. Wada, *et al.* : Enzymatic synthesis of *N*-acyl-L-amino acids in a glycerol-water system using acylase I from pig kidney. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 79: 1-7 (2002)
- E. Wada, *et al.* : Enzymatic modification of β -lactoglobulin with *N*-fatty-acyl-dipeptide by transglutaminase from *Streptomyces mobaraense*. *Biotechnol. Lett.*, 23: 1367-1372 (2001)
- Y. Minemoto, *et al.* : Autoxidation of linoleic acid encapsulated with polysaccharides of differing weight ratio. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63: 866-869 (1999)
- Y. Watanabe, *et al.* : Suppressive effect of saturated acyl L-ascorbate on the oxidation of linoleic acid encapsulated with maltodextrin or gum arabic by spray-drying. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 3984-3987 (2002)
- Y. Matsumura, *et al.* : Interaction of gum arabic, pullulan or maltodextrin with lipids in emulsions. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 64: 1827-1835 (2000)
- Y. Mizutani, *et al.* : Effects of water content and lipid addition on secondary structure of zein in powder system. *J. Agric. Food Chem.*,

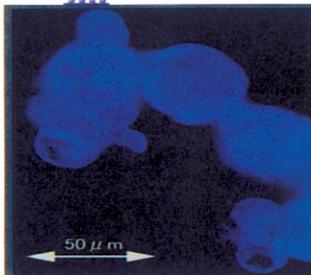
in press.



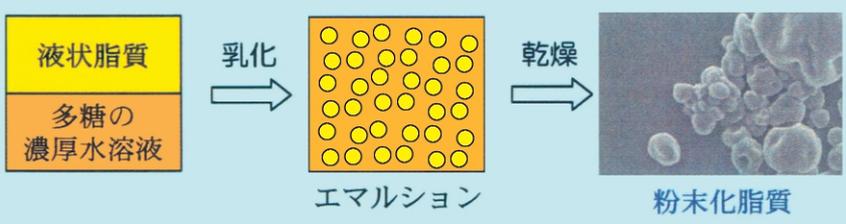
新規な酵素の発見／市販酵素の活用
抗酸化性や乳化性を備えた新たな食品素材物質の酵素合成



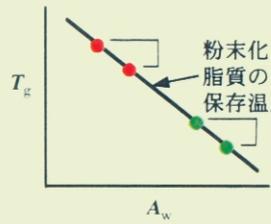
固定化リパーゼを用いた親水性物質脂肪酸エステルの連続生産システム



内水相に親水性生理機能モデル物質（蛍光物質）を封入したW/O/W型エマルジョン粉末化物の蛍光顕微鏡写真



粉末化脂質の酸化機構の解明
抗酸化性に優れた粉末化脂質の合理的設計法の確立
水溶性生理活性物質の腸管吸収能に優れた粉末化物の創製



高分子のガラス転移点 (T_g) と水分活性 (A_w) の関係

- $T_g > \text{保存温度}$
ガラス状態が脂質酸化を抑制
- $T_g < \text{保存温度}$
ラバー状態で脂質酸化が進む

種々の含水率における分子間相互作用
食品高分子のガラス転移制御による脂質の酸化抑制
乳化系における新たな抗酸化性素材の機能評価



新規コンポジットポリマーによる脂質粒子表面の修飾

研究課題名

細胞に作らせる糖鎖ライブラリーと機能性糖鎖高分子

研究項目及び実施体制(◎は総括研究代表者)

- ①糖鎖プライマーの合成
(橋本弘信/東京工業大学生命理工学部)
- ②糖鎖ライブラリーの作製と糖鎖高分子の開発
(◎佐藤智典/慶應義塾大学理工学部)
- ③糖鎖プライマーの細胞生物学的影響の評価
(山形達也/財団法人日本皮革研究所糖鎖情報工学)



佐藤智典



橋本弘信



山形達也

研究の目的

糖鎖生物学の進展に伴い、生体反応における糖鎖の多彩な機能が明らかにされてきたが、その成果は殆ど産業に生かされない。そこで、本研究では細胞をオリゴ糖鎖の工場として利用して、糖鎖ライブラリーを構築する。さらに、得られた糖鎖の機能解析を行い、優れた機能を有した糖鎖を素材とした機能性糖鎖高分子を作製し、糖鎖の自由な供給に立脚した新たな産業の創出を目指す。

研究の内容

本研究は、各種の動・植物細胞を細胞工場として利用するという新しい発想により、糖鎖に疎水基を付けた「糖鎖プライマー」を細胞に与え、オリゴ糖鎖を付加・分泌させる方法により多岐にわたる糖鎖ライブラリーを細胞に作らせる。細胞はその由来によって細胞特異的な構造の糖鎖を合成しているので、糖鎖プライマーを与える細胞を変えることにより、様々な糖鎖を細胞外に合成・分泌させることが出来る。この方法を「バイオコンビナトリアル合成法」と呼ぶ。このようにして得られた糖鎖ライブラリーを高分子化して高機能化する手法および糖鎖チップを作製する手法を開発することで、糖鎖ライブラリーの利用方法についても検討する。

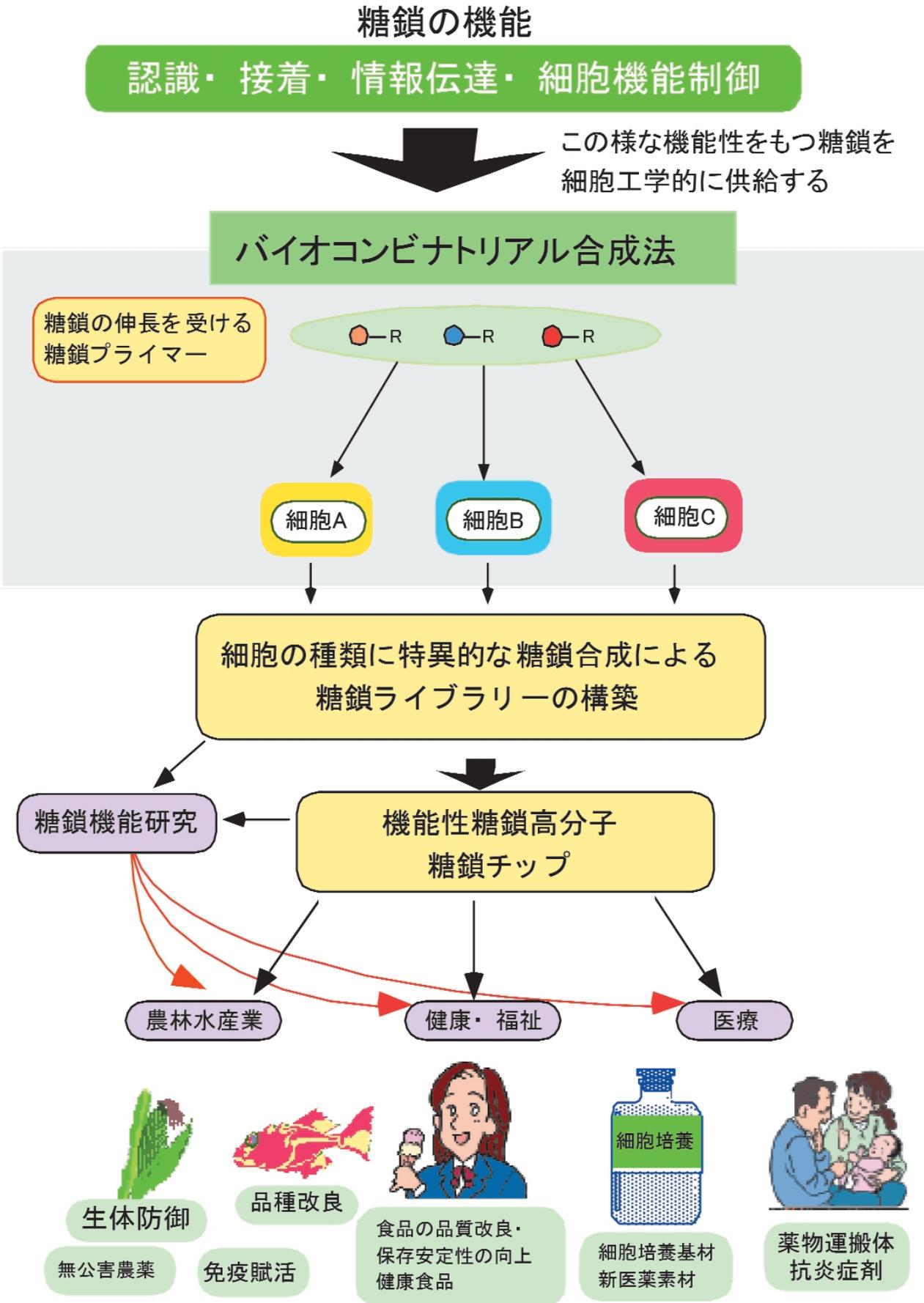
主要な成果

- ①糖鎖プライマーとして、糖鎖構造の異なるもの17種類、アグリコン部分の構造の異なるもの12種類を合成して、約10種類の細胞での糖鎖伸長反応について検討した。その結果多くの糖鎖プライマーで糖鎖伸長反応が確認された。その結果、特に糖鎖構造がラクトースやN-アセチルグルコサミンであり、アグリコンがドデシル基を有する糖鎖プライマーは効率よく多種類の糖鎖伸長生成物を与えた。また、糖鎖プライマーの糖鎖伸長反応効率や細胞毒性にはアグリコンの構造や糖のアノマーが影響していた。これまでに糖鎖伸長生成物として約50種類のオリゴ糖鎖が確認された。また、一部の糖鎖プライマーでは、糖脂質生合成経路だけではなくN-グリカン生合成経路も利用されていることが明らかとなった。
- ②マイクロキャリア法を用いて大量培養を行い、生成物の単離をカラムクロマトグラフィーと液体クロマトグラフィーにより行うことで、細胞で作られた糖鎖伸長生成物の大部分が単離可能であることを示した。
- ③2-アジドドデシルをアグリコンとするプライマーへの糖鎖伸長とプライマーの還元およびアルキル化を検討した。さらに、細胞内で糖鎖伸長されたGM3型の化合物からの高分子化を行った。
- ④糖鎖プライマーはエネルギー依存的に取り込まれるが、クラスリン経路で細胞に取り込まれるとリソソームに直行して分解され、しかし一方で糖脂質と違ってカベオラ経路で取り込まれることはなく、それ以外の経路によることが分かった。

主な論文発表

- H. Yuasa and H. Hashimoto : Bending Trisaccharides by a Chelation-Induced Ring Flip of a Hinge-like Monosaccharide Unit, *J. Am. Chem. Soc.* 121 : 5089-5090 (1999)
- Kasuya, Maria Carmelita, *et al.* : T., Azido primer : A new building block for the biocombinatorial synthesis of glycosphingolipid analoges, *Carbohydrate Res.*, 329 : 755-763 (2000)
- Y. Kajihara, *et al.* : Galactosyl Transfer Ability of β -(1-4)-Galactosyltransferase toward 5 α -Carba-sugars, *Carbohydr. Res.*, 323, 44-48 (2000)

T. Ishii, et al. : Facile Preparation of a Fluorescence-labeled Plasmid, *Chem. Lett.* : 386-387 (2000)



研究課題名

病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療

研究項目及び実施体制(◎は総括研究代表者)

- ①病原性低下因子の探索と評価
(◎松本直幸／独立行政法人農業環境技術研究所)
- ②病原性低下因子導入技術の開発及び導入菌株の作出
(吉田幸二／独立行政法人農業技術研究機構果樹研究所)
- ③病原性低下因子の分子学的機能解明
(大津善弘／独立行政法人農業技術研究機構果樹研究所)
- ④ユニバーサルイノキュラムの開発
(森永 力／広島県立大学生物資源学部)



松本直幸



吉田幸二



大津善弘



森永 力

研究の目的

果樹類の土壌伝染性病害である紋羽病の防除には、農薬の土壌灌注などが有効であるが、その効果は一時的である。それに対し、生物防除は永続的な効果が期待される反面、拮抗菌を定着させることが困難である。拮抗菌の活動に好適な土壌環境を維持管理するには多大な労力を要し、根系が広く永年性の果樹では特に難しい。

そこで、菌類ウイルスに由来する病原性低下因子(dsRNA)を利用して、罹病果樹に感染している紋羽病菌の病原力を低下させることで、紋羽病を治療する生物防除法(図1)を開発する。dsRNAは病原糸状菌の病原力を低下させ、その細胞質中でのみ定着・増殖するので、土壌条件に影響されず、その効果は半永久的である。しかし、dsRNAは、細胞質不和合性の菌株間(融合細胞は死滅する。図2)では伝播しないので、病原性低下因子の探索以外に、任意菌株への感染方法も確立する。

研究の内容

本研究における遺伝子治療では、dsRNAに感染させた培養菌(ユニバーサルイノキュラム)を植物根部の病原菌(野生株)と接触させ、野生株にdsRNAを感染させることで病気を治療しようとするものである(図1)。本研究では、①紋羽病菌の菌学的基礎知見を集積するとともに、治療効果の高いdsRNAの探索・評価を行い、②野生株への効率的なdsRNA導入法を開発し、③病原性低下因子の機能を分子生物学的に解明し、また④どのような野生株にも適合した接種源(ユニバーサルイノキュラム)を作成する。

主要な成果

- ①従来、知見の乏しかった紋羽病菌に関する生態学的、分類学的基礎知見を蓄積した。
- ②紫紋羽病菌、白紋羽病菌のいずれからも病原力低下作用のあるdsRNAが検出された(図3)。
- ③紫紋羽病菌においては、モノカリオン(一核菌糸体、図4)をベクターとして利用することにより、細胞質不和合性の異なる菌株へのdsRNA導入に成功し、病原力の低下した菌株を作出した。白紋羽病菌では、精製ウイルスやcDNAをプロトプラストを介して任意の菌株にdsRNAを導入する系を確立した。
- ④両紋羽病菌弱病原力菌株数株から見いだされたdsRNAの塩基配列及び関連ウイルス粒子の性状等を解析し、新規ウイルス3種を同定した。
- ⑤ユニバーサルイノキュラム作出のための基礎知見として、両紋羽病菌の核相及び生活環をあきらかにし候補となる菌株をスクリーニングした。

主な発表論文

- Arakawa M., *et al.* : Presence and distribution of double-stranded RNA elements in the white root rot fungus *Rosellinia necatrix* : *Mycoscience*, 43 : 21-26 (2002)
- Sasaki A., *et al.* : Extending chestnut blight hypovirus host range within Diaporthales by biolistic delivery of viral cDNA : *MPMI*, 15 : 780-789 (2002)
- Osaki H., *et al.* : Nucleotide sequences of double-stranded RNA segments from a hypovirulent strain of the white root rot fungus *Rosellinia necatrix* : possibility of the first member of the *Reoviridae* from fungus : *Virus Genes*, 25 : 101-107 (2002)
- Aimi T., *et al.* : Cytological analysis of anastomosis and vegetative incompatibility reaction in *Helicobasidium mompa* : *Curr.*

Microbiol., 44: 148-152 (2002)

研究のイメージ

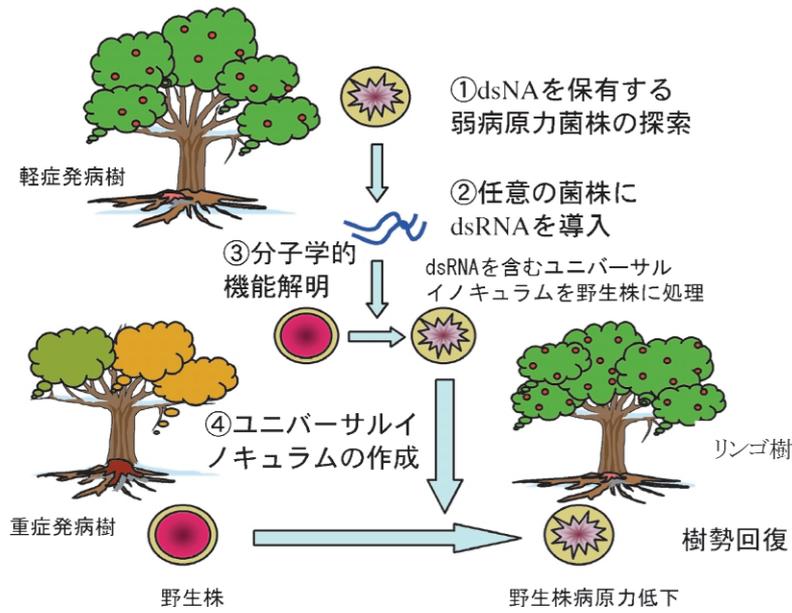


図1 病原性低下因子利用による紋羽病治療スキーム



図2 細胞質和合性の異なる菌株間での菌糸融合細胞(矢印)は死滅し、dsRNAの移行は阻止される。



図3 dsRNAフリー化・再導入による白紋羽病菌(w370)病原力の変化。フリー化した系統(T1, RT37-1)は植物を枯死させ、dsRNA再導入系統(RT37-1(w370dsRNA)1-4)は再び病原力を失った。

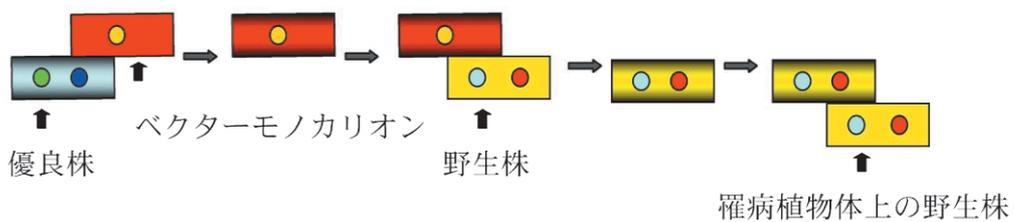


図4 ベクターモノカリオンシステム。モノカリオン(一核体)を、細胞質和合性の異なる菌株間でのdsRNA移行のベクターとして利用する。まず、dsRNAを含むドナー菌株とベクターを対峙培養し、ベクターにdsRNAを感染させる。その後、dsRNA保有ベクターをリセプター菌株と対峙させると、dsRNAはリセプターに移行する。

研究課題名

ナノ FISH 法の開発

研究項目及び実施体制(◎は総括研究代表者)

- ① ナノ領域の蛍光標識法の開発
(廣瀬玉紀(平成 11～13 年度)、田中 淳(平成 14 年度)
／日本原子力研究所高崎研究所)
- ② 試料の固定と光プローブ顕微鏡による蛍光ラベルの高感度検出
(◎大谷敏郎／独立行政法人食品総合研究所)
- ③ ナノ FISH 法のための光プローブ顕微鏡装置の最適化に関する研究
(村松 宏／セイコーインスツルメンツ株式会社)



大谷敏郎



廣瀬玉紀



村松 宏



田中 淳

研究の目的

従来の FISH (fluorescence in situ hybridization) 法では、蛍光標識した遺伝子の位置を光学顕微鏡で測定するため、光学顕微鏡レベルを越えた測定は不可能であった。そこで本研究は、光学限界を超えた高分解能で高感度かつ効率的に遺伝子の位置情報を計測する新たな方法(ナノ FISH 法)を開発することを目的とした。

研究の内容

DNA 上の特定塩基配列を FISH 法で蛍光標識し(①色をつける)、コーミング法あるいは新規な物理的方法で平坦な基板上に直線状に伸長・固定し(②伸ばす)、極微小の開口を持つ光ファイバーを用いた走査型光プローブ原子間力顕微鏡(SNOM/AFM, Scanning near-field optical/atomic force microscope)にて、形状像および蛍光像を同時に取得・解析する方法(③見る)を検討し、ナノ FISH 法の確立を目指した。

主要な成果

- ① DNA 分子の特定塩基配列(5nm 相当)を特異的に標識し、高効率で精製・回収するとともに、SNOM/AFM で観察可能な低ノイズ化、DNA の脱塩基部位の可視化に成功した。
- ② 基板に π 共役化合物を含むポリマーをスピコートし、DNA を吸い上げ法や液滴制御法などで直線状に伸長・固定することに成功した。さらに、マイカ基板上を分子レベルで平滑に保ったまま疎水化し、DNA を吸い上げ法にて伸長・固定する方法も確立した。
- ③ SNOM/AFM 装置と光プローブ探針を DNA 観察用に改良・開発し、1 本の DNA の形状像と蛍光像の同時計測および蛍光色素一分子の検出を可能にした。励起光源に多波長レーザーを用い、検出系に CCD カメラを用いた分光 SNOM/AFM システムを開発して、多種類の蛍光色素を同時に検出できる可能性を示した。
- ④ ①から③の総合成果：DNA 全体の形状像および蛍光像を同時に取得すること、および 1 本鎖 DNA と 2 本鎖 DNA を明確に区別することに成功した。また、DNA 上の特定塩基配列を標識した蛍光色素の位置を初めて計測すること、および標識された蛍光色素一分子を約 13nm の空間分解能で検出することにも成功した。

主な発表論文

- Kim, J. M., *et al.* : Simultaneous Topographic and Fluorescence Imaging of Single DNA Molecules for DNA Analysis with a Scanning Near-Field Optical/Atomic Force Microscope : *Analytical Chemistry*, 73 : 5984-5991 (2001)
- Otobe K., *et al.* : Behavior of DNA Fibers Stretched by Precise Meniscus Motion Control : *Nucleic Acids Research*, 29 : e109 (2001)
- Hirose T., *et al.* : Direct Visualization of Abasic Sites on a Single DNA Molecule Using Fluorescence Microscopy : *Photochem Photobiol.*, 76:123-126 (2002)
- Nakao H., *et al.* : Development of Novel Polymer-Coated Substrates for Straightening and Fixing DNA : *Nano Letters*, 2 : 475-479 (2002)
- Muramatsu H., *et al.* : Near-field Optical microscopy with Video Signal Processor to Apply a CCD Imaging Devices as a Variable Area Photo Sensor for Improving Operability and Spectrum Mode Imaging : *Ultramicroscopy*, 91 : 83-88 (2002)

生物系特定産業技術研究推進機構 東京事務所



お問い合わせ先

新技術開発部 基礎研究課

住 所 〒105-0001
東京都港区虎ノ門3丁目18番19号
虎ノ門マリンビル10階

電 話 03-3459-6569

F A X 03-3459-6594

E-mail kisoken@tokyo.brain.go.jp

生研機構ホームページ・アドレス

URL <http://www.tokyo.brain.go.jp>

営団地下鉄日比谷線 神谷町 徒歩2分

神谷町駅 霞ヶ関寄り出口3番を出て、左へ10m

左折後50m右手。虎ノ門マリンビル10階