# 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号: 34428

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2014~2016

課題番号: 26350251

研究課題名(和文)バイオイメージングを用いた生命教材の開発

研究課題名(英文) Development of teaching materials for life science education using bioimaging techniques

研究代表者

尾山 廣(Hiroshi, Oyama)

摂南大学・理工学部・教授

研究者番号:50221700

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文):酵母菌をモデル生物に選び、バイオイメージング手法を導入して細胞呼吸を視覚的にとらえ、それと生化学的な学習内容とを関連づける教材を作成した。酵母菌を好気培養すると、ミトコンドリアが発達し、ATP生成量が増大する。一方、嫌気培養では、ミトコンドリアの発達が抑えられ、アルコール発酵でATP生成量が減少する。飢餓培養によるストレス負荷では、ミトコンドリアの減弱が観察される。本研究では、これらの結果を関連づけ、生命活動のダイナミクスを体得し、細胞・分子レベルで細胞呼吸を理解する教材を開発した。

研究成果の概要(英文): Yeast (Saccharomyces cerevisiae) is a one of the model organism in eukaryote. We made teaching materials that visualize cellular respiration and understand its biochemical background, by using bioimaging techniques. In aerobic environment, yeast grows well and its mitochondria are germinated. And ATP is also generated. On the other hand, in anaerobic environment, mitochondria reduce and ATP production is decreased by alcohol fermentation. As a result of stress by starvation, mitochondria activities in yeast are weakened. We developed novel teaching materials associating with these results, which can learn biological dynamics and understand cellular respiration at the cell and molecular levels.

研究分野: 農芸化学、科学教育

キーワード: ミトコンドリア 酵母菌 呼吸 アルコール発酵 蛍光染色 エネルギー代謝 ATP ストレス応答

### 1.研究開始当初の背景

生き物の最大の特徴は「動く」ことである。 個体レベルでは、動物の行動様式や植物の成 長変化は肉眼的に追跡でき、生命の不思議に 遭遇する機会になる。視覚による動植物の観 察は、小・中学校での生物教育の根幹であり、 生き物に対する好奇心を引き出す大きな動 機づけになっている。例えば、組織レベルで は、生体組織切片や固定組織切片を光学顕微 鏡下で観察することにより、細胞・組織の形 態学的な特徴を知ることができる。さらに、 透過型および走査型電子顕微鏡で撮影した 写真を提示することで、よりミクロな世界を 実感させることができる。しかし、細胞・分 子レベルでは、体得的実験や観察を推進する 教材は極めて限られており、座学的学習が中 心となっている。細胞小器官や核酸・タンパ ク質などの生体分子の動態パターンを可視 化し、視覚による理解を高める Imaging biology を導入することにより、生命活動の 動態を体得させることが期待できる。

これまで、組織切片を染色剤で処理し、顕 微鏡下で構造や形態を識別する組織化学的 な可視化検出が利用されてきた。また、核 酸・タンパク質・糖類・アミノ酸などの主要 な生体物質の定性・定量には、化学的呈色反 応が用いられてきた。しかし、使用する試薬 の安全性、サンプル調製の煩雑さと複雑さに より、高校の教育現場では余り利用されてこ なかった。近年、多様な蛍光試薬の開発によ り蛍光イメージング技術が大きく進歩し、分 子・細胞レベルでの生体分子、細胞骨格、細 胞小器官などの動態をリアルタイムで追跡 することが可能となった。従来の化学的染色 や化学的呈色反応による可視化から、より生 命活動に肉薄する可視化技術を導入するこ とにより、視覚的に細胞のダイナミズムを理 解させることができる。

本研究の目的は、パン酵母(酵母菌)を単一材料として選び、生命活動の根幹であるエネルギー代謝を可視化することにより、ATP産生とミトコンドリア動態との関連性、細胞のストレス応答性の理解度を深化させ得る教材を開発することであり、現場教育への応用を念頭にしている。バイオイメージング教材に酵母菌を用いる利点として以下の点が挙げられる。

既存の学習内容との連携性:酵母菌は高校生物の「異化(呼吸)」の単元で取扱われ、課題研究や実験項目にも記述されている。これらの学習内容と容易にリンクさせることができる。

普及度と安全性:酵母菌(Saccharomyces cerevisiae)はパン、ビール、清酒、葡萄酒などの製造に用いられ、安全性が高く、日常生活でも馴染み深い。

発展性と波及性:酵母菌は単細胞生物であり、切片作成などの手間がなく、直接顕微鏡によるイメージングができる。また、真核生物に属し、そのゲノムの全塩基配列(1.2×10<sup>7</sup>

塩基対)と約 6,000 個の推定遺伝子が解明されていることから、これらの遺伝情報を基に、分子動態をバイオイメージング技術で視覚的に学習させ得ることができる。加えて、ヒトと同じ細胞小器官を有し、生命活動の基本的な分子メカニズムが類似していることから、酵母菌で得た情報をヒトへの学習に発展させられる。

材料調製の簡易性:均一な細胞集団を安価な培地を用いて、大量に、かつ短時間で調製することができる。

### 2.研究の目的

生命活動に関する高校の生物教育では、個 体・細胞レベルと遺伝子・タンパク質レベル に分け、更に、それぞれを単元・項目別に細 分化して理解させる手法を採用している。こ の教授方法では、個別事項の理解度は進むが、 単元・項目間の連携が希薄となり、生命活動 の動的ダイナミクスを体得することが難し い。本研究では、可視化技術(バイオイメージ ング)を導入し、パン酵母の細胞動態、特に、 細胞呼吸と細胞ストレス応答反応を視覚的 にとらえ、遺伝子発現やタンパク質合成との 関連性を具現化する現場指向の教材開発を 目的とする。パン酵母は高校の教科書や図録 などで取扱われており、容易に関連情報が得 られる。また、酵母菌は真核細胞のモデル生 物であり、体得した情報はヒトにも応用でき ることから、種を超えた生命活動の理解度が 深まると期待できる。

## (1)細胞呼吸のバイオイメージング

酵母菌を用いた細胞呼吸は高校の教科書で取扱われており、好気条件と嫌気条件ではATP の生産量が大きく異なり、その生化学的なメカニズムが解説されている。本課題では、「目で観る細胞呼吸の世界」を教材化することを目標とする。特に、酵母菌を無酸素状態で培養するとミトコンドリアは小さく、数も著しく少なくなる。生化学的には解糖系の酵素のみが働き、TCA サイクルは作動しない。その結果、最終的にはエタノールを発生することが高校の教科書で記述されている。このことをバイオイメージングにより明らかにする。

Step 1 好気条件でのバイオイメージング 好気条件での培養系の確立、 ミトコンド リアの蛍光標識と細胞内分布の観察、 ATP 濃度の測定条件の検討

Step 2 嫌気条件でのバイオイメージング 嫌気条件での培養系の確立、 標識した酵 母菌の観察と蛍光検出、 アルコール脱水素 酵素(ADH)の細胞内観察、 ATP 濃度の測定条 件の検討

(2)細胞ストレス応答のバイオイメージング 発生過程におけるアポトーシスは高校の 教科書に記述されている。本課題では、酵母 菌に飢餓や高温などのストレスを負荷し、ア ポトーシス誘導の応答性を調べる。

Step 1 ミトコンドリアや核の蛍光標識とスト

### レス負荷による変動

Step 2 細胞死プロセスの解析

### (3)バイオイメージングの教育現場への導入

教育現場での展開をはかるためには、使用する試薬類、機器類、実験手順などの実験内容を、より簡便に、より安価に、より確実にするための検討を加える。また、授業実践により、受け入れ側の視点からのアンケート評価を実施し、問題点の抽出と改善を実験内容にフィードバックする。

### 3.研究の方法

### (1)酵母菌の培養

酵母菌には市販のドライイーストを、培地は主に YPD (Bacto Yeast Extract: 2g、Bacto Peptone: 4g、D(+)Glucose: 4g、Agar: 3g、蒸留水: 200mL)を使用した。好気条件は、液体培地(フラスコ使用)では振盪または攪拌、寒天培地(シャーレ使用)では静置とした。嫌気条件は、液体培地では流動パラフィンの重層、寒天培地では標準型角型ジャー(2.50、W135×L197×H95)中にアネロパックケンキ(酸素吸収・炭酸ガス発生剤)をセットした簡易型嫌気ジャー内での静置とした。

## (2)ミトコンドリアと核の蛍光標識

40μM の MitoTracker Green (MTG) が 10 μL 入ったエッペンドルフチューブに酵母菌 を懸濁した。遮光下で 10 分間染色後、5µL を採取してプレパラートを作製し、ポータブ ル LED 蛍光顕微鏡 (Partec 社製 CyScope® HP (CY-S-4007), High Power Blue LED (470 nm), IBP472/30G、IBP536/40G、DM500)で酵母菌 の形態とミトコンドリアの蛍光強度を観察 した。4µg/mLのDAPI(4',6-Diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride)が200 μL 入ったエッペンドルフチューブに酵母菌 を懸濁した。遮光下で 10 分間染色後、5 µ L を採取してプレパラートを作製し、ポータブ ル LED 蛍光顕微鏡(同上、High Power UV LED (365 nm)、GG435E、DM420)で酵母菌の核お よびミトコンドリアの DNA 由来の蛍光( 青色 ) を観察した。

### (3)ATP 濃度の測定

ATP 抽出試薬(菌士郎®ATP 抽出キット)200 μLに酵母菌を懸濁後、蒸留水を800μL加え て遠心分離し、その上清 800 µL を試料とし た。または、酵母菌を蒸留水 1000 µ L に懸濁 後、一定量(20 µ L~100 µ L)を新しいエッ ペンドルフチューブに移した。遠心分離後の 上澄みを除去し、菌体を 5%TCA 溶液 20μL に懸濁した。この懸濁液に 0.1M MES Buffer (pH 7.0) 980 µL を加えて混合後、そのうち の 800 µ L を試料とした。Luci Pac Pen-AQUA または Luci Pac Pen のプローブの先端に試 料を浸した後、反応剤が充填されたカートリ ッジにプローブを差し込んだ。室温で反応を 開始し、ATP 存在下でルシフェリンがオキシ ルシフェリンに変換される際に発生する 560nm の相対発光量(RLU)をルミテスター

### (PD-30)で計測した。

## (4)エタノール濃度の測定

酵母菌を液体培養した場合は培養液を、寒天培地上に生育させた場合はコロニーを滅菌水に懸濁した溶液を試料とした。しばらく静置後、上清のエタノール濃度(容量%)をATAGO 社製ペンエチルアルコール濃度計(PEN-Ethanol(V))で測定した。

#### 4.研究成果

## (1)酵母菌の培養

液体培地 (50mL/300mL 容三角フラスコ)の 振盪培養(120rpm)では、25℃~30 が酵母 菌の生育に適していた。一方、液体培地 2mL を 10mL 容シリンジに充填し、キャップを装 着して酵母菌を培養したところ(嫌気条件) 30 で 44 時間培養後の濁度( ODgoog )が 5 程度 となった。30 時間の好気培養では濁度(OD600) が 14 程度まで生育したことから、酵母菌の 生育が嫌気条件で悪いことが分かった。次に、 寒天培地のシャーレ(IWAKI、浅型 90×15 mm) を用いて酵母菌を静置で培養した。簡易型嫌 気ジャーにシャーレを入れたもの (嫌気条 件)と入れないもの(好気条件)を30、2 日間加温した。シャーレ上のコロニーの形態 を観察すると、好気培養のコロニーが嫌気培 養よりも十分な大きさを形成したことから、 簡易型嫌気ジャーが酵母菌の嫌気培養に適 することが分かった(下図)。

好気培養

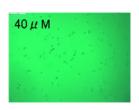


嫌気培養



### (2)ミトコンドリアの蛍光標識

MTG で蛍光標識した酵母菌をポータブルLED 蛍光顕微鏡で観察した。MTG は還元型プローブであり、細胞内に浸透すると、ミトコンドリア内に取込まれる。内膜で酸化後、470nm の励起光を照射すると、516 nm の蛍光を発する。バイオイメージングでは、蛍光試薬を混合する際に、細胞数を調整する必要があるが、この手順を追加すると、授業時間(50分間)に収めることが困難になる。そこで、爪楊枝で採取した 1 コロニー(直径 1 mm のコロニーには約  $4.0\times10^7$  の細胞が含まれる)を MTG 溶液  $20\,\mu$ L に懸濁した溶液を作成し、ミトコンドリアを蛍光標識できる条件を検討した。好気条件で培養した酵母菌を  $40\,\mu$ M





の MTG で 10 分間染色すると、鮮明な画像を得ることに成功した(上図の右が励起光照射)。また、好気及び嫌気条件での細胞当たりの蛍光強度を比較したところ、好気条件の方が約1.6倍高かった。

## (3)ATP 濃度の測定条件

酵母菌を YPD 寒天培地 (シャーレ) 2 枚に 植菌し、30 で一晩培養した。シャーレ1枚 は、引き続き5時間培養を続け、もう1枚は 嫌気ジャーに移して30で5時間培養した。 好気または嫌気条件で培養した酵母菌を1コ ロニーずつ採取し、ミリQ水 1mL に懸濁した。 懸濁液の 20μL、50μL、100μL を新しいチ ューブに移し、遠心分離で菌体を回収した。 5%TCA溶液20µLを各チューブに加えて懸濁 後、0.1M MES Buffer (pH 7.0)を 980 µ L 加 えて混合した。Luci Pac Pen のプローブの先 端に試料を浸した後、ルミテスターで相対発 光量(RLU)を測定した。同時に、菌体を MTG で蛍光標識し、ミトコンドリアの蛍光強度を 観察した。好気条件の懸濁液 100 µL に含ま れる菌体量は 4mg で、発光量が 3,278 RLU/mg となった。この菌体量に近い嫌気条件のもの は、 $50 \mu L(3.5 mg)$  または  $100 \mu L(3.8 mg)$ であり、それぞれの発光量は 488 RLU/mg と 225 RLU/mg であった。これらの結果より、菌 体量を 4 mg 程度にすると、呼吸と発酵の ATP 生成量に明らかな差違が見られた (好気条件 > 嫌気条件)。また、ルミテスターの数値が 1万 RLU 前後であると、再現性が良好である ことも分かった。しかし、ミトコンドリアの 発達度合いは、ATP 生成量の差違ほど大きな ものではなかった。従って、この条件ではミ トコンドリアの顕著な形態変化を確認でき ない可能性が示唆された。

### (4)嫌気環境でのエタノール生産

YPD 液体培地 100mL が入った 200mL 容三角 フラスコ (撹拌子入り)2 本に酵母菌を植菌 した。電池式マグネティックスターラー (SLOW)で攪拌しながら30 のインキュベー ターで一晩培養した。各フラスコに20%グル コース溶液を 10mL ずつ添加後、1 本のフラス コに滅菌流動パラフィンを重層した (嫌気条 件)。好気条件は撹拌し、嫌気条件は静置の まま30 で3時間培養した(下図)。培養終 了後に静置で酵母菌を沈殿させた後、シリコ ンチューブとシリンジを使って流動パラフ ィンや菌体を含まないように培養液を採取 し、エタノール濃度を測定した。なお、ペン エチルアルコール濃度計は、エタノール標準 液で 50%まで直線性があることを確認した。 好気条件のエタノール濃度は12.5%、嫌気条 件のそれが 47.5%となった。YPD 液体培地の ブランク値である 11%をそれぞれ差し引く と、好気条件が1.5%、嫌気条件が36.5%で あった。また、嫌気状態のフラスコ内に気泡 の発生が確認された。以上より、液体培養し た酵母菌の培養液にグルコースを添加後、流

動パラフィンの重層で嫌気条件へと移行させることにより、アルコール発酵が短時間で起きることが分かった。なお、抗アルコール脱水素酵素(ADH)抗体を用いた免疫染色は、操作手順の簡略化が難しく、細胞内の ADH の分布を観察できなかった。これについては、Native-PAGE と活性染色を組合せた実験系を構築する予定である。



## (5) 簡易型恒温培養システムの開発

高校の実験室には、インキュベーターなど の汎用機器がないことが多い。そこで、発泡 スチロール箱(縦:180mm 横:320mm 深さ: 170mm) とカイロ 6 個を使った簡易インキュ ベーターを作製し、そこに撹拌子を含む培地 が入った三角フラスコと電池式マグネチッ クスターラーをセットした簡易型の培養シ ステムを考案した(下図)。YPD液体培地100mL が入った 200mL 容三角フラスコ (スターラ ー・バー入り)2本に酵母菌を植菌した。各 フラスコを電池式マグネチックスターラー で攪拌しながら一晩培養した。両フラスコに 20%グルコース溶液を 10mL 加えた後、ひと つのフラスコには、滅菌流動パラフィンを重 層し(嫌気条件)4時間の静置培養を行った。 もう一方のフラスコは、さらに3時間攪拌し た(好気条件)。好気条件のフラスコの攪拌 を止めて静置で菌体を沈殿させた後、ピペッ トで培地上清を採取した。嫌気条件のフラス コはシリンジとチューブを使って流動パラ フィンや菌体を含まないように培地上清を 採取した。培養上清のエタノール濃度を測定 したところ、好気条件が 10%、嫌気条件が 12%となり、インキュベーターで行った結果 よりも発酵が進まなかった。発泡スチロール 箱内の温度は30 前後であり、嫌気フラスコ 内には気泡が見られ、発酵が進んだように思 われたが、エタノール産生量は低くなった。 酵母菌のアルコール発酵は 45 が最適であ り、低温での発酵効率は悪い。冬に実験を行



ったため、発泡スチロール箱の上蓋を開閉することで温度が下がり、グルコース添加後の培養液を 30 に維持できなかった可能性がある。箱内の温度変化を経時的に調べると共に、蓋の改良などで改善を試みる。

## (5)ストレス応答の条件検討

YPD 寒天培地と YNB( Yeast Nitrogen Base、 2%D(+)Glucose) 寒天培地に酵母菌を植菌し、 30 で培養した。生育した酵母菌のコロニー を経時的に MTG で蛍光染色した(2週間)。培 養3日間以降では、YNB 寒天培地上の酵母菌 の染色強度が著しく低くなり、ミトコンドリ アの減弱が確認できた(下図)。また、培養 10 日目に DAPI で染色したところ、両者に大 きな差違は認められなかった。DAPI はミト コンドリアと核の DNA に特異的に結合する 性質(アデニン、チミンに富んだ領域に優先 的に結合)を持っており、アポトーシスによ る核 DNA の断片化を可視化できるものと考え たが、今回の測定条件では明確な差違を観察 できなかった。今後は、ストレス負荷と DAPI 染色条件の検討、抗カスパーゼ抗体を用いた 免疫染色の実験系を構築することで、飢餓な どのストレス誘導によるオートファジーの 可視化実験を完成させる予定である。





YPD 培地

YNB 培地

## (6) 教育現場への導入

好気条件ではミトコンドリア数が増加し て酸化的リン酸化が活発となり、酵母菌の増 殖が良いこと、嫌気条件ではアルコール発酵 が起こり、増殖率が低いことを考察できる実 験系が構築できた。この内容を、生物基礎を 履修した高校2年生(理系志望:4人×3班) を対象に、「総合的な学習の時間」の 45 分間 ×2コマ×4日間を使って授業した。1日目に は酵母菌と細胞呼吸・発酵の講義、酵母菌の 呼吸・発酵に必要な条件の検討、酵母菌のト リパンブルー染色(生死菌判定) 好気培養・ 嫌気培養の準備、2・3 日目には好気・嫌気培 養とそれらの増殖速度の比較(形態観察) 酵母菌の MTG による蛍光染色と蛍光顕微鏡で の観察、エタノール濃度の測定、4 日目には 実験結果の発表準備と口頭発表を行った。実 験終了後に受講生を対象に行ったアンケー ト結果から、酵母菌をモデル生物とした"細 胞呼吸"のバイオイメージング教材を通して、 生徒たちの生物への興味・関心(特に、ミト コンドリアの蛍光顕微鏡観察)の向上が認め られ、ミトコンドリアと異化作用との関連付 けへの有効性が示された(8割以上の生徒が 細胞呼吸の可視化教材に興味を示した)。な お、授業時間内に LED 蛍光顕微鏡を観察でき

る人数が限られるため、PCを経由して画像をテレビに出力し、複数の生徒が同時に観察できるようにした。また、酢酸オルセインとMTGとの二重染色(核とミトコンドリア)を取入れ、高校所有の光学顕微鏡を活用した酵母菌の観察も同時に行った。

### 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5件)

<u>尾山廣、杉村順夫</u>、山和孝、ワサビノキ(モリンガ)の種子・葉に含まれる有用成分とその多目的利用、熱帯農業研究、第9巻、第2号、2016、pp. 41-51

http://doi.org/10.11248/nettai.9.41 Shin Ono, Takahiko Nakai, Hirofumi Kuroda, Ryuta Miyatake , Yoshikazu Horino , Hitoshi Abe, Masahito Umezaki, <u>Hiroshi</u> Oyama,

Site-selective chemical modification of chymotrypsin using peptidyl derivatives bearing optically active diphenyl 1-amino-2-phenylethylphosphonate:

Stereochemical effect of the diphenyl phosphonate moiety、 *Peptide Science* (*Biopolymers*)、2015、10.1002/bip.22790 <u>杉村順夫、尾山廣</u>、森本弘一、手動ポリメラーゼ連鎖反応法によるカイコの雌雄判別、生物教育、第 56 巻、第 1 号、2015、pp. 29-35

森本弘一、<u>尾山廣</u>、<u>杉村順夫</u>、カイコ幼虫の消化液に含まれるアミラーゼとプロテアーゼを用いた新しい教材開発、生物教育、第55巻、第1号、2014、pp. 2-13 森本弘一、<u>尾山廣</u>、<u>杉村順夫</u>、アミラーゼおよびプロテアーゼ活性の半定量的簡易検出法の開発と応用、生物教育、第54巻、第2号、2014、pp. 60-67

### [学会発表](計10件)

大橋大志、浴野圭介、<u>尾山廣</u>、Pime I obacter sp. Z-483 株由来メタロプロテアーゼ遺伝子のクローニングと発現、日本農芸化学会2017年度大会、2017年3月18日~20日、京都女子大学

尾山廣、池内秀和、上田浩貴、西綾音、森本弘一、<u>杉村順夫</u>、バイオイメージングを用いた"細胞呼吸"教材の開発と授業実践、日本生物教育学会第101回全国大会、2017年1月7日~8日、東京学芸大学

池内秀和、上田浩貴、西綾音、森本弘一、 杉村順夫、尾山廣、バイオイメージング法 を用いた"細胞呼吸"教材の開発、平成 28 年度日本理科教育学会近畿支部(大阪 大会) 2016年11月26日、大阪教育大学 洲鎌勇太、尾山廣、伊東昌章、クマモリシ ンのカルシウムイオン結合部位特異的変 異体の作製と熱安定性の解析、第68回日 本生物工学会大会、2016年9月28日~30

## 日、富山国際会議場

畠山貴大、吉田達哉、川上徹、堀野良和、 畔田博文、<u>尾山廣</u>、梅嵜雅人、相良純一、 小野慎、キモトリプシン Lys175 への部位 選択的化学修飾:チオエステル法を利用し た直接導入法の検討、第 10 回バイオ関連 化学シンポジウム、2016 年 9 月 7 日~9 日、もてなしドーム地下イベント広場(金 沢市)

古賀雅人、山田敦志、川上徹、堀野良和、 畔田博文、<u>尾山廣</u>、梅嵜雅人、相良純一、 小野慎、キモトリプシン Lys175 への部位 選択的化学修飾:チオエステル結合を利用 した阻害部位の除去、第 10 回バイオ関連 化学シンポジウム、2016 年 9 月 7 日~9 日、もてなしドーム地下イベント広場(金 沢市)

桝谷滉、<u>尾山廣、杉村順夫</u>、モリンガ種子 に含まれる多機能性タンパク質、日本農芸 化学会 2016 年度大会、2016 年 3 月 28 日 ∼30 日、札幌コンベンションセンター(札 幌市)

杉村順夫、尾山廣、森本弘一、手動ポリメラーゼ連鎖反応法によるカイコ幼虫の雌雄判別、日本理科教育学会第65回全国大会、2015年8月1日~2日、京都教育大学森本弘一、尾山廣、杉村順夫、カイコ幼虫の消化液を用いた酵素教材の開発、日本理科教育学会第65回全国大会、2015年8月1日~2日、京都教育大学

嶌岡孝則、古川和裕、中山亨、<u>尾山廣</u>、イネ・クマモリシン様遺伝子 AK109048 の酵母での発現、日本農芸化学会 2015 年度大会、2015 年 3 月 27 日~29 日、岡山大学

### [図書](計1件)

今村綾、宇佐美昭二、<u>尾山廣</u>、他 13 名、建 帛社、バイオテクノロジー入門、 2 0 1 6、 1 6 8 ( 1 3 3-1 4 8 )

#### 〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称: 名明者: 権利者: 種類:

出願年月日: 国内外の別:

取得状況(計0件)

名称: 名称: 発明者: 権利者: 種類: 番号:

取得年月日: 国内外の別:

[その他]

## ホームページ

http://www.setsunan.ac.jp/~bio/labo/oyama.html

### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

尾山 廣 ( OYAMA, Hiroshi ) 摂南大学・理工学部・教授 研究者番号:50221700

(2) 研究分担者

杉村 順夫 (SUGIMURA, Yukio) 公益財団法人衣笠繊維研究所・研究理事 研究者番号:20273542

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

池内 秀和 (IKEUCHI, Hidekazu)